

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21628

研究課題名(和文)脊椎動物進化における筋の付着部位の変遷とその発生学的基盤の解明

研究課題名(英文) Study on the developmental basis behind the evolutionary changes of musculoskeletal connections in vertebrates

研究代表者

平沢 達矢 (Hirasawa, Tatsuya)

国立研究開発法人理化学研究所・倉谷形態進化研究室・研究員

研究者番号：60585793

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：脊椎動物の筋骨格系の発生において筋-骨格結合がどのように決まり、その発生機構が進化とどのように関連してきたのかについて研究した。4種の四肢動物の発生中の前肢における腱前駆細胞の分布変化についてScx遺伝子発現をもとに解析し、腱の配置に収束するまでの過程を比較、発生における変化可能性と進化可能性の関係性を検証するための基礎データを得た。また、予想外の発見として、カメに至る進化では、胸筋の筋-骨格結合が解除され、腹甲骨格を覆う真皮の内側と結合を樹立するようになったことが分かった。

研究成果の概要(英文)：The development of musculoskeletal connections in vertebrates and its relationship with the evolutionary changes were studied. We analyzed the developmental process of tendons in the forelimbs of four tetrapod taxa, based on Scx expression patterns, and built a foundation of future researches on the relationship between developmental variability and evolvability. In addition, as an unexpected result, we found that in the evolution towards the turtles, the pectoralis muscle released the connection with the skeletal system and made a connection with the dermis covering the plastron.

研究分野：進化発生学

キーワード：進化 発生 脊椎動物 筋 腱 化石

1. 研究開始当初の背景

脊椎動物における筋と骨格系の結合関係は、発生時に樹立された後、一般に成長によって変化することはない。したがって、成体に見られる筋-骨格結合関係も発生過程で決まったものであり、筋-骨格結合関係の進化的変化は発生過程に生じた変化と対応しているはずである。また、骨格化石に筋の付着部位が残ることから、筋-骨格結合関係の進化史は、化石記録を用いて研究することができる。これらは他の多くの表現型形質にはない特徴であり、発生における変化可能性と進化可能性の関係性を解明していくために、脊椎動物の筋-骨格結合関係は非常に適した研究対象であると目される。

しかし、筋-骨格結合関係の発生について、結合を司る腱がどのように発生してくるかについては多くの謎が残されており、筋-骨格結合関係の進化史についても研究例は少なかった。

2. 研究の目的

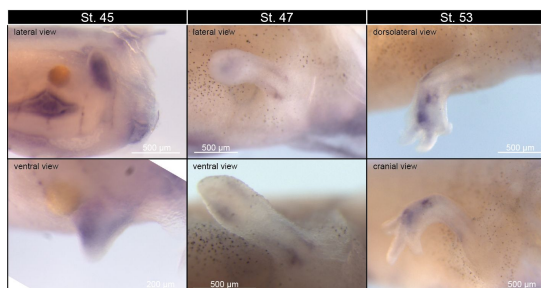
本研究では、前肢筋の腱の発生過程を解析し、筋-骨格結合の進化的変化に際してどのような部分が変更可能なのかを理解することを目指した。

3. 研究の方法

マウス、ニワトリ、スッポン、アホロートルにおいて、前肢領域で腱前駆細胞がどのように生じ、個々の筋-骨格結合関係を樹立していくのか、*Scleraxis (Scx)* 遺伝子発現をマーカーとして観察を行った(下図)。

アホロートルについては、前肢筋の発生過程についてもほとんど研究例がなかったため、筋前駆細胞に特異的に発現する *Lbx1* 遺伝子を発現する細胞の分布も解析した。

得られた観察結果から、種間、および筋ごとの差異を突き止め、化石種を含む脊椎動物の進化史の中で実際に生じた筋-骨格結合の変化との関係性を検証した。



アホロートル右前肢芽における *Scx* 発現細胞の分布の変化

4. 研究成果

前肢筋の腱前駆細胞は、側板中胚葉由来であることが先行研究から分かっていたが、どのような過程を経て最終的に予定腱領域に局在するようになるかについては、これまであまり研究が進んでいなかった。これに対し、本研究は、観察した4種の四肢動物すべてにおいて、まず前肢芽の間葉に連続した分布として *Scx* 発現細胞集団が背腹にそれぞれ現れ、続いて関節付近に局在し、やがて個々の筋に対応する腱として分かれることを明らかにした。また、最初に現れる *Scx* 発現細胞集団の分布は種ごとに異なるが、その後、四肢動物に(ほぼ)共通する腱の配置に収束するらしい。アホロートルにおいては、*Scx* 発現細胞集団は、筋前駆細胞 (*Lbx1* 発現細胞) が前肢芽に侵入するより前の発生段階から特異化されていることも分かった。これらの観察結果は、前肢芽内部の細胞間相互作用により筋や腱の配置パターンが決まる過程の全容を解明するための重要な足がかりとなるはずである。

観察した4種の四肢動物において、予定腱領域に *Scx* 発現細胞の分布が収束していく過程では、*Scx* シグナルは手根部で特に強く、肩帯部付近では弱かった。これは、進化において肩帯部の筋付着部位が変化する例が他の部位に比べて多いということと関連している可能性があり、今後の研究の発展が期待される。

本研究を進めていく中で、進化上、劇的に筋-骨格結合関係が変化した例であるカメの胸筋について予想外の発見があり、本研究後半はその解明に注力した。

従来、カメの胸筋は、進化の中で胸骨から腹甲骨格へその付着位置を変えたものとされてきた。しかし、本研究でスッポン胚の前肢における筋-骨格結合を解析していたところ、胸筋は最初、腹甲骨格ではなく、それを覆う真皮の内側と結合を樹立することが判明した。皮骨である腹甲骨格はこのときまだ厚い真皮層に覆われており、その後、腹甲骨格が成長し、真皮層が薄くなっていき、胸筋の真皮への付着部位と腹甲骨格が接するようになる。

また、ニワトリ、マウスでは、胸筋の末端と胸骨の間には *Scx* 発現細胞が介在するが、スッポンの胸筋末端と腹甲骨格の間には *Scx* 発現細胞は観察されなかった。代わりに、哺乳類の皮幹筋の発生に関与する *Fat1* を発現する細胞が分布していることが確認された。したがって、カメへ至る進化では、胸筋は胸骨から真皮の内側へ結合する場所を変化させたのだと結論づけられた。

この発見により、脊椎動物進化における筋の付着部位の変化には、腱前駆細胞の分布変

化による筋-骨格結合のつなぎ変えだけではなく、筋-骨格結合の解除もありうることを示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 9 件)

Kuratani S, Kusakabe R Hirasawa T. The neural crest and evolution of the head/trunk interface in vertebrates. *Developmental Biology*, 査読有, in press, 2018.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.01.017>

Matsubara Y, Hirasawa T, Egawa S, Hattori A, Suganuma T, Kohara Y, Nagai T, Tamura K, Kuratani S, Kuroiwa A, Suzuki T. Anatomical integration of the sacral-hindlimb unit coordinated by GDF11 underlies variation in hindlimb positioning in tetrapods. *Nature Ecology & Evolution*, 査読有, 1, 2017, pp. 1392-1399.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41559-017-0247-y>

Poelmann RE, Gittenberger-de Groot AC, Biermans MWM, Dolfini AI, Jagessar A, van Hattum S, Hoogenboom A, Wisse LJ, Vicente-Steijn R, de Bakker MAG, Vonk FJ, Hirasawa T, Kuratani S, Richardson MK. Outflow tract septation and the aortic arch system in reptiles: lessons for understanding the mammalian heart. *EvoDevo*, 査読有, 8(9), 2017.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.01.017>

Kuratani S, Hirasawa T. Palaeontology: Getting the measure of a monster. *Nature*, 査読無, 532, 2016, pp. 447-448.

<http://dx.doi.org/10.1038/nature17885>

Hirasawa T, Oisi Y, Kuratani S. *Palaeospondylus* as a primitive hagfish.

Zoological Letters, 査読有, 2 (20), 2016.

<http://dx.doi.org/10.1186/s40851-016-0057-0>

Higashiyama H, Hirasawa T, Oisi Y, Sugahara F, Hyodo S, Kanai Y, Kuratani S.

On the vagal cardiac nerves, with special reference to the early evolution of the head-trunk interface. *Journal of Morphology*, 査読有, 277, 2016, pp. 1146-1158.

<http://dx.doi.org/10.1002/jmor.20563>

Hirasawa T, Fujimoto S, Kuratani S.

Expansion of the neck reconstituted the shoulder-diaphragm in amniote evolution.

Development, Growth & Differentiation, 査読有, 58, 2016, pp. 143-153.

<http://dx.doi.org/10.1111/dgd.12243>

Takechi M, Kitazawa T, Hirasawa T, Hirai T, Iseki S, Kurihara H, Kuratan S. Developmental mechanisms of the tympanic membrane in mammals and non-mammalian amniotes. *Congenital Anomalies*, 査読有, 56, 2016, pp. 12-17.

Kitazawa T, Takechi M, Hirasawa T, Adachi N, Narboux-Nême N, Kume H, Maeda K, Hirai T, Miyagawa-Tomita S, Kurihara Y, Hitomi J, Levi G, Kuratani S, Kurihara H. Developmental genetic bases behind the independent origin of the tympanic membrane in mammals and diapsids. *Nature Communications*, 査読有, 6 (6853), 2015.

[学会発表](計 4 件)

Hirasawa T. Mode in evolution of tetrapod musculoskeletal systems: A case study of an evolutionary breakthrough, the diaphragm. *Zoological Letters Symposium: Early Evolution and Diversity of Vertebrates*. 2017年3月18日, 理研 CDB(神戸).

Hirasawa T. Evolutionary origin of the diaphragm. *Symposium: Paleo Evo-Devo: the New Science of the Very Old, at the 76th Annual Meeting, Society of Vertebrate Paleontology*. 2016年10月28日, Salt Lake City, UT, USA.

Hirasawa T, Fujimoto S, Kuratani S. Developmental basis behind the evolutionary origin of the diaphragm. *11th International Congress of Vertebrate Morphology*. 2016年7月2日, Washington DC, USA.

平沢達矢. 古生物学と発生学をつなぐ. **京都大学大学院理学系研究科生物科学専攻生物多様性コロキウム**. 2015年11月10日, 京都大学(京都).

[図書](計 1 件)

平沢達矢. バイオメカニズム学会(編) 朝倉書店, 手の百科事典, 2017, pp.200-202 (手の起源), 203-206 (両生類), 276-279 (恐竜と鳥の指骨の相同). ISBN: 9784254102673

〔その他〕

ホームページ等

<https://researchmap.jp/hirasawa>

6．研究組織

(1)研究代表者

平沢 達矢 (HIRASAWA, Tatsuya)

国立研究開発法人理化学研究所・倉谷形態

進化研究室・研究員

研究者番号：60585793

(4)研究協力者

藤本 聡子 (FUJIMOTO, Satoko)