

令和 4 年 5 月 9 日現在

機関番号：82617

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H02977

研究課題名(和文)四肢動物類の頸胸部領域進化様式とメカニズム：化石記録と胚発生からのアプローチ

研究課題名(英文) Patterns and mechanisms in evolution of the cervico-dorsal regions in Tetrapoda: approaches from the fossil record and embryology

研究代表者

對比地 孝亘 (Takanobu, Tsuihiji)

独立行政法人国立科学博物館・地学研究部・研究主幹

研究者番号：70597343

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：四肢動物の頸部と胸部が、いわゆる魚類における分化していない状態からどのようにして進化してきたかを明らかにするために、古生代以来の化石標本の骨格の観察を行うとともに、現生種のCTスキャン撮影や胚の観察を基にした解剖学的データ収集を行った。器官とそれを支配する神経の退化のタイミングにずれがある可能性など、複雑な進化が示唆された。また、発生学的研究のための新たな爬虫類種としてニホンヤモリが適切である可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

四肢動物類の分類学的、形態学的多様性のほとんどは絶滅種により示されているため、本研究では、進化学的研究にはそのような古生物学的データと、現在存在する種の生物学的データの両方を考慮する必要があることを示した。また、古生物学的データと比較するための発生学的研究のために、本邦に生息し飼育の比較的易しいニホンヤモリが使用できる可能性を新たに示したことで、爬虫類進化に関する研究の将来性にも貢献した。

研究成果の概要(英文)：In order to elucidate how the cervical and dorsal regions in tetrapods differentiated from the primitive condition in "fishes," skeletal characteristics of fossil specimens since the Paleozoic were observed. Anatomical data on extant species were also obtained by CT scanning and observations on embryos. As a result, complex patterns of evolution, including possible discrepancy in timing of degeneration between an organ and nerves supplying it. In addition, the possibility of the Japanese Gekko may be suitable for research in development of Reptilia was suggested.

研究分野：古脊椎動物学

キーワード：四肢動物類 頸部 解剖学 ヘビ類 骨格

1. 研究開始当初の背景

手足を持つ脊椎動物である四肢動物類は、デボン紀に起源をもつ分類群で、最初に上陸したとされるデボン紀の *Acanthostega* などのステム四肢動物類、両生類、哺乳類、爬虫類やそれから派生した鳥類が含まれる。これらは、水中から陸上への進出と陸上生活への適応、さらに一部は空中への進出を果たし、生態学的・形態学的に大きく放散・多様化した。このような様々な環境への適応として注目され、その形態進化についてこれまで研究が進んできたのは口コモーション（歩行、走行、飛行）の器官である四肢であるが、首、胴体、尾からなる中軸系については、その進化はあまり注目されていなかった。しかし特に頸部は、魚類においてつながっていた頭骨と肩帯が分離することによりできた頭部と胴体間のギャップを起源とする四肢動物の共有派生形質である。さらに頸部は、感覚器官の集中した頭部を、呼吸や消化器官などを含み体重の大部分を占める胴部とは独立に動かすことを可能にすることで、より洗練された刺激への対応、眼の焦点維持、効率的な捕食能力の向上などを通じて、四肢動物類の適応放散に貢献した形態学的キーイノベーションでもある。一方で、哺乳類の頸部-胴部境界付近には、肩帯、胸骨と関節する最前の肋骨、甲状腺、肺、心臓、体腔の前縁などが位置しており、これらは一般的にはこの境界を特徴づける形質と考えられているが、同じく有羊膜類の爬虫類では、胸骨と関節する肋骨を持つ最前の椎骨を目印にした場合と、肩帯の位置など他の解剖学的特徴を用いた場合との間で、頸部-胴部境界の位置が大きくずれる。さらに、アシナシトカゲ類やヘビ類など四肢の退化している爬虫類では、これらの構造や器官は体軸に沿い前後にばらばらに配置しており、頸部-胴部境界を定義するのも難しい状態である。このことは、頸部は複数の進化的モジュールからなり、四肢動物類の系統上、頸部に含まれる器官の構成およびそれらの位置関係は進化的に変化してきたことを示している。このような例にみられるような、中軸に沿った形態のパターニングやそれを生み出したプロセスについては、骨形態に基づいたモルフォメトリクスや発生学的実験などに基づいた進化形態学の研究が行われてきたが、化石に基づいた古生物学の研究と、発生学などの生物学的な研究が完全に統合されているとは未だに言い難い状態である。

2. 研究の目的

本研究では、四肢動物類における前後軸に沿った頸部と胴部（仙前部）のパターニングの進化の様式とメカニズムについて、化石標本における骨学的形質の詳細な調査と、現生種の発生学及び解剖学的観察を組み合わせることにより明らかにする。具体的には、(1)化石分類群を含む四肢動物類における頸部-胴部の形態進化シーケンスの解明、(2)現生四肢動物類における頸部-胴部における軟組織器官配列の再検討、(3)個体発生データ解析に基づく頸部-胴部パターニングの進化メカニズムの推定（特に前肢を完全に失ったヘビ類における頸部-胴部の様々な器官の位置的乖離の進化メカニズムの考察）について明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

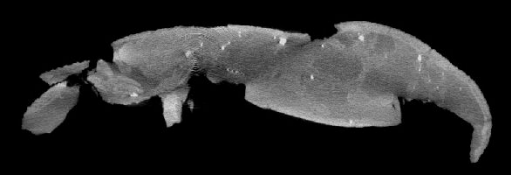
- (1)化石分類群を含む四肢動物類における頸部-胴部の形態進化シーケンスの解明：
基幹的肉鱗類を比較のための外群として用い、水中から陸上、陸から空中という生息場所の変化に注目しつつ、豊富な化石標本のデータを収集し、頸部及び胴部の骨格に関する形質の形態進化シーケンスを明らかにする。
- (2)現生四肢動物類における頸部-胴部における軟組織器官配列の再検討：
脳神経や腕神経叢などの神経系、血管系、呼吸器系などの様々な構造の配置について解剖学的データを得て、それらと骨格形態にあらわれたパターニングとの比較を行う。扱う分類群としては、四肢動物類と、比較のための外群としてのハイギョ類、条鰭類、軟骨魚類を扱う。近年発達してきたルゴール溶液（ヨウ素・ヨウ化カリウム混合溶液）浸潤による軟組織コントラスト強化 CT 撮影（diceCT）の手法を用いることにより、さまざまな器官の位置関係についてのデータを非破壊的に得る
- (3)個体発生データ解析に基づく頸部-胴部パターニングの進化メカニズムの推定：
前肢を完全に失ったヘビ類と、原始形質を保持していると期待される四肢の発達した双弓類（ヤモリ類など）における発生過程を比較する。まずこれらの分類群の生体をつがい飼育し交尾させることで受精卵を得たのち、これらを孵卵しながら段階的に固定することで胚シリーズを作成する。これらを用いて、特に中軸骨格系とその他の器官系の発生過程を調べ、これらの出現順序および位置変化のシーケンスを明らかにする。さらに伸長した頸部を持つ鳥類の受精卵を購入し、上記と同様な方法で胚標本作成と観察を行う。

4. 研究成果

(1) Yale University Peabody Museum of Natural History, Museum of the Rockies (共にアメリカ合衆国)、Natural History Museum (London)、Bristol City Museum and Art Gallery (共にイギリス)、群馬県立自然史博物館、福井県立恐竜博物館、茨城県自然博物館において、古生代および中生代の化石四肢動物類とその外群となる非四肢動物肉鱗類の標本の後頭部や中軸骨格系の観察を行った。データ取得をした分類群は以下の通り：

非四肢動物類肉鱗類：*Sterropterygion brandei*, *Eusthenopteron fordi*
 非有羊膜類四肢動物類：*Crassigyrinus scoticus*, *Palaeoherpeton decorus*, *Eogyrinus attheyi*,
Actinodon trossardi, *Loxomma acutirhinus*, *Megalocephalus allanni*, *Trimerorhachis* sp.,
Dvinosaurus primus, *Batrchosuchus watsoni*, *Metoposaurus diagnosticus*, *Seymouria*
baylorensis, *Limnoscelis paludis*, *Molgophis macrurus*, *Diadectes lentus*
 非哺乳類単弓類：*Sphenacodon* sp., *Dimetrodon* sp.
 魚鱗類：*Stenopterygius* sp.
 鱗竜類：*Dolichosaurus longicollis*, *Adriosaurus suessi*, *Coniasaurus* sp., *Platecarpus*
peckensis
 基盤的主竜形類：*Pachystropheus rhaeticus*, *Tanytrachelos ahyinis*, cf. *Scaphonyx*
 ワニ形類：*Crocodylus affinis*, *Borerisuchus vorax*
 翼竜類：*Dimorphodon macronyx*
 獣脚類：*Allosaurus fragilis*, cf. *Coelurus*, *Deinonychus antirrhopus*, *Saurornitholestes*
langstoni, *Troodon formosus*

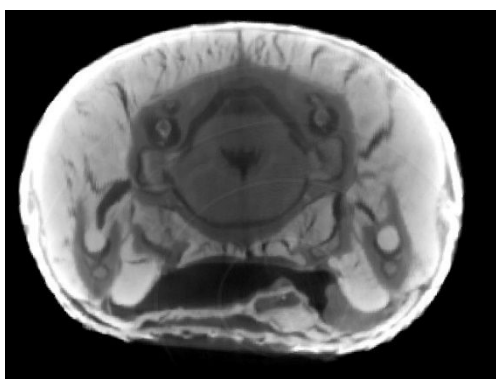
しかし研究期間中の COVID 19 流行に伴い、海外渡航が困難になるとともに調査を予定していた研究機関の訪問禁止などが重なり、予定していた分類群を網羅することができなかった。特に外群としての基盤的非四肢動物類肉鱗類を北欧の機関で直接観察することができなかったが、方針を転換し、日本国内に存在する最も保存状態のよい *Eusthenopteron fordi* の標本をマイクロCTスキャン撮影した。この標本は鱗で覆われているため頭部後方から脊柱にかけて



調査した *Eusthenopteron fordi* の標本と得られた頭部のCTスキャン画像の例。

の形態は表面からは観察できないが、CTスキャン撮影の結果、内部にはそれらがよい状態で保存されていることが分かり、それらをデジタル3D構築することで形態データを得る道筋が立った(左図)。それらが埋まっている泥岩とのコントラストが鮮明ではないため、この作業には長時間がかかっており現在も進行中である。

ことに成功した。またこの手法を用いて、ヘビ類二種(シロクチニシキヘビ、アカマタ)の頭部脊柱関節部付近のデータを取得した(下図)。その結果、これまで古典的な解剖学的観察により報告されていた、ヘビ類における第十一脳神経の欠如を確認した。四肢動物の中でこのよう



diceCT スキャンにより得られたヘビ類の断層画像の例。中央部を中心とした濃い灰色部が脳神経系、周辺の明るい部分が筋肉系である。

(2) 現生種の成体標本の解剖学的観察を行うにあたり、diceCTスキャン撮影の手法の本研究目的に対する最適化を行った。その結果、固体のヨウ素およびヨウ化カリウム溶液を溶解することで作成した新鮮な5%ルゴール溶液を用い、その中に標本を浸潤した容器をシェイカー上で振動させ続けることで標本内における染色ムラを押さえることに成功した。またこの手法を用いて、ヘビ類二種(シロクチニシキヘビ、アカマタ)の頭部脊柱関節部付近のデータを取得した(下図)。その結果、これまで古典的な解剖学的観察により報告されていた、ヘビ類における第十一脳神経の欠如を確認した。四肢動物の中でこのように進化保存的な特徴が二次的に欠失している例は非常にまれである一方で、他の脊椎動物においてこの神経により支配される僧帽筋はヘビ類においても保持されている。そのため、器官とそれを支配する神経の退化が完全に相関しておらず、そのタイミングにもずれがある可能性が示唆された。

その他にアミア、アフリカハイギョ、シヨクヨウガエル、ダチョウ等をCTスキャン撮影することによりデータを得た。これらの種における軟組織器官の配列に関しては新規な情報は得られなかったが、今後それらのCTスキャンデータを用いたデジタル3D構築を行うことにより、解剖作業では失われてしまう *in situ* の立体的な位置関係についての情報を得る予定である。

(3) 個体発生データを取得するために、ヒョウモンカゲモドキ、ソメワケササクレヤモリ、コーンスネークをつがいで飼育し、得られた受精卵をグルタルアルデヒド溶液で固定後、100%メタノールに置換することで、冷凍庫において長期保存に耐えうる胚標本作製した。また飼育個体十分な数の胚を得られなかったため、卵を持つシマヘビを繁殖期に購入することにより、同様な胚標本作製した。さらに鳥類についても、エミュー(古顎類)やウズラ(新顎類)の受精卵を孵卵し、胚標本作製した。このようにして得られた標本を上記のdiceCTスキャン撮影することにより、骨格系、筋肉系、神経系を区別できる連続画像データを取得した。しかし、研究期間内に解析できたデータは主に孵化直前のもの

であったため、発生メカニズムに迫れる情報はあまり得られなかった。一方で、より初期の胚の形態観察を行うための手法として、共焦点レーザー顕微鏡による断層画像取得のための胚の透明化および組織免疫染色法（CLARITY）を、米Yale UniversityのBhart Anjan-Bhullar研究室に滞在して習得した。また実際にウズラとコーンスネークについて、筋肉、神経、軟骨を標識した胚標本を作成し、そのレーザー顕微鏡データを取得するとともに、同研究室と共同の計画を立ち上げた。また本研究を通じて得られた鳥類の標本、鳥類における骨格形質の発生および成長パターンの進化に関する研究に用いられ、その成果は学会発表された。

一方で、特にこれまで飼育下において比較的受精卵を採取しやすいとされていた上記のヤモリ類からは期待していた数の胚標本が確保できなかった。このため、発生学的研究のための新たな爬虫類種を見出すべく、ニホンヤモリの生体の採取と飼育を行った。本種は野生種のためその繁殖時期が限定されているという短所はあるが、体サイズが小型で飼育ケージも小型のものでよいことから、特に、面積の限られた研究室における受精卵確保のためには適切な種である可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石川弘樹・小川由華・對比地孝亘
2. 発表標題 現生鳥類の孵化後の成長過程における骨学的形質の変化と順序異時性
3. 学会等名 日本古生物学会第171会例会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	遠藤 一佳 (Endo Kazuyoshi) (80251411)	東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・教授 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	Yale University		