

顎の進化を無顎類の発生から探る

横山 広真 (筑波大学 生物学類)

指導教員: 和田 洋 (筑波大学 生命環境系)

背景・目的

脊椎動物は顎を獲得することで捕食者として繁栄することができたと考えられているが、顎の獲得プロセスについてはまだ不明な点が多い。顎の進化プロセスを研究するためには、脊椎動物の系統において顎を獲得する前に分岐した無顎類の口部発生について理解することが重要である。

脊椎動物の顎骨は胚の第1咽頭弓と呼ばれる領域の神経堤細胞から形成される。顎口類の顎の発生における顎骨形態のパターニング遺伝子と顎関節の位置を制御する遺伝子が無顎類ヤツメウナギの神経堤細胞でも発現していることが分かっている。しかし先行研究よりヤツメウナギの場合、顎口類と異なり顎骨形態のパターニング遺伝子のホモログを発現する神経堤細胞集団と、軟骨分化に関わると考えられる *LjSoxE3* 及び顎関節位置を制御する遺伝子のホモログ *LjEdnra* を発現する神経堤細胞集団が前後に分かれて分布していることが分かっている。また、三叉神経の伸長パターンもヤツメウナギの第1咽頭弓に筋肉を含め前後に分かれた細胞集団が存在していることを示唆している。

このことから、先行研究で次のような顎骨の進化プロセスが提唱された。無顎類の第1咽頭弓では細胞集団が前後で分かれており、前方の神経堤細胞集団では顎骨形態のパターニング遺伝子、後方の神経堤細胞集団では軟骨分化と顎関節形成を制御する遺伝子が発現していたが、顎口類ではこれらの遺伝子の発現領域がシフトして重なり共に発現するようになることで顎骨を獲得したというものである。

しかし、無顎類の第1咽頭弓の神経堤細胞集団が中胚葉など他の細胞タイプも含めて前後に分かれているかは分かっていなかったため、本研究では中胚葉および筋肉マーカー遺伝子の発現領域を調べることでヤツメウナギ胚の第1咽頭弓における中胚葉の分布を解析した。さらに *LjSoxE3*、*LjEdnra* を発現する神経堤細胞集団から顎骨と相同であると考えられる第1咽頭弓軟骨が分化すること及び第1咽頭弓軟骨基質の遺伝学的な背景は分かっていたため、第1咽頭弓における軟骨マーカー遺伝子の探索を行いその発現領域を調べた。

材料・方法

○サンプル: カワヤツメ *Lethenteron camtschaticum* を人工授精させ胚を得た。

○中胚葉の組織学的解析: 第1咽頭弓中胚葉で発現することが知られる *LjEnD*、*LjMRFA*、筋肉のマーカー遺伝子として *LjMA2*、また比較対象として神経堤細胞のマーカーとして *LjSoxE*、*LjDlxA* を用い st23~st26 にかけて *in situ* hybridization を行った。その後、凍結切片を作成し詳細に観察した。

○第1咽頭弓軟骨マーカー遺伝子の探索: 第1咽頭弓軟骨のマーカー遺伝子の候補をマウスや近縁種ウミヤツメの既知のアミノ酸配列を参考にプライマーを作成し、カワヤツメ st25 胚およびアンモシート幼生の cDNA を用いて PCR 法により単離した。

次に単離した遺伝子から DIG で標識をした RNA プローブを作成し、軟骨が形成される st26~st30 にかけて *in situ* hybridization を行い遺伝子の発現領域を調べた。

結果

○中胚葉の組織学的解析

whole-mount *in situ* hybridization の結果、st26 で *LjMA2* は上唇、下唇、縁膜と三叉神経第2枝・第3枝に沿う領域で、*LjMRFA* は st25 では上唇、下唇、縁膜を含む一つの領域、st26 では上唇、下唇を含む口周囲と縁膜の二つの領域、*LjEnD* は st24 以降に縁膜でシグナルが観察された。また、*LjDlxA* は st24 から st25 までは上唇・下唇を含む口周囲、st26 以降は加えて縁膜、*LjSoxE3* は st24 以降で口周囲よりも後方の縁膜を含む領域でシグナルが観察された。

現在、凍結切片を作成しこれらの遺伝子を発現する細胞がどのような位置関係で分布しているかを調べる解析を行っている。

○第1咽頭弓軟骨マーカー遺伝子の探索

第1咽頭弓軟骨のマーカー遺伝子は現在も進行中である。ただし、近縁種ウミヤツメの軟骨基質タンパク質のアミノ酸配列の一部をもとに新しく単離した lamprinlike、及び既に単離されていたプロテオグリカン的一种 lectican の *in situ* hybridization の結果、st27 から st30 にかけてエラスチン様軟骨として知られている第3~第9咽頭弓軟骨でシグナルが観察された。

考察・今後の展望

ヤツメウナギの第1咽頭弓軟骨は背側から梁軟骨、縁膜、側口板と呼ばれている。生化学的には梁軟骨はエラスチン様軟骨、縁膜、側口板はムコ軟骨に分類される。現時点では梁軟骨におけるエラスチン軟骨のマーカー遺伝子としてヤツメウナギに特有な軟骨基質である lamprin を候補として挙げており *in situ* hybridization による解析を行う予定である。

顎口類の主要な軟骨基質はII型コラーゲンであるのに対し、無顎類ヤツメウナギの主要な幼生軟骨基質については非コラーゲン性であるがその遺伝学的背景はよく知られていない。本研究では幼生軟骨の一部で lamprinlike、lectican が発現していることが分かり、ヤツメウナギの幼生軟骨について新たな知見が得られたと考えられる。

また、今後はヤツメウナギの第1咽頭弓の発生を詳細に調べるために神経堤細胞や筋肉の起源となる中胚葉の細胞系譜を生体染色によって解析したいと考えている。

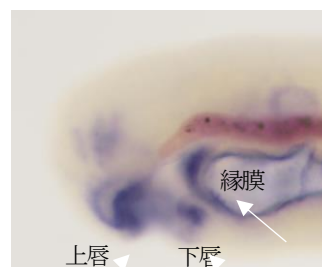


図: ヤツメウナギ胚の第1咽頭弓領域。神経堤細胞マーカー遺伝子 *LjDlxA* の *in situ* hybridization の結果。シグナルが上唇・下唇を含む口周囲と縁膜の前後に分かれた神経堤細胞集団で見られる。