

氏名	奥山 健太郎		
学位（専攻分野の名称）	博士（バイオセラピー学）		
学位記番号	甲 第 838 号		
学位授与の日付	令和 3 年 3 月 21 日		
学位論文題目	有鱗目の多様化機構解明に向けたトカゲ類の発生学的基盤研究		
論文審査委員	主査 教授・博士（理学）	佐々木 剛	
	教授・博士（獣医学）	増田 宏司	
	教授・博士（畜産学）	小川 博	
	教授・博士（理学）	松林 尚志	
		博士（理学）	二階堂 雅人*
		博士（理学）	土岐田 昌和**

論文内容の要旨

第 1 章 序論

生物多様性とその創出機構の理解は、生物学の主要な命題の一つである。脊椎動物の形態的多様性は、主要な器官形成に関わる共通の発生過程と、各系統の派生的な器官形成に関わる特徴的な発生過程の両者を通じて獲得されてきた。そのため、形態的多様化の進化史を理解するためには、進化発生学的視点に基づき発生過程を比較解析することで、その共通性と特殊性の両面を明らかにする必要がある。次世代シーケンス解析や遺伝子改変技術に代表される近年の科学技術の発展は、様々な脊椎動物のモデル動物種を対象とした進化発生学的研究に応用され、これら研究により脊椎動物の形態進化に関わる発生学的メカニズムが明らかにされてきた。一方で、地球上の様々な環境に適応し四肢動物の中で最も多くの種を含むことが知られる爬虫綱有鱗目を研究材料に用いた進化発生学的研究は少ない。四肢動物の進化史の初期に分化した有鱗目の生物学的特徴を理解し、その著しい多様性が獲得された仕組みを解明することは、我々ヒトを含む羊膜類、四肢動物が如何にして陸上環境に適応放散したかを理解するために重要である。

動物の感覚器官は彼らの生生活動、生殖活動に不可欠であり、それゆえ種の多様性獲得にも重要な役割を担う。感覚器官のうち嗅覚器は、遠隔化学刺激を受容することにより環境認知を司る。四肢動物は複数の嗅覚器を持つことが知られるが、中でも鋤鼻器官は同種の他個体の放出する化学物質であるフェロモンを受容し、繁殖行動などを含む個体間相互作用に関与することで種の分化および維持に重要な役割を担ってきたと考えられている。一方、他の四肢動物とは異なり、有鱗目は個体間相互作用のみならず採食や外敵の回避など生態の様々な側面において鋤鼻器官に依る化学受容を行うことが知られる。このことから、有鱗目の多

*東京工業大学 生命理工学院 准教授

**東邦大学 理学部 講師

様化の進化史において鋤鼻器官の進化が重要な役割を担ってきたと考えられている。

第2章 有鱗目トカゲ類2種を用いた発生学的基盤研究

発生学研究は、複数の種間あるいは動物群間で発生過程の比較解析を行うために、胚発生
の進行度を標準化する発生段階定義を確立してきた。有鱗目のうちトカゲ類を対象としては、
Dufaure and Hubert (1961) の発生段階定義 (DH ステージ) が広く用いられてきた。しかしト
カゲ類では、発生段階定義に用いられる形態的特徴の一部の発生順序が科間、上科間などの
系統間で異なる場合があり、それら発生順序の差異は系統関係を反映しない。このことから、
有鱗目の発生過程の比較解析が活発に行われるためには、少なくとも各科を網羅した共通の
発生段階が定義され、分類群間に存在する発生順序の差異が理解される必要がある。しかし、
現在の分類体系で認識されるトカゲ類 40 科以上のうち連続した発生段階が詳細に観察され
ているのは 14 科に留まる。このような発生過程に関する知見の不十分さは、有鱗目を用い
た進化発生学的研究を活性化するために解決すべき課題の一つである。

本研究では、今後の有鱗目を用いた進化発生学的研究への貢献を目的として、トカゲ類の
うち発生過程に関する情報が不十分であったカナヘビ科ニホンカナヘビ *Takydromus*
tachydromoides およびトカゲ科ヒガシニホントカゲ *Plestiodon finitimus* の産卵から孵化まで
の一連の産卵後発生段階 (DH ステージ) を定義した。ニホンカナヘビの一連の産卵後発生
過程の観察はカナヘビ科の産卵種としては 3 例目であり、一連の産卵後 DH ステージの観察
は同科の卵生種として 1 例目である。また、ヒガシニホントカゲの一連の産卵後 DH ステ
ージの観察はトカゲ科の種としては 2 例目である。さらに本研究では、両種の産卵後胚発生
の特徴を明らかにし、今後の発生学的研究におけるこれらトカゲ類 2 種の活用の可能性につ
いて議論した。加えて、ヒガシニホントカゲの母個体が産卵後に卵を保護し世話をする生態に
注目し、卵を母個体の保護下で発生させた群と、卵を母個体から回収しインキュベータ内で
発生させた群の間で、胚の正常発生率および発生段階の進行度を比較した。

多くの産卵性トカゲ類の胚が DH ステージ 30 前後で産卵され、60 日間前後の孵卵期間を
経て DH ステージ 42 前後で孵化する一方、ニホンカナヘビ胚は初期咽頭胚期にあたる DH
ステージ 26–28 で産卵され、約 28 日間の孵卵期間を経て DH ステージ 42 で孵化に至った。
また、ヒガシニホントカゲ胚は後期咽頭胚期にあたる DH ステージ 32 で産卵され、約 24 日
間の孵卵期間を経て DH ステージ 42 で孵化に至った。これらのことから、本研究で観察し
たトカゲ類 2 種は共通して孵卵日数が短く、産卵後の胚発生が他のトカゲ類と比較して短期
間に進むことが明らかになった。両種の外部形態的特徴の発生順序の大部分は DH ステ
ージの定義に用いられたコモチカナヘビ *Zootoca vivipara* と類似していたが、近縁な科間でも差
異がある場合が知られる色素形成開始のタイミングはそれぞれ異なっていた。ヒガシニホ
ントカゲの母個体による卵の世話が胚発生に与える影響を調べた結果、胚の正常発生率および

発生段階の進行度に孵卵条件間で有意な差は認められなかった。しかし、母個体から回収しインキュベータ内で発生した胚の正常発生率が 86.7 % であったのに対し、母個体の世話の下で発生した胚の正常発生率は 100 % であった。このことは、同種の母個体が卵の世話をする際にとる行動が胚の正常発生率を向上させる可能性を示唆する。この可能性を検証するため、今後は母個体の詳細な行動観察を行いつつ、さらに多くの胚試料数を用いて比較解析を行う必要がある。

本研究で観察したトカゲ類 2 種は、日本国内で容易に採集、飼育繁殖して胚試料を入手することが可能である。また、単一のクラッチから複数の胚試料を得ることができ、それらの胚発生が一定の速度で進行する。さらに、産卵後の胚発生の進行が速く、目的の発生段階の胚試料を短期間に入手することができる。加えて、ニホンカナヘビの産卵のタイミングは他のカナヘビ科の種と同様にトカゲ類中では比較的早く、肢芽形成の開始以前である。そのため、同種の産卵後胚発生においては一連の四肢形成過程を観察することができる。また、ヒガシニホントカゲでは母個体が卵の世話をする際の何らかの行動により非常に高い正常発生率で胚試料を入手できる可能性がある。以上の特徴から、これらトカゲ類 2 種は発生学的研究で活用されるために十分な利点を備えていると考えられた。

第 3 章 有鱗目の鋤鼻器官とその関連構造の関係性の進化史

有鱗目の鋤鼻器官は、他の四肢動物の同器官と同様に嗅上皮の一部から発生する。しかし、鼻腔と完全に隔絶して口蓋に開口する点や、器官内部に分泌腺構造を持たず、その内腔が眼窩のハーダー腺で分泌される内腔液で満たされる点など、他の四肢動物と異なる形態的特徴を持つ。有鱗目の鋤鼻器官には、1) 外界の化学物質を付着させ器官の開口部に運ぶ舌、2) ハーダー腺から鋤鼻器官へ伸長し内腔液の経路となる鼻涙管、3) 内鼻孔から鋤鼻器官へ伸長し、鼻涙管が開口する内鼻溝などの機能的関連構造が知られる。これら鋤鼻器官関連構造は目内で形態的に多様化していることが知られ、中でも舌の形態的特徴やその機能的意義、進化史は盛んに議論されてきた。一方、鼻涙管および内鼻溝の形態的多様性は統合的に整理されておらず、その進化史や機能的意義に関して議論した研究は非常に少ない。また、鋤鼻器官およびその関連構造の発生過程を詳細に観察した研究は少なく、上述の形態分化の仕組みには未解明な点が多く残されている。

そこで本研究では、まず有鱗目ニホンカナヘビの鋤鼻器官およびその関連構造の連続組織切片を作製して三次元構造を再構築し、形態的特徴を明らかにした。カナヘビ科の種の鋤鼻器官関連構造の形態的特徴に関しては、鼻涙管が内鼻溝との融合により形成する派生構造である鼻涙-内鼻溝が鋤鼻器官まで伸長するという複数の報告と、同構造が鋤鼻器官に接触せず終端するという Lemire (1985) の報告が混在しているが、ニホンカナヘビの形態的特徴は Lemire (1985) の報告したものと類似していた。この鼻涙管あるいはその派生構造が鋤鼻器

官に接触しないという形態は、有鱗目内ではカナヘビ科および一部のカメレオン科の種のみで知られる特徴的なものである。

次に、同様の手法により同種の胚発生における鋤鼻器官および関連構造の形態形成過程を観察した。その結果、本種の鋤鼻器官および関連構造の発生過程は DH ステージ 36 以前では他のカナヘビ科の種などに類似していることが明らかになった。また、上述の本種に特徴的な形態、すなわち鼻涙管の派生構造の鋤鼻器官からの分離が、一部の有鱗目で観察される口蓋形成による内鼻溝の鋤鼻器官からの分離とよく類似した挙動により、DH ステージ 37 で形成されることが明らかになった。

さらに、先行研究で示された有鱗目の鋤鼻器官関連構造の形態的特徴に関する知見を整理統合し、鋤鼻器官と鼻涙管、鋤鼻器官と内鼻溝、鼻涙管と内鼻溝の三種類の構造的関係性をそれぞれ 4 種類の形質状態に分類した。続いて、現在広く支持されている有鱗目の系統関係に基づき、それら形質状態の祖先形質状態推定を推定した。その結果、鋤鼻器官、鼻涙管、内鼻溝が互いに連続する形質状態が有鱗目にとって祖先的であると推定された。また、有鱗目の進化史において、鼻涙管派生構造の鋤鼻器官からの分離、内鼻溝の喪失、内鼻溝の鋤鼻器官からの分離、鼻涙管と内鼻溝の融合といった複数の非相同同形形質（ホモプラシー）が平行的に進化したと推定された。

第 4 章 総論

本研究は有鱗目の著しい多様性に注目し、以下の二つの研究内容によりその創出機構の理解に貢献することを目的とした。まず、有鱗目トカゲ類の胚発生に関する基礎的知見を充実させるために、胚試料の外部形態の観察に基づきトカゲ類 2 科 2 種の産卵後発生段階を新たに定義し、それら種の発生過程の特徴およびその発生学研究への活用の利点を示した。また、有鱗目の多様化に重要な役割を担った可能性がある鋤鼻器官関連構造の形態的多様性について、以下の新たな知見を示した。まず、カナヘビ科ニホンカナヘビのそれら構造の形態を組織学的に観察し、同種が有鱗目内で特徴的な形態を持つことを解明した。加えて、鋤鼻器官関連構造の形態的多様化の進化史を推定し、複数の非相同同形形質の平行進化の可能性を示した。

本研究の内容に関連し、今後の有鱗目の形態学および発生学的研究の研究基盤を整備するにあたり解決すべき課題として、多くの種の軟組織や体内器官の形態や、胚発生における体内の器官形成過程の大部分が十分に理解されていないことが挙げられる。今後これら課題を解決するためには、体内器官の立体構造を網羅的に観察するために強力な手段となる非破壊的三次元イメージングと、各器官の組織形態の詳細な観察に利点のある連続組織切片作製の両手法を併用することが求められる。これら手法により得られるデータを統合した進化発生学的解析は、有鱗目の形態的多様性の理解に大きく貢献するだろう。

審査報告概要

有鱗目は陸上脊椎動物の中で最も多様化した分類群の一つであり、その多様化機構解明は羊膜類の陸上環境への適応放散の仕組みを理解するために重要である。本研究はトカゲ類2種の産卵後の発生段階を定義したことで有鱗目の形態分化機構の解明を目指す比較発生学分野に貢献する成果をあげている。加えて、有鱗目の嗅覚において重要な役割を担う鋤鼻器官とその機能的関連構造についてニホンカナヘビを材料に組織学的観察を行ったところ、本種が有鱗目の中でも特異な形態を有していることが明らかにした。さらにこの鋤鼻器官と関連構造の進化史を明らかにするため、有鱗目の分子系統樹に基づいて祖先形質復元を行った。その結果、鋤鼻器官とその関連構造の関係性が平行的に進化し多様化したことを明らかにした。これら研究成果は両生爬虫類学ならびに発生生物学の発展に寄与する業績と認め、審査員一同は博士（バイオセラピー学）の学位を授与する価値があると判断した。