

## 総 説

### 脊索動物か、脊索を持った動物たちか —古生物学と分子生物学の統合—

安井金也<sup>\*</sup>・舒德干 <sup>\*\*</sup>

\*広島大学大学院理学研究科附属臨海実験所・\*\*西北大学初期生命研究所, 西安710069, 中華人民共和国

### Chordates or animals with notochord? An approach from palaeontology and molecular biology

Kinya Yasui \*and Degan Shu<sup>\*\*</sup>

\*Marine Biological Laboratory, Graduate School of Science, Hiroshima University (furaha@sci.hiroshima-u.ac.jp); \*\*Early Life Institute, Northwest University, Xi'an 710069, P.R. China

**Abstract.** Vertebrates, urochordates, and cephalochordates have been classified into the phylum Chordata because of possessing a notochord and a dorsal hollow nerve cord in common. However, their phylogenetic relationships within deuterostomes or even within chordates are still controversial. Nucleotide sequences of ribosomal RNAs or deduced amino acid sequences of mitochondrial genes have provided phylogenetic relationships that support monophyly of deuterostomes, but failed to do so for chordates. Molecular analyses of the earliest development of notochord and nerve cord in vertebrates, ascidians, and lancelets (*amphioxus*) have clarified that although genes involved in this event resemble each other between the groups, processes underlying the establishment of body plan are rather diversified. Despite that advances and accumulation of data in molecular studies on chordate phylogeny have amplified our knowledge, they seem not to converge on support to homology of the notochord and nerve cord among chordates or to monophyly of this group. Early Cambrian vertebrates and urochordates from China, mainly from the Chengjiang fossil beds, suggest that by that time all of the three extant chordate groups had appeared with the body plan comparable to that of modern forms. Since there is no record of chordates from strata lower than the Yu'anshan member that contains Chengjiang beds, early chordates might have diverged quickly. Divergent molecular mechanisms underlying early development of modern chordates and the seemingly short-spanned radiation of early chordates implicate alternative scenario on chordate phylogeny. To step forward, combination of palaeobiology, earth sciences and molecular biology is essential.

**Keywords:** chordate evolution, Early Cambrian fossils, early development, nerve cord, notochord,

#### はじめに

脊索動物はその名が示すように、脊索とその背側に伸びる中空の神経索（神經管）によって特徴づけられる門（Phylum）であり、現生の尾索動物・頭索動物・脊椎動物が含まれる。脊椎動物はもとより、尾索動物や頭索動物も我々ヒトを含む脊椎動物の起源を解明するための有力な動物として、古くから精力的に研究されてきた（Kowalevsky, 1866, 1867）。最近まで、脊椎動物の起源に迫る化石が発見されなかつたことから、これらの研究は現生生物を対象にした比較形態学として発展した。そこでは、脊索動物以外の動物も取り込んで、およそありとあらゆる仮説が提唱された。しかし、多くの学説はその学術的魅力にもかかわらず、検証の難しさが災いして、観念論的形態学から抜けきれず、研究者の興味を引き続けることはできなかつた。

ところが、この10数年で発生学や系統学が分子生物学的手法を取り入れて装いを新たにし、また、古生物学ではカンブリア紀前期にまで遡る脊索動物の化石が報告されるに

いたって、状況が大きく変わつた。たとえば、ミトコンドリアDNAの遺伝子群やその他の塩基配列の位置関係や、遺伝子がコードするタンパク質のアミノ酸配列を比較したり、リボゾームRNAの塩基配列の比較により、新口動物の系統関係が再検討されている。また、分子発生学では、脊索や神経索が形成される分子メカニズムがホヤ類や脊椎動物で精力的に解明されている。一方で、カンブリア紀前期の中国雲南省澄江（Chengjiang）化石包含層から半索動物・尾索動物・頭索動物・脊椎動物とされる化石が次々に発見されており、脊索動物の起源を古生物学的に論ずることができようになつてきた。

本稿では分子系統学・発生学・古生物学の現状を整理して、脊索動物の系統関係および起源に関する問題点を明らかにし、今後の研究の方向性を探つてみたい。

#### 分子から見た脊索動物の系統関係

尾索動物・頭索動物・脊椎動物の3群は、脊索とその背

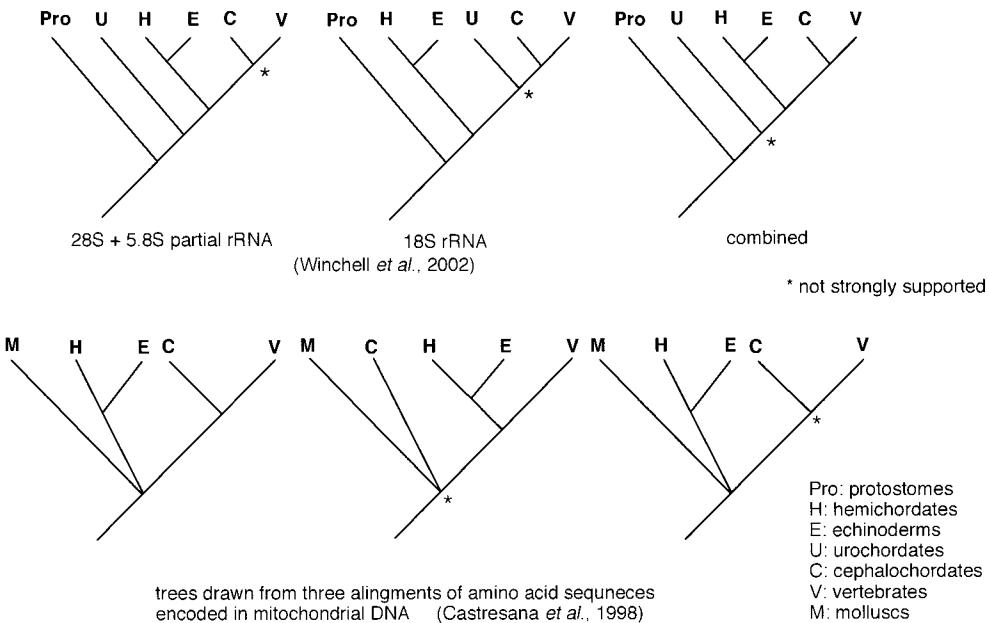


図1. 脊索動物が新口動物内で示す分子系統関係の例。リボゾームRNAの塩基配列ラージサブユニット(LSU; 28S+5.8S)とスマールサブユニット(18S)をもとにして、最尤法で求められた樹形(Winchell et al., 2002を改変)、および、ミトコンドリアDNAにコードされる12のタンパク質のアミノ酸配列より、軟体動物を外群にして近隣結合法(尾索動物が含まれない)で求められた樹形(Castresana et al., 1998を改変)。

側にある中空神経索で互いによく似た発生様式が観察されること、そして、それと同等の形態形成を行う現生の動物が他に存在しないことから、脊索と中空の神経索を共有派生形質と見なし、これら3群からなる群を単系統群とする考えが広く受け入れられている。ところが、以下のように分子の情報にもとづいて3群の系統推定をすると、必ずしも単系統性は支持されない。

リボゾームRNA(rRNA)は、遺伝子が翻訳されてタンパク質が合成されるときに不可欠なリボゾームを構成する分子である。タンパク合成はすべての生物に不可欠な生命活動であるので、機能が変わるような変異は死によって排除される。結果として、生物間で良く保存されており、高次分類群の比較には有効である。

rRNAの塩基配列による系統推定は1980年代の終わり頃から行われるようになり(Hori and Osawa, 1987; Field et al., 1988; Lake, 1990)、新口動物の系統推定にも応用されたが、満足できる結果を得ることができなかった。その後、18S rRNAのほぼ全長をコードするDNAの塩基配列が比較され、Wada and Satoh (1994)の解析では、毛顎動物を除く棘皮動物・半索動物・尾索動物・頭索動物・脊椎動物が単系統であることが示された。新口動物の中では、頭索動物(*Branchiostoma*属の1種のみ)が脊椎動物の姉妹群となり、尾索動物は単系統群として、半索動物+棘皮動物の姉妹群か半索動物の姉妹群になった。しかし、分岐パターンの信頼性はいずれも低く、問題が残された。一方で、Turbeville et al. (1994)の解析では、新口動物の単系統性を積極的に支持する結果を得ることはできなかった。

その後、新たにデータベースに登録された18S rRNAを

コードするDNAの塩基配列の中から、塩基の置換率が比較的低いと考えられる種を選んで系統解析が行われた(Cameron et al., 2000)。それによると、頭索動物(*Branchiostoma floridae*を使用)が脊椎動物の姉妹群となり1つのグループを、そして、尾索動物がそのグループの姉妹群になって脊索動物を構成した。半索動物と棘皮動物は単系統群として、先の脊索動物の姉妹群になるという、脊索動物に関しては形態学的に言われてきた伝統的な系統関係が得られた。しかし、彼らは尾索動物を脊索動物門からはずして、独立した門に引き上げることを提唱している。

rRNAの塩基配列についてはさらに、18S rRNAからなるスマールサブユニット(SSU)と5S・5.8S・28S rRNA(5Sの配列は利用されていない)を含むラージサブユニット(LSU)が比較された(Winchell et al., 2002)。系統樹はLogDet-Paralinkar距離(Lake, 1994; Lockhart et al., 1994)を用いて最尤法で求められた(図1)。その結果、LSUでは新口動物の単系統性を導くことができた。その中で、頭索動物は脊椎動物の姉妹群になったが、その信頼性はかなり低かった。半索動物+棘皮動物は脊椎動物+頭索動物の姉妹群になり、さらにそれらの姉妹群として尾索動物が位置する樹形を示した。つまり、従来の脊椎動物+頭索動物+尾索動物の脊索動物は単系統とはいえない結果になった。LSUとSSUをまとめて解析すると、LSUの結果と基本的なパターンは変わらないが、尾索動物の分岐パターンの信頼性が極端に下がった。また、半索動物内では腸鰓類(ギボシムシの仲間)と翼鰓類(フサカツギの仲間)の分岐パターンが大きく異なり、LSUでは翼鰓類が腸鰓類の姉妹群になるのに、LSUとSSUをまとめた場合、SSUの結果と同

じく両者が入り交じるパターンを示した。

高次分類群の系統推定に使われる分子には、rRNA の他にもミトコンドリアDNAがある。ミトコンドリアDNAは片親だけに由来することから、低次分類群や種内集団の近縁関係の推定手段として威力を発揮しているが、Boore and Brown (1998) によると、以下のような理由から、ゲノム進化と絡めて高次分類群の系統推定にも利用される。1) ミトコンドリアゲノムはサイズが小さく、全体の状態が比較的容易に把握できる。2) 動物ではゲノムに含まれる遺伝子の種類が安定している。3) 遺伝子や遺伝子を含まない領域のDNA内での配置が分類群ごとに独自であり、各分類群内ではそれらの配置が安定している。

ミトコンドリアDNAを用いた新口動物の比較では、個々の遺伝子や遺伝子の発現を制御する領域の塩基配列が、半索動物 (*Balanoglossus carnosus* を使用) と棘皮動物でよく似ているのに対して、遺伝子の配置は半索動物と脊椎動物で大変よく似ていることが明らかになった (Castresana *et al.*, 1998)。しかし、遺伝子の配置が棘皮動物で特殊化していると考えられることから、これらの比較からは系統関係についての情報が得にくいとされた。一方、タンパク質をコードしている遺伝子については、12もしくは13の遺伝子の塩基配列そのものやそれらがコードしているタンパク質のアミノ酸配列をもとにして、近隣結合法もしくは最尤法 (Castresana *et al.*, 1998), 最節約法 (Naylor and Brown, 1998) で系統関係が推定された (図1)。両者の研究に尾索動物が含まれていないのは残念であるが、Naylor and Brownの解析では、脊椎動物と棘皮動物が単系統群になり、その姉妹群として頭索動物 (*Branchiostoma floridae* を使用) が位置した。それに対し、Castresanaらは、遺伝暗号が違うメチオニンとリジンを除くなどしてつくった4種のアライメントにもとづいて系統樹を作成した結果、先のrRNAにもとづく結果とほぼ同じ樹形が得られた。しかし、半索動物と棘皮動物は単系統群を構成するが、頭索動物と脊椎動物の姉妹関係は信頼性が低く、頭索動物が他のすべての新口動物の姉妹群になる場合もあった。

以上の解析にもとづくと、半索動物と棘皮動物の単系統性は信頼性が高いようであるが、脊索動物3群については最終的な結論を下せない状況にある。頭索動物は多くの場合、脊椎動物の姉妹群に位置するが、その分岐パターンの信頼性は低い。発生過程に重要な役割を果たす転写因子やシグナル分子をコードする遺伝子の比較でも、頭索動物は必ずしも尾索動物よりも脊椎動物に類似性が高いわけではない。塩基配列の情報は、高次分類群では塩基の置換が飽和状態になることによって、正しい系統関係を導き出せないとの指摘もあるが、脊索動物の分岐が極めて短い時間で生じたことにより、明瞭なパターンが見いだせないとも考えられている (Wada and Satoh, 1994)。いずれにしても、核酸の変異からは、今のところ脊索と神経索のように明瞭な共有派生形質となりうるような情報は見いだされない。

## 比較発生学で見えるもの：特に脊索と神経索形成に関わる分子メカニズム

遺伝子発現とそれを制御する分子メカニズムの解明によって、少なくとも脊椎動物や尾索動物ホヤ類においては、体の基本的なパターン（ボディプラン）の確立が発生の極めて早い時期にまで遡ることが明らかになった。実験発生学で最もよく使われるアフリカツメガエルでは、受精以降の胚葉形成や背腹軸・前後軸の確立、神経形成がかなり解明されている (De Robertis *et al.*, 2000)。また、尾索動物のマボヤやユウレイボヤでも同様の研究が進んでおり、脊椎動物とホヤ類では脊索や神経索の初期形成パターンの比較ができるようになってきた。残念ながら、頭索動物ナメクジウオ類については、分子レベルの研究が遅れていることから、同レベルの比較はできないが、ある程度の推測は可能である。ここでは、脊索動物の代表として、アフリカツメガエル・ホヤ類・ナメクジウオの分子メカニズムを比較することによって、発生学的立場から、脊索動物3群における脊索と神経索の相同性について検討する。

### 脊椎動物・アフリカツメガエルの初期発生

脊索動物はすべて左右相称動物なので、一般に動物・植物極軸を中心とした放射相称の卵から体ができる過程のどこかで、背腹・前後・左右の胚軸が決定されなくてはならない。これらの軸決定はそれぞれの領域に特異的に出現する形態形成と同等であり、その基盤になる分子の局在性によって決まる。形態形成を司る分子には、遺伝子の発現を調節する転写因子（個々の細胞内で働く）と、ある細胞が分泌して別の細胞もしくは自分自身に作用して、最終的に転写因子を動かすシグナル分子がある。

アフリカツメガエルでは、動物半球の不定の場所に精子が進入することによって卵が急速に活性化され、卵の内部と外層が相対的に回転する。見た目には外層が精子進入点に向かって約30°ほど回転するように見える（図2）。これと平行して、精子進入点近くにある中心小体から卵の表層に沿って、微小管が植物極を経由して将来の背側に向かって伸びる。植物極には、将来、胚の背側になる領域で形態形成を始動させる分子が局在する。これらの分子は卵形成の過程で卵の中に蓄積するもので、母性因子と呼ばれる。この母性因子のあるもの (Dishevelled 分子が結合した Wnt 分子と考えられている) が、微小管に沿ってプラス極側（中心小体から離れた方）に向かって移動する。移動した Wnt複合体はそこでGSK3 (Glycogen Synthase Kinase 3, グリコーゲン合成キナーゼ3) の働きを抑制する。GSK3はβ-Cateninをリン酸化することにより、β-Cateninを分解に導く分子であることから、先ほどの母性因子がこのGSK3の働きを押さえることにより、その領域の細胞質を取り込んでできる細胞はβ-Cateninを豊富に含むことになる。

β-Cateninは細胞間の接着に重要な働きをする分子であるが、細胞内に豊富にあると核内に移行してTCF3 (Tran-

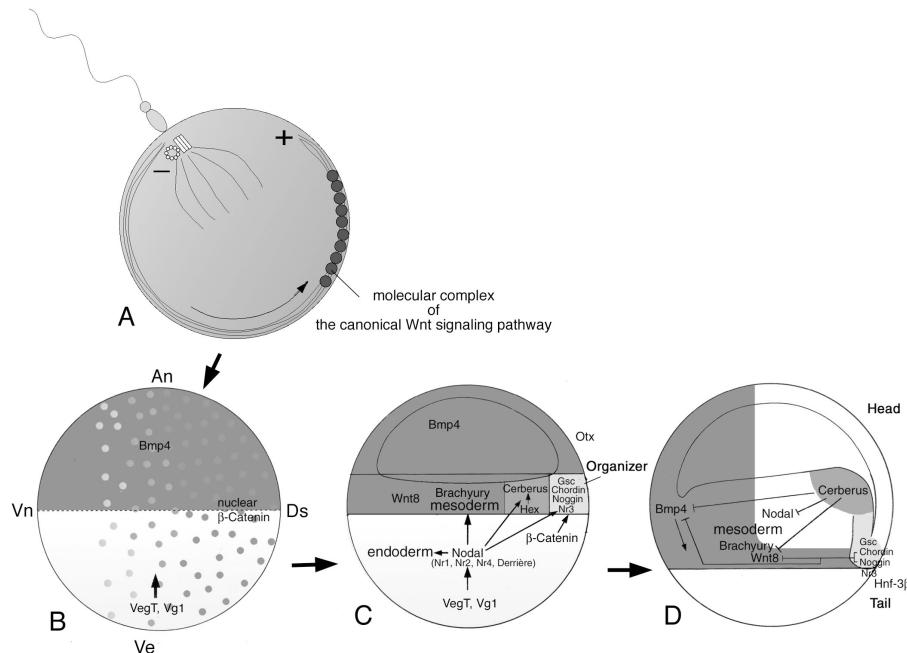


図2. A, アフリカツメガエルの受精後に起こる卵内の変化と、それとともに正準Wntシグナル伝達系の分子機構が将来の背側に移動する様子(De Robertis *et al.*, 2000改変)。B,C, その後、将来、背側になる細胞の核内に $\beta$ -Cateninが蓄積して、植物極側(Ve)にあるVegTやVg1とともに内胚葉(植物半球)や中胚葉(赤道域)の分化やオーガナイザー領域の出現に重要な働きをする。D, オーガナイザーではgoosecoid(Gsc)・chordin・nogginなどの遺伝子が発現して、脊索の分化を促すとともに、背側の表層ではChordinやNogginなどがBmp4シグナル伝達系を抑えることにより、神経上皮(Dの右上白い部分)への分化へ向かう。分子と分子との間の矢印は促進を表す、T字形は抑制を表す。An, 動物極；Ds, 背側；Vn, 腹側

scription Factor 3) という分子と結合することにより転写因子として働き、背側の特異性が出現するための基礎になる遺伝子の発現を開始させる(図2)。これらの遺伝子が最初に発現する領域をオーガナイザーと呼び、そこから背側の中心にできる中胚葉の軸である脊索の形成が起こる。オーガナイザーや脊索の前駆体で発現するシグナル分子であるChordinやNogginはその背側の外胚葉に作用して、TGF $\beta$ (Transforming Growth Factor  $\beta$ , トランスフォーム増殖因子 $\beta$ ) ファミリーの1つであるBMP4(Bone Morphogenetic Protein 4; 骨形成タンパク4)の発現を抑えて、中枢神経の前駆体である神経板の領域を、周りの将来表皮になる細胞とは違った分化に向かわせる。結果として、 $\beta$ -Cateninが蓄積した領域が背側になることになる。ここでみたWntと考えられる母性因子から、 $\beta$ -Cateninを経由してオーガナイザー特異的遺伝子の発現までの分子経路は、正(標)準Wntシグナル経路(canonical Wnt signaling pathway, 決まった日本語がない)と呼ばれる(Moon *et al.*, 2002)。

また、卵の植物極側には正準Wntシグナル経路とは関係しない母性因子も存在する。その中で、VegT(Tドメインを持つ転写因子)と成長因子であるTGF $\beta$ ファミリーのVg1はそれぞれ転写因子とシグナル分子であるが、両者は受精後も植物極側に存在して内胚葉分化を促すとともに、正準Wntシグナル経路と協調して中胚葉の背腹軸に沿った特異性を出現させることになる(図2)(Agius *et al.*, 2000; Hashimoto-Partyka *et al.*, 2003)。

### 尾索動物・ホヤ類の初期発生

ホヤ類は幼生の時に自由遊泳を行い、その解剖学的特徴は他の脊索動物とよく似ているが、細胞数は極端に少ない。変態とともに固着生活に入ると、その基本的体制は大きな修正を受ける。ホヤ類の発生で特徴的なのは、細胞数が極端に少ない段階で各細胞の分化が始まることである。例えば、脊索は64-110細胞期にすでに不可逆的な分化が起こる(Yasuo and Satoh, 1993)。ほとんどの細胞の発生運命がほぼ決まりかける64細胞期の配置をみると、植物極側が内胚葉細胞で、その周りに中胚葉性の細胞である脊索細胞が背側(前方)に、間葉細胞が腹側(後方)に、間葉細胞の外側には筋細胞が配置する(Satoh, 1993)。最も後極に位置する細胞を除いて、これらの配置は脊椎動物のそれとほぼ同等である(図3)。

ホヤ類も受精は動物半球で起こる傾向があり、受精によって卵表層にあった細胞質がマイクロフィラメントの働きによって植物極側に移動する(Jeffery and Swalla, 1990)。その後、植物半球にある星状体をともなった雄性前核(精子から来た半数体の核)が雌性前核に近づき、星状体が縮小するとともに植物極に集まつた細胞質が赤道域に向かって移動する(Roegiers *et al.*, 1999)。これらの動きは先のアフリカツメガエルでみた母性因子の移動とよく似ている(図3)。しかし、ホヤ類の場合は、赤道域に移動した細胞質を受けとる細胞は、将来、筋細胞か間葉細胞になり、その位置は胚の後方になる。これら一連の卵内の急激な変化

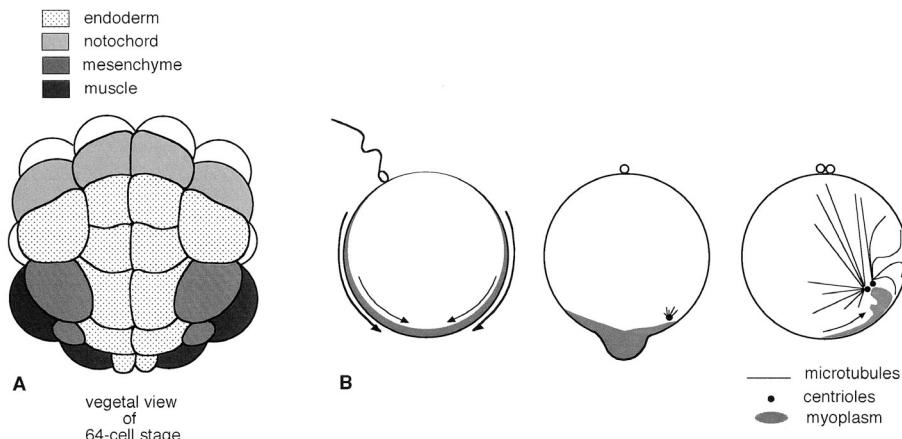


図3. A, 64細胞期マボヤ胚の植物半球における細胞の配置。中胚葉である脊索・間葉細胞・筋細胞になる割球が、脊椎動物と同様に内胚葉になる割球の周囲を占める。B, 受精後の卵内の変化。受精後、主にマイクロフィラメントの働きにより卵表層に一様に分布している後腹側細胞質(posterior ventral cytoplasm)，もしくは、マイオプラズム(myoplasm)と呼ばれる細胞質が植物極に集まる(左側および中央)。その後、雄性前核の動きとともに、星状体の変化により、後腹側細胞質が卵の赤道領域に移動する(右側)。その細胞質を受け継いだ細胞が、将来後方をつくる(Roegiers *et al.*, 1999)を改変)。

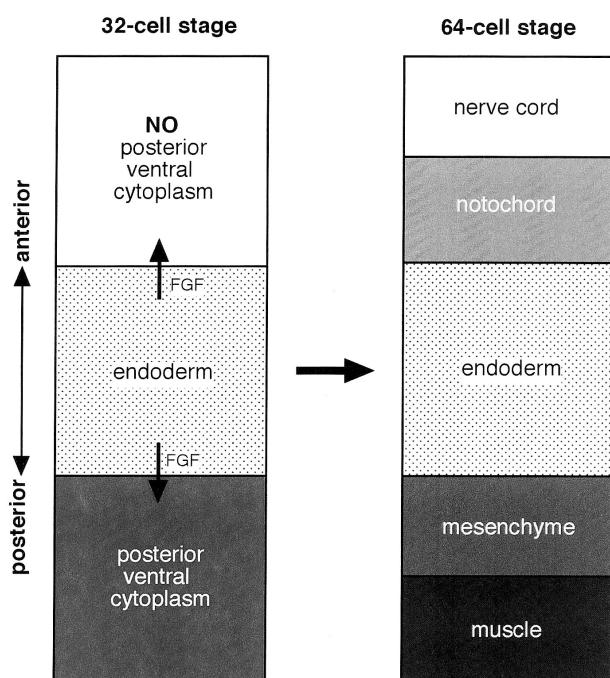


図4. マボヤの中胚葉組織の分化メカニズム。 $\beta$ -Cateninによって決定された予定内胚葉細胞から分泌されるFGFシグナル(endodermから周囲に向かう矢印)が周囲の細胞に伝達されると、それらの細胞は細胞質分離によって分配された母性因子との共同で、後方では間葉細胞が、前方では脊索細胞が分化する。さらに外側の細胞はFGFシグナルを受けないので、前方では神経細胞に、後方では筋細胞に分化する。このメカニズムは、脊椎動物にくらべて単純である(Minokawa *et al.*, 2001)を改変)。

は、卵細胞質の分離もしくは再配置と呼ばれる。受精後に見られる卵細胞質のこのような急激な変化は脊椎動物のアフリカツメガエルやゼブラフィッシュでも知られ、卵黄を比較的多く持った卵から発生する脊椎動物では一般的な現象と考えられる。

ホヤ胚の細胞分化メカニズムは研究が進んでいる分野である。細胞の分化が始まるためには、先ほどの細胞質の分離による母性因子の局在と内胚葉細胞から分泌される分子が重要になる。例えばマボヤの場合、24細胞期以降になると、将来内胚葉細胞になる細胞からシグナル分子FGF(Fibroblast Growth Factor, 繊維芽細胞成長因子; 複数のFGFがあり、そのどれが関わっているかは明かでない)がまわりの植物半球の細胞に伝達される。その時、卵細胞質分離の結果、将来の後方に移動した細胞質を受け取っていない前方の細胞がFGFを受け取ると、64細胞期から脊索細胞に分化する。FGFを受け取らない細胞は自立的に神経細胞になる。一方、後方の細胞では、同じくFGFを受け取った細胞は間葉細胞に、そしてシグナルを受け取らなかった細胞は自立的に筋細胞に分化する(Minokawa *et al.*, 2001) (図4)。脊索の分化については、44細胞期に内胚葉細胞からBMPのシグナルを受け取ることも必要であるとされる(Darras and Nishida, 2001a)。これらの過程では、脊椎動物にみられる正準Wntシグナル伝達系は関与していないよう見える。

それでは、FGFを発現する内胚葉細胞はいつ頃どのようにして分化するのであろうか。内胚葉の分化については、マボヤではなくユウレイボヤでの研究が進んでいる。それによると、脊椎動物の正準Wntシグナル伝達系の中心的役割を果たす $\beta$ -Cateninが重要になる。ユウレイボヤでは $\beta$ -Cateninの核内移行が32細胞期の植物半球の細胞に認め

られるようなる。 $\beta$ -Cateninの発現を強制的に弱めたり強めたりすると、それに応じて内胚葉細胞が減ったり増えたりすることから、ユウレイボヤでは内胚葉の分化に $\beta$ -Cateninが重要であることが示唆される (Imai *et al.*, 2000)。また、内胚葉細胞の周囲にある中胚葉細胞の分化にFGFが重要であることは先に述べたが、fgf遺伝子の1つが $\beta$ -Cateninの標的遺伝子の1つであることも明らかにされた (Imai *et al.*, 2002)。

マボヤの神経系は基本的には自立的に分化するのであるが、脊椎動物でみられるような、表皮細胞と神経細胞を区別するようなBMPの発現パターンはみられない (Miya *et al.*, 1997)。また、分化を制御する母性因子はまだ明らかにされていない。しかし、脊椎動物では神経板の確立にあたって、オーガナイザーと脊索の前駆体から分泌されるシグナル分子ChordinがBMP4シグナルを抑制することが重要であることは述べたが、マボヤのChordinは神経系の誘導が必要ではなく、BMPとChordinの作用は脳胞内の感覚器の分化に関係しているとされる (Darras and Nishida, 2001b)。

#### 頭索動物・ナメクジウオ類の初期発生

頭索動物は世界的に分布しているにもかかわらず、尾索動物や脊椎動物にくらべて形態的変異が極めて小さく、現在、2属30種のみが知られている (Poss and Boschung, 1996)。発生の研究に使われるには*Branchiostoma* (ナメクジウオ) 属だけで、もう一方の*Epigonichthys* (カタナメクジウオ) 属に関する情報はほとんどない。

ナメクジウオ類を発生学的に研究できる期間は大変短く、また、胚を対象にした分子レベルの実験発生学がほとんど不可能であることから、尾索動物や脊椎動物にくらべて分子発生学的知見は限られる。

ナメクジウオ類の卵の特徴は卵黄が少なく、真獣類を除いて最も均一卵に近いことである。動物・植物極軸に沿った細胞質の違いが少なく、ほぼ等割をする。このため、生きている胚の方向を決めるのが極めて難しい。受精は先の2群と同じく、動物半球で起こるとされる (Holland and Holland, 1992)。しかし、受精が起こってもアフリカツメガエルやホヤ類とは違って、卵細胞質の急激な変化はみられない (Holland and Holland, 1992)。したがって、発生の早い時期に胚軸がどのように決まるかは明らかでない。

$\beta$ -Cateninは64細胞期頃から核内に移行し始め、胞胚期にはそれが明瞭になる (図5)。しかし、 $\beta$ -Cateninの核内への移行はすべての細胞で認められ、領域性が不明である (Yasui *et al.*, 2002)。原腸陷入が開始されると $\beta$ -Cateninは将来の背側に集まり、脊椎動物と同じパターンを示すようになるが、それとほぼ同じかやや早い時期に、背側に特異的な遺伝子*goosecoid* (アフリカツメガエルのオーガナイザーに発現する遺伝子として最初に単離された遺伝子) や $otx$ ,  $lhx3$  (3者はすべてホメオボックス遺伝子) が発現していく、両者の因果関係が明かでない。また、脊椎動物と同様にLiClで処理することによって、核内 $\beta$ -Cateninを持つ

細胞の分布を変えることができ、初期原腸胚では将来の背側から動物極側へと分布が移動する。この時、先の3つの遺伝子の発現も動物極を中心とした分布に変わり、背側の特異性が認められなくなる。そして、このような胚では脊索が発達しない。以上のこととは、ナメクジウオでも脊椎動物と同様、 $\beta$ -Cateninが背側構造の形成に重要であることを示しているように見える。しかし、問題は複雑で、LiCl処理胚でも背腹正中領域のマーカー遺伝子である*foxA* (*hnf3*) の発現を見ると、背腹軸が確立していることが分かる (Yasui *et al.*, 2002)。

アフリカツメガエルやゼブラフィッシュ、ホヤ類では、最初の形態形成に関わる多くの母性因子が一般に植物極側に偏在する。ナメクジウオ類でもいくつかの母性因子が明らかにされているが、アフリカツメガエルで植物半球に偏在する $\beta$ -Catenin (Larabell *et al.*, 1997) を含めて動物極に偏在する (図5)。母性因子の分布や電子顕微鏡の観察 (Holland and Holland, 1992) を考えると、ナメクジウオ類では他の脊索動物とは違った方法で、領域特異的な分子の分布パターンが成立し、それにもとづいて脊索、神経系の分化が起こると考えられるが、今後、受精直後の母性因子や細胞質の動態を詳細に解明する必要がある。

以上、脊索動物3群の受精から背側の特異化までの変化をみてきたが、今までのところ、3群の間に見いだされる共通項がどうもはっきりしない。使われる遺伝子群は共通するものが多いが、それらがどのような発生経過を経て使われるようになるかは動物群によって大きく異なる。また、*brachyury*遺伝子は脊索動物3群で脊索形成の初期に発現する遺伝子であるが、3群でこの遺伝子がどのように脊索形成に関わっているのかはほとんどわかっていない。それぞれの群で発現パターンも異なり、脊索動物に特異的な発現制御領域も見つかっていない (Marcellini *et al.*, 2003)。したがって、脊索動物の共通祖先で、この遺伝子の特異な領域での発現が脊索の形成を導いたんだろうという推定には結びつかない。*brachyury*遺伝子は体制が大きく異なる刺胞動物にも見いだされているにもかかわらず (Technau and Bode, 1999)、刺胞動物には脊索も神経索も形成されない。それどころか中胚葉の分化すらほとんどみられない。さらに、個体発生をみると、1つの遺伝子やそれに関係したシグナル伝達系が異なった形態形成や器官形成で繰り返し出現することが分かる。例えば、Wntシグナル系は背側の特異化や中枢神経系の領域の特異化など、シグナル分子であるSonic hedgehogは中枢神経の背腹のパターン化や肢芽の前後軸の確立など、さらに、FGFやTGF- $\beta$ のメンバーは初期の中胚葉形成や中枢神経の領域化など、ほとんどの形態形成に関わる。しかし、このような観察からは、共通の遺伝子発現をするこれらの器官を相同的な器官であるとは誰も言わない。相同性については、遺伝子(群)そのものではなく、それらの発現を調節する領域がより多くの情報を含んでいるのかもしれない。

今のところ、分子情報や初期発生のメカニズムを比較し

### 新門 *Vetulicolia*

*Vetulicolia*（中国では古虫類と呼ぶ）の仲間は、それまで独立に記載されていた *Vetulicola cuneatus*（侯, 1987）、*V. rectangulata*（Luo and Hu, 1999）、*Xidazoon stephanus*（Shu, Conway Morris and Zhang, 1999）、*Pomatrum ventralis*（Luo and Hu, 1999）に *Didazoon haoae* を加えて、2001年に新しい門として分類された動物群である（Shu et al., 2001a）（図7 A-C）。その後、新たに *Yuyuanozoon magnificissimi*（Chen et al., 2003）と *Beidazoon* 属（Shu, 準備中）が発見されて、現在では6属が含まれる。体長は *D. haoae* の10 cm 弱や *Vetulicola* 属、*Y. magnificissimi* の20 cm ほどの大型のものと、*Beidazoon* 属のように0.5 cm と非常に小型のものが存在する。その分類基準は以下のようになる。1) クチクラに覆われた体が前後の2つの領域に明瞭に分けられる。2) 前部、後部ともに分節構造が認められ、後部はすべてのグループで同一の7分節に分かれる。3) 前部は相対的に大きく、前縁に大きな口が開口し、左右の側面中央には5個の鰓孔と解釈される開口部が前後に並ぶ。4) 後（尾）部では、消化管が中央を走行して尾端に開口する。5) 前部と後部は互いに背側で連結する。

*Vetulicola* 属は葉状の殻を持った節足動物に似ていることから、節足動物に分類されていた（侯, 1987; Hou et al., 1999; Luo et al., 1999）。しかし、前部の側面に開く5個の孔を詳細に観察した Shu et al. (2001a) は、以下に述べるように、それが鰓システムであると考えた。各孔の底面（内側）には線維状の構造が認められ、その前方には入水孔と考えられる背腹方向に細長いくぼみが認められる（図7C）。各孔の内部は後方に細くなる管状構造をとつて後続の孔の表面に向けて伸びる。出水孔は体表面を走る横溝内に並び、橢円形の辺縁に多数の微細な線維が発達した構造として認められる。出水孔の近くでは体表面のクチクラ膜が背側と腹側から出水孔を保護するようにならう。また、これまで得られたどの化石からも、節足動物の特徴である付属肢と明瞭な頭部の存在を示唆する証拠は見つかっていない。さらに、体の縁や鰓システムの領域には表面を覆う膜の存在が認められることから、脱皮による成長をしていなかつたと考えられる。これらの特徴から、Shuらは *Vetulicola* 属が節足動物ではなく新口動物の1群であると考えるに至った。

*Xidazoon stephanus* は、当初、石炭紀の無頸類に近縁な *Pipiscus zangerli* (Bardack and Richardson, 1977) に類似する動物として記載された (Shu et al., 1999)。ところが、その後発見された *D. haoae* と *X. stephanus* との類似性が明らかにされ、なおかつ、*X. stephanus* と *Vetulicola* 属を両極として、*D. haoae* と *P. ventralis* を介した形質勾配が認められることがわかった。*X. stephanus* ではクチクラ化が弱く、前部の分節構造は前方の第1分節だけが認められるのに対して、それ以外の属では全体の分節が明瞭になり、クチクラも *Vetulicola* 属で最もよく発達する。また、*X. stephanus* と *D. haoae* の鰓システムは線毛構造が認められない単純なものであるが、*Vetulicola* 属ではその構造が複雑である。

以上のことから、これらすべての動物群を含めた新門 *Vetulicolia* が提唱された (Shu et al., 2001a)。この新門に対する研究者もいる (Lacalli, 2002)。ところが、最近、口や肛門が開口する位置とそれらの構造において、明らかに棘皮動物の特徴を示し、vetulicola類の2領域性を併せ持つ化石が発見された (Shu et al., 2004)。これにより、Shu et al. (2001a) が指摘したように vetulicola類が新口動物の基幹に位置し、この動物群から、少なくとも棘皮動物と後述の yunnanozoon 類の変化を経て半索動物に分化した可能性が指摘される。この見解は、rRNA やミトコンドリアにもとづいた分子系統と一致して、極めて興味深い。また、現生の棘皮動物を除くすべての新口動物に認められる鰓システムが、新口動物が分化する早い時期にさまざまに多様化していたことが明らかになった。したがって、鰓システムに関連した脊索動物内の相同性の議論は、十分に注意しなくてはならない。

### 尾索動物

澄江化石動物群からはホヤ綱とされる化石、*Cheungkongella ancestralis* が報告されている (Shu et al., 2001b)。全長が約25 mmで外観は現生のシロボヤ類に似る。体表面は被囊と考えられる分泌物の痕跡で覆われ、上方の主要部分と、下方の太い付着柄に分かれ。主要部は球状に近く、上端から大きな入水孔が伸び、付着柄との境界あたりからは小さな出水孔が突出する（図7E）。入水孔の上縁からは短い触手が伸び、咽頭の入り口にも現生ホヤ類のように触手が発達する。消化管は主要部のみに位置し、咽頭が約2/3を占め、その下方に胃と考えられる部分が位置する。付着柄はカンブリア紀前期の指標三葉虫である *Eoredlichia intermedia* の脱皮殻に付着する。

一方、オタマボヤの仲間が、中国南西部に広範囲に広がるカンブリア紀前期の黒色頁岩より多数産出する (Zhang, 1987)。この化石の同定については疑問視される場合もあるが、以下のように大変興味深い特徴が述べられている。

動物の体長は約1 mmで、胴部と尾部の外形やプロポーションは現生のオタマボヤ類に似ている。体には口部や生殖腺と考えられる構造、脊索が判別できるとされる。化石は現生種と同様に、動物体の4-5倍の大きさに達するハウス (house) と呼ばれる分泌性の殻とともに産出し、また、破棄されたハウスも多数存在する。ハウスを多く含む堆積物には、バナジウムを含んだ可溶性の暗緑色の有機物も多く含まれる (Zhang, 1987)。現生のホヤ類にはバナジウムを濃縮する複数の種が知られており (Michibata et al., 2002)，堆積物中のバナジウムがオタマボヤに由来することが考えられた。また、内部がきれいに保存されているハウスに詰まった堆積物の中心部は黄鉄鉱で満たされており、現生ホヤ類のバナジウム濃縮細胞が多量の硫酸塩を含むことから (Frank et al., 1994)，生存中に硫酸と鉄が含まれていたと考えられている (Zhang, 1987)。本化石を産出する黒色頁

岩が澄江地域に分布する黒色頁岩に対応するのであれば、オタマボヤ化石は澄江動物相よりも古くなる。しかも、化石を産出する層は還元的な環境であると考えられ、さまざまな金属や藻類に由来すると考えられる有機物を多量に堆積する、特異な環境に生存していた可能性がある。

### ？頭索動物

頭索動物様の化石は、玉案山部層から1個体の*Cathaymyrus diadexus*が知られる(Shu et al., 1996a)。また、同種と考えられる個体が*Zhongxiniscus intermedius*として、やはり同じ部層から産出している(Luo et al., 2001)。*C. diadexus*は全長がほぼ22 mmで、前端と考えられる方に約5 mmほど他より広がった部分がある(図7D)。そこには細かい線条構造が横方向に走ることから、それが鰓裂と解釈されている。咽頭より後方には尾端まで分節構造が認められる。また、正中を細い稜状の構造がやはり尾端まで伸びる。前者は筋節、後者は脊索と考えられている。この動物とよく似た化石として、カナダのバージェス頁岩から100個体以上が産出した有名な*Pikaia gracilens*がある。両者で共通するのは、脊索と考えられている正中の構造物が現生のナメクジウオ類のように吻端まで伸びずに、やや後方から伸びることである(Conway Morris, 1982)。

残念ながら、これらの動物で見られる分類学上の形態的特徴は不明瞭である。*C. diadexus*の原記載では頭索動物(薄心)綱に分類されているが(Shu et al., 1996a)，それは、著者らがピカイアに似ていると判断したためである。しかし、ピカイアは多数の標本が発見されているにもかかわらず、その原記載はまだ完成しておらず、必ずしも頭索動物とは判断し得ない。*C. diadexus*の正中をつらぬく構造は脊索と考えられているが、現生の脊索動物にみられる脊索は、哺乳類や鳥類の胚を除き、体に対して相対的に大きな構造である。特に、ナメクジウオ類やホヤ類では大きな領域を占める。その点、*C. diadexus*の正中の構造を脊索とする根拠は弱い。

現生の頭索動物は他の脊索動物にくらべて形態的特徴に乏しいので、化石から決定的な形質を見つけるのは極めて難しいと考えられる。他の脊索動物と違って、現段階ではカンブリア紀に頭索動物が存在していたとする明瞭な証拠はないが、脊椎動物と尾索動物が発見されていることから、頭索動物も存在した可能性は大きい。

### *Yunnanozoon* (雲南虫) 類

雲南虫類は、カンブリア紀中期よりも古い地層から初めて見つかった脊索動物様化石として注目された動物である(Chen et al., 1995)。しかし、その後すぐに新しい化石が多数発見されるに及んで、その帰属については新口動物であるという同意以上にははっきりしたことは分かっていない(Mallatt et al., 2003; Shu and Conway Morris, 2003)。現在までに*Yunnanozoon lividum*, *Haikouella lanceolata*, *H. jianshanensis*の2属3種が知られる。

*Yunnanozoon lividum*については、帽天山から発見された標本をもとに、Chen et al. (1995) が脊索動物の特徴を記載した。それによると、全長は25-40 mmで、前方には咽頭を挟んで背腹に分かれた領域と、それらを繋ぐ7対の鰓弓が前後に並ぶ吻・咽頭領域を持ち、その後方に明瞭な分節性を示す背側と内臓性の腹側が続く。背側の分節構造は脊索と考えられた構造の背側から始まり、吻・咽頭領域を除く背側全体を占めて尾端まで続く。この分節構造は筋節と解釈された。各鰓弓骨格は弹性があると考えられ、20個ほどの円板が間隔をおいて並ぶ構造を示す。咽頭の腹側には、内柱と考えられる前後に伸びる2本の平行な線が認められる。脊索様構造については、現生の脊索動物にくらべてその位置が腹側に寄るが、1) 咽頭よりも背側にある、2) 軸方向の圧縮が起こらないように見える、3) 線維性の鞘に覆われる、4) 常に保存されている(実際に標本を観察すると確認できない個体が多い)、という特徴から、彼らはその構造が脊索であると考えた。

ところが、Shu et al. (1996b) がわずかに遅れて、帽天山から北に3 km離れた馬鞍山(Ma'anshan)から前端の保存が良好な化石を多数発見したことから、Chenらの解釈に疑問が生じた。Shuらの重要な発見は、この動物が吻・襟・胴の3領域からなり、現生の半索動物に似ていることを示した点にある(図7F)。さらに、鰓については、Chenらが鰓弓と解釈した構造が鰓孔とともに保存されていることから、鰓弓ではなく、腸鰓類に見られる鰓管構造であること、脊索と同定された部分が消化管であること、そして、背側の筋節と考えられた分節構造は、硬質な鰓状の構造であると解釈した。結果として、*Y. lividum*は脊索動物ではなく、半索動物に分類されるべき動物であるという主張がなされた(Shu et al., 1996b)。

その後、澄江から北西に35 kmほど離れた海口(Haikou)の玉案山部層黄緑色頁岩下部(*Y. lividum*の産出点よりも古い)から、外見が*Y. lividum*に似た化石が多数発見された。それらの化石は脊椎動物の特徴を持つとされ、*Y. lividum*以上に脊索動物に分類される基準が明瞭であると主張された(Chen et al., 1999)。化石は新属新種とされ、*Haikouella lanceolata*と命名された。体長はほとんどが25-30 mmで、希に40 mm近い個体が出現する。Chen et al. (1999) の解釈によると、吻・咽頭領域には*Y. lividum*よりもよく発達した6対の鰓弓が認められ、それぞれの鰓弓には、後方に向かって背腹方向に扁平な1 mmほどの突起が発達する。各鰓弓の腹側端には鰓弓心臓と考えられる印象が残るとともに、それらをつなぐ腹側動脈と考えられる線の後方には心臓様の構造が認められる。咽頭領域は現生のナメクジウオ類のように囲鰓腔が発達して、鰓弓は囲鰓腔を取りまく膜で保護されていたと解釈されている。吻端はやや膨らんだ縁取りで終わり、その腹側に突起をともなう口が開口する。また、吻端よりやや後方背側には、3領域が認められる脳と考えられる印象が残り、口腔のすぐ背側には眼と考えられる構造が残されている。体の後方では、*Y. lividum*と同様

られる構造を認める。先端には正中に1個の鼻孔が開口すると考えられた。葉状突起の基部はややくびれて、口と咽頭がある頭部に繋がる。鰓弓骨格は、ホロタイプで解釈されたヤツメウナギ類のようなカゴ型の骨格ではなく、頸口類のようなより単純な骨格系であると考えられた。もう1つの重要な発見は、明瞭な脊索とそこに散在的に配列する脊椎様の構造である。個々の脊椎様構造の形態は一定しないが、脊索の背側縁から腹側縁まで占める場合が多い(図8E)。*M. fenjiaoa*と*H. ercaicunensis*については、これら2種が脊椎動物の特徴を十分備えているという考えに対して異論は出されていない。

ここで紹介した新口動物だけを見ても、カンブリア紀前期までに新口動物のボディプランはほぼ完成しており、多様化も進んでいたことが推測される。その中で、脊椎動物が間違いなくカンブリア紀前期までに出現していたことを明らかにした意義は極めて大きい。

中国のカンブリア紀前期の化石包含層は広大であることから、今後どのような動物が発見されるか予断を許さない。新しい発見によって、我々は大きな影響を受けそうであるが、それだけに、個々の化石は可能な限りの解析方法での同定を確実なものにしなくてはならない。特に初期の動物については、すでに明らかにされている化石でも示されているように、現生動物の形態学的知識には収まりきらない特徴が出現することから、その解釈には細心の注意が必要である。

### 初期脊索動物史の解明

脊索動物がどのような系統関係のもとでいつ頃出現したか、という問いは、系統学はもとより、古生物学や発生学の中心課題の1つである。現在はそれぞれの分野で研究が進み、上で述べたようにかなり具体的な討論ができるようになった。しかし、研究が進んだ分だけ、以前にも増して、それぞれの分野で解明できること、できないことが意識されるようになってきたと感じる。もちろん、この先、予期せぬブレークスルーがあって、ある分野の研究が急速に前進する可能性も否定できない。しかし、歴史的視点を要する研究では、それぞれの分野の特性や限界を十分意識して、常に他の分野との整合性を検討することが重要である。

生物の歴史を意識しながら現生生物を材料にしている研究者にとって、古生物学者による化石の形質解析やそれにもとづいた同定は極めて大きな影響を持つ。したがって、もし同定に不安があれば結局は無視するか避けることになり、相互の学術交流は進まなくなる。しかし、現生生物学には相対的な近縁関係を推定する手段はあっても、古生物学や地球科学からの情報がなければ、現生の生物から得られる知識を具体的な地球の歴史との関連でとらえることができない。歴史上起こったと考えられる生物個体と外部環境との相互作用の理解が、これまであまり省みられなかつた極めて重要なテーマである。

澄江とその周辺からこれまでに明らかにされた化石動物群は、その保存状態と数の多さで、細部の問題は別にして、大方は妥当な解釈がなされていると考えられる。そうすると、新口動物のすべての門は、カンブリア紀前期までに現生の動物と比較しうる形態を発達させていたことになる。それよりも古い化石群は先カンブリア時代のベンディア紀から報告されているエディアカラ動物相になるが、正体がはつきりしない棘皮動物様化石を除いて新口動物と考えられる動物は発見されていない。また、原生代の終わり、7.7-5.5億年前頃には全球凍結仮説(Kirschvink, 1992; Hoffman et al., 1998)でいわれるよう、生命活動にとって極めて過酷と考えられる環境が数回繰り返された可能性があり、澄江の地層にもリン酸塩岩やさまざまな金属を多量に含む黒色頁岩層が認められることから、特異な堆積環境が予想される。このような知見から、今後は澄江で見られる動物の多様化がどれだけの期間で達成されたのかを明らかにすることが最大のポイントになる。さらに、その期間の古環境を解析することによって、生物と外部環境との相互作用を具体的に明らかにすることも大きな課題である。化石の裏付けを伴う地層の古環境解析が進めば、それは発生学その他の実験生物学に重要な指針を与えることが期待される(Steiner et al., 2001)。

発生学の研究からは、形態形成に関わる個々の遺伝子やシグナル伝達系は、それが働く器官の相同性を保証する道具になりにくいことが明らかになった。また、形態学的・組織学的によく似た構造は、ここで触れた脊索や神経索のように、使われる遺伝子群は似ているものの、これらの遺伝子が働くまでの過程に動物群によって大きな変異があることも明らかになってきている。形態形成の安定性を保証するためには、どの遺伝子が使われるかだけでなく、それらの遺伝子が適切な場所とタイミングで発現できることが不可欠であるが、分子の側から見れば、たまたま組み合わされた分子集合が似ていることによって、そこから似たような器官が形成されたと考えられないこともない。脊索をつくるまでの多様性が共通祖先からの多様化の結果であるのか否かは、今のところ発生学的には結論が出せない。形態形成に重要な遺伝子群がベンディア紀からも発見される刺胞動物に十分揃っていることを考えると(Broun et al., 1999; Gauchat et al., 2000; Ferrier and Holland, 2001; Chen et al., 2002), ホモプラシーは比較的頻繁に出現するのかもしれない。したがって、器官の相同性を分子レベルで明らかにするためには、器官形成を始動する分子動態が、ある動物に見られる状態から他の動物に見られる状態にどのように移行するかを明らかにする必要がある。しかし、これは極めて難しい課題である。

前述したように、澄江化石動物群が分化した期間は今後解決しなくてはならない重要な問題であるが、原生代終わりの地球環境を考えると、かなり短い期間に脊索を持つ動物の分岐が起こった可能性もある。もしそうであれば、分子系統解析が必ずしも形態学的推定に対応しなかつたり、

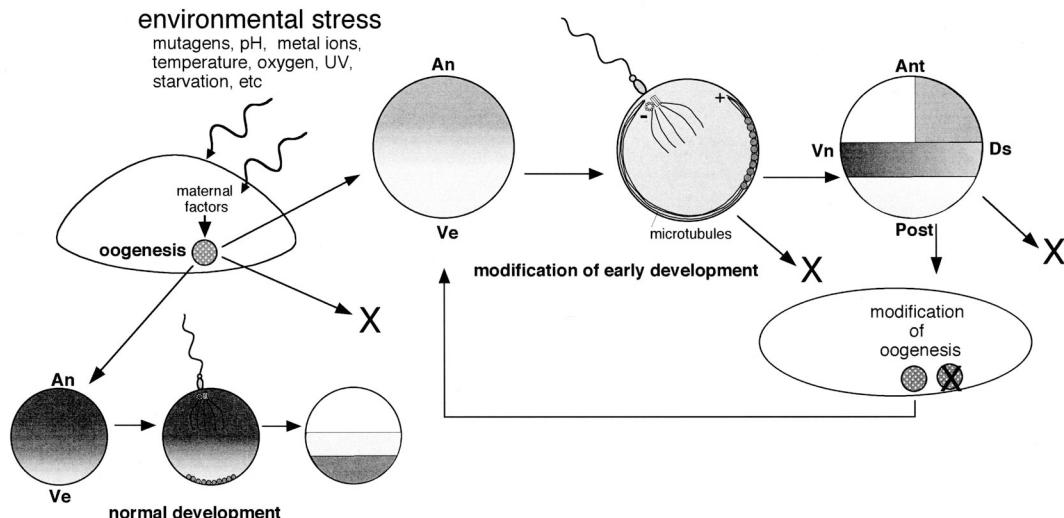


図9. 卵形成と初期発生に影響する環境ストレス. 環境ストレスによりほとんどの場合は卵形成異常か発生異常にによって死滅する(X)が、初期胚は発生の全能性を持つので、体制が大きく変わっても発生が進行する可能性がある。もし、発生した個体が親とは違った配偶子形成をすると、その配偶子は個体発生に大きな影響を及ぼす可能性がある。ボディプランの確立には初期発生が重要であることを考えれば、初期発生と環境要因との総合的な研究が望まれる。An, 動物極; Ant, 前方; Ds, 背側; Post, 後方; Ve, 植物極; Vn, 腹側。

結果が安定しないのは、塩基置換の飽和や各動物群に固有なDNAの動態、DNAの修復能力や外圧に対する抵抗性の差の結果とも考えられるが、脊索を持つ動物の系統をそのまま反映した結果である可能性もある。また、発生学的には脊索や神経系をかたちづくる初期の分子動態がその期間に完成されたことになり、新口動物の多様化の期間が短ければ短いほど、突然変異の蓄積だけを変異の生成原因と考え（特異な外部環境の影響により、短い期間に急速に突然変異が蓄積された場合は別として）、生物個体内だけのメカニズムで脊索動物の初期発生の多様性を説明することが難しくなる。なぜなら、脊索動物のボディプランは、初期の分化に続く5億年以上の長い間ずっと安定しているからである。生物個体と外部環境との相互作用を明らかにしなければならない理由がそこにある。

生物の初期発生では、各分子が働く領域の成立が安定していることが重要であることは先に述べた。分子が働く場としての細胞内環境に影響する要因として、卵形成時の遺伝子発現も含めた母体環境に影響する外部環境の変化と、それによる配偶子形成の変更、胚の遺伝子発現を調節する母性因子の突然変異や動態の変更、放出された卵を取りまく外部環境の変化が考えられる。もし、卵内環境が変われば、同じゲノムのもとでも分子動態は大きく変化し、正常に発生することができず死滅することになる。しかし、母性因子の突然変異などで修正を受けた卵環境でも、初期胚は発生の全能性を持ち、外部刺激に対して強い抵抗性を持つことから、たまたま本来とは異なる発生をして、親とは違った配偶子形成まで進む可能性も、発生学的には完全に否定することはできない。外部環境はその環境に住む個体群に影響するので、同じ修正を受ける個体が多数出現する可能性がある。修正を受けた個体群が、何らかのかたち

で次世代に繋がればその個体群は維持されることになる（図9）。我々はゲノムに生ずる変異の結果のプロセスだけではなく、生物個体にその変異を起こす要因を探る必要がある。

DNAをベースにした遺伝子発現メカニズムの解明は一般的に行われているが、配偶子形成の変異や初期胚の細胞内環境、その動態の解析はそれほど進んでいない。また、その細胞内環境に対する外部環境の影響を、地球史的視点から追求した研究はほとんど皆無である。澄江動物群以前の特異な地球環境を意識すれば、この種の研究は重要である。古生物学や地球科学の分野と生物学分野が、これまで以上に接近して研究を進めることができると期待される。

## 謝辞

香川大学の仲谷英夫教授と京都大学の國松豊博士には、本稿を古生物学や地質学の皆様に読んでいただけるきっかけをつくっていただいた。査読者である筑波大学の遠藤一佳博士と国立科学博物館の小池敏夫博士には、大変ご丁寧な査読とともに貴重なご意見を多数頂いた。また、西北大学のHan Jian博士からは化石の写真や資料を送っていただき、Yale大学の鳥居和枝博士にはさまざまな場で、実りある討論をさせていただいた。ここに心より感謝いたします。

## 文献

- Agius, E., Oelgeschläger, M., Wessely, O., Kemp, C. and De Robertis, E.M., 2000. Endodermal Nodal-related signals and mesoderm induction in *Xenopus*. *Development*, **127**, 1173-1183.
- Aldridge, R. J. and Theron, J. N., 1993. Conodonts with preserved soft tissue from a new Upper Ordovician Konservat-Lagerstätte. *Journal of Micropalaeontology*, **12**, 113-117.

- Bardack, D. and Richardson, E. S., 1977. New agnathous fishes from the Pennsylvanian of Illinois. *Fieldiana. Geology*, **33**, 489-510.
- Boore, J. L. and Brown, W. M., 1998. Big trees from little genomes: mitochondrial gene order as a phylogenetic tool. *Current Opinion in Genetics & Development*, **8**, 668-674.
- Broun, M., Sokol, S. and Bode, H. R., 1999. *Cngsc*, a homologue of goosecoid, participates in the patterning of the head, and is expressed in the organizer region of *Hydra*. *Development*, **126**, 5245-5254.
- Cameron, C.B., Garey, J. R. and Swalla, B. J., 2000. Evolution of the chordate body plan: New insights from phylogenetic analyses of deuterostome phyla. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**, 4469-4474.
- Castresana, J., Feldmaier-Fuchs, G., Yokobori, S., Satoh, N. and Pääbo, S., 1998. The mitochondrial genome of the hemichordate *Balanoglossus carnosus* and the evolution of deuterostome mitochondria. *Genetics*, **150**, 1115-1123.
- Chen, A., Feng, H., Zhu, M., Ma, D. and Li, M., 2003. A new vetulicolian from the Early Cambrian Chengjiang fauna in Yunnan of China. *Acta Geologica Sinica*, **77**, 281-287.
- Chen, L., Dzik, J., Edgecomb, G. D., Ramsköld, L. and Zhou, G. Q., 1995. A possible Early Cambrian chordate. *Nature*, **377**, 720-722.
- Chen, L. and Chang, X., 2002. Isotopic age determination. In Chen, L., Luo, H., Hu, S., Yin, J., Jiang, Z., Li, F. and Chen, A., ed., *Early Cambrian Chengjiang Fauna in Eastern Yunnan China*, 88-97. Yunnan Science and Technology Press, Kunming. (in Chinese)
- Chen, J. Y., Huang, D. Y. and Li, C. W., 1999. An early Cambrian craniate-like chordate. *Nature*, **402**, 518-522.
- Chen, J.Y., Oloveri, P., Gao, F., Dornbos, S.Q., Li, C.W., Bottjer, D.J. and Davidson, E. H., 2002. Precambrian animal life: probable developmental and adult cnidarian forms from southwest China. *Developmental Biology*, **248**, 182-196.
- Conway Morris, S., 1982. *Atlas of the Burgess Shale* 26. 31p., Palaeontological Association, London.
- Darras, S. and Nishida, H., 2001a. The BMP signaling pathway is required together with the FGF pathway for notochord induction in the ascidian embryo. *Development*, **128**, 2629-2638.
- Darras, S. and Nishida, H., 2001b. The BMP/CHORDIN antagonism controls sensory pigment cell specification and differentiation in the ascidian embryo. *Developmental Biology*, **236**, 271-288.
- De Robertis, E. M., Larain, J., Oelgeschläger, M. and Wessely, O., 2000. The establishment of Spemann's organizer and patterning of the vertebrate embryo. *Nature Reviews Genetics*, **1**, 171-181.
- Ferrier, D. E. and Holland, P. W., 2001. Ancient origin of the Hox gene cluster. *Nature Reviews Genetics*, **2**, 33-38.
- Field, K. G., Olsen, G. J., Lane, D. J., Giovannoni, S. J., Ghiselin, M. T., Raff, E. C., Pace, N. R. and Raff, R. A., 1988. Molecular phylogeny of the animal kingdom. *Science*, **239**, 748-753.
- Frank, P., Hedmann, B., Carlson, R. M. K. and Hodgson, K. O., 1994. Interaction of vanadium and sulfate in blood cells from the tunicate *Ascidia ceratodes*: Observations using X-ray absorption edge structure and EPR spectroscopies. *Inorganic Chemistry*, **33**, 3794-3803.
- Gabbott, S. E., Aldridge, R. J. and Theron, J. N., 1995. A giant conodont with preserved muscle tissue from the Upper Ordovician of South Africa. *Nature*, **374**, 800-803.
- Gauchat, D., Mazet, F., Berney, C., Schummer, M., Kreger, S., Pawlowski, J., Galliot, B., 2000. Evolution of Antp-class genes and differential expression of *Hydra* Hox/paraHox genes in anterior patterning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**, 4493-4498.
- Hashimoto-Partyka, M. K., Yuge, M. and Cho, K. W., 2003. Nodal signaling in *Xenopus gastrulae* is cell-autonomous and patterned by  $\beta$ -Catenin. *Developmental Biology*, **253**, 125-138.
- Hoffman, P. F., Kaufman, A. J., Halverson, G. P. and Schrag, D. P., 1998. A Neoproterozoic snowball Earth. *Science*, **281**, 1342-1346.
- Holland, N. D. and Chen, J., 2001. Origin and early evolution of the vertebrates: new insights from advances in molecular biology, anatomy, and palaeontology. *Bioessay*, **23**, 142-151.
- Holland, L. Z. and Holland, N. D., 1992. Early development in the lancelet (= amphioxus) *Branchiostoma floridae* from sperm entry through pronuclear fusion: Presence of vegetal pole plasm and lack of conspicuous ooplasmic segregation. *Biology Bulletin*, **182**, 77-96.
- Hori, H. and Osawa, S., 1987. Origin and evolution of organisms as deduced from 5S ribosomal RNA sequences. *Molecular Biology and Evolution*, **4**, 445-472.
- 侯先光, 1987. 雲南澄江早寒武世大型双瓣壳節肢動物. 古生物学報, **26**, 272-285.
- Hou, X. G., Bergström, J., Wang, H., W., Feng, X. and Chen, A., 1999. *The Chengjiang Fauna: exceptionally well-preserved animals from 530 million years ago*. 170p., Yunnan Science and Technology Press. Yunnan. (in Chinese with English summary)
- Imai, K. S., Satoh, N. and Satou, Y., 2002. Early embryonic expression of *FGF4/6/9* gene and its role in the induction of mesenchyme and notochord in *Ciona savignyi* embryos. *Development*, **129**, 1729-1738.
- Imai, K., Takada, N., Satoh, N. and Satou, Y., 2000.  $\beta$ -Catenin mediates the specification of endoderm cells in ascidian embryos. *Development*, **127**, 3009-20.
- Jeffery, W. R. and Swalla, B. J., 1990. The myoplasm of ascidian eggs: a localized cytoskeletal domain with multiple roles in embryonic development. *Seminars in Cell Biology*, **1**, 373-381.
- Jiang, Z., 2002. Community and paleoecology analysis of the Chengjiang fauna. In Chen, L., Luo, H., Hu, S., Yin, J., Jiang, Z., Wu, Z., Li, F. and Chen, A. ed., *Early Cambrian Chengjiang Fauna in Eastern Yunnan China Yunnan*, 47-87. Science and Technology Press, Kunming. (in Chinese),
- Kirschvink, J. L., 1992. Late Proterozoic low-latitude global glaciation: the Snowball Earth. In Schoff, J. W. and Klein, C., ed., *The Proterozoic Biosphere*, 51-52. Cambridge Univ. Press, New York.
- Kowalevsky, A. O., 1866. Entwicklungsgeschichte der einfachen Ascidian. *Mémoires de L'Académie Impériale des Sciences. St. Pétersbourg*, 7 série, **10**, 1-10.
- Kowalevsky, A. O., 1867. Entwicklungsgeschichte des Amphioxus. *Mémoires de L'Académie Impériale des Sciences. St. Pétersbourg*, 7 série, **4**, 1-17.
- Lacalli, T., 2002. Vetulicolians --- are they deuterostomes? Chordates? *Bioessays*, **24**, 208-211.
- Lake, J. A., 1990. Origin of the Metazoa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **87**, 763-766.
- Lake, J. A., 1994. Reconstructing evolutionary trees from DNA and protein sequences: paralinear distances. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **91**, 1455-1459.
- Larabell, C. A., Torres, M., Rowning, B. A., Yost, C., Miller, J. R., Wu, M., Kimelman, D. and Moon, R. T., 1997. Establishment of the dorso-ventral axis in *Xenopus* embryos is presaged by early asymmetries in  $\beta$ -catenin that are modulated by the Wnt signaling pathway. *Journal of Cell Biology*, **136**, 1123-1136.
- Lockhart, P. J., Steel, M. A., Hendy, M. D. and Penny, D., 1994. Recovering evolutionary trees under a more realistic model of sequence evolution. *Molecular Biology and Evolution*, **11**, 605-612.
- Luo, H. L., Hu, S. X. and Chen, L. Z., 1999. *Early Cambrian Chengjiang Fauna in Kunming Region, China*. 129p., Yunnan Science and Technology Press, Yunnan. (in Chinese with English summary)
- Luo, H. L., Hu, S. X. and Chen, L. Z., 2001. New Early Cambrian chordates from Haikou, Kunming. *Acta Geologica Sinica*, **75**, 345-348.
- Mallatt, J., Chen, J. and Holland, N. D., 2003. Comment on "A new species of yunnanozoan with implications for deuterostome evolution." *Science*, **300**, 1372c.
- Marcellini, S., Technau, U., Smith, J. C. and Lemaire, P., 2003. Evolution of Brachury proteins: identification of a novel regulatory domain conserved within Bilateria. *Developmental Biology*, **260**, 352-361.
- Michibata, H., Uyama, T., Ueki, T. and Kanamori, K., 2002. Vanadocytes, cells hold the key to resolving the highly selective accumulation and reduction of vanadium in ascidians. *Microscopy Research and Technique*, **56**, 421-34.
- Minokawa, T., Yagi, K., Makabe, K. W. and Nishida, H., 2001. Binary

- specification of nerve cord and notochord cell fates in ascidian embryos. *Development*, **128**, 2007-2017.
- Miya, T., Morita, K., Suzuki, A., Ueno, N. and Satoh, N., 1997. Functional analysis of an ascidian homologue of vertebrate *Bmp-2/Bmp-4* suggests its role in the inhibition of neural fate specification. *Development*, **124**, 5149-5159.
- Moon, R. T., Bowerman, B., Boutros, M. and Perrimon, N., 2002. The promise and perils of Wnt signaling through  $\beta$ -Catenin. *Science*, **296**, 1644-1646.
- Naylor, G. J. P. and Brown, W. M., 1998. Amphioxus mitochondrial DNA, chordate phylogeny, and the limits of inference based on comparisons of sequences. *Systematic Biology*, **47**, 61-76.
- Poss, S. G. and Boschung, H. T., 1996. Lancelets (Cephalochordata: Branchiostomatidae): How many species are valid? *Israel Journal of Zoology*, **42**, S13-S66.
- Roegiers, F., Djediat, C., Dumollard, R., Rouvière, C. and Sardet, C., 1999. Phases of cytoplasmic and cortical reorganizations of the ascidian zygote between fertilization and first division. *Development*, **126**, 3101-3117.
- Satoh, N., 1993. *Developmental Biology of Ascidians*. 234p., Cambridge University Press, Cambridge, New York, Melbourne.
- Shu, D. and Conway Morris, S., 2003. Response to comment on "A new species of yunnanozoan with implications for deuterostome evolution." *Science*, **300**, 1372d.
- Shu, D. G., Chen, L., Han, J. and Zhang, X. L., 2001b. An Early Cambrian tunicate from China. *Nature*, **411**, 472-473.
- Shu, D. G., Conway Morris, S., Han, J., Chen, L., Zhang, X.L., Liu, H. Q., Li, Y. and Liu, J.N., 2001a. Primitive deuterostomes from the Chengjiang Lagerstätte (Lower Cambrian, China). *Nature*, **414**, 419-424.
- Shu, D. G., Conway Morris, S. and Zhang, X. L., 1996a. A Pikaia-like chordate from the Lower Cambrian of China. *Nature*, **384**, 157-158.
- Shu, D. G., Conway Morris, S., Han, J., Zhang, Z. F. and Liu, J. N., 2004. Ancestral echinoderms from the Chengjiang deposits of China. *Nature*, **430**, 422-428.
- Shu, D. G., Conway Morris, S., Han, J., Zhang, Z. F., Yasui, K., Janvier, P., Chen, L., Zhang, X. L., Liu, J. N., Li, Y. and Liu, H.Q., 2003b. Head and backbone of the Early Cambrian vertebrate *Haikouichthys*. *Nature*, **421**, 526-529.
- Shu, D. G., Conway Morris, S., Zhang, X. L., Chen, L., Li, Y. and Han, J., 1999. A pipiscid-like fossil from the Lower Cambrian of south China. *Nature*, **400**, 746-749.
- Shu, D. G., Conway Morris, S., Zhang, Z. F., Liu, J. N., Han, J., Chen, L., Zhang, X. L., Yasui, K. and Li, Y., 2003a. A new species of yunnanozoan with implications for deuterostome evolution. *Science*, **299**, 1380-1384.
- Shu, D. G., Luo, H. L., Conway Morris, S., Zhang, X. L., Hu, S. X., Chen, L., Han, J., Zhu, M., Li, Y. and Chen, L. Z., 1999b. Lower Cambrian vertebrates from south China. *Nature*, **402**, 42-46.
- Shu, D. G., Zhang, X. and Chen, L., 1996b. Reinterpretation of *Yunnanozoon* as the earliest known hemichordate. *Nature*, **380**, 428-438.
- Steiner, M., Wallis, E., Erdtmann, B.-D., Zhao, Y. and Yang, R., 2001. Submarine-hydrothermal exhalative ore layers in black shales from South China and associated fossils - insights into a Lower Cambrian facies and bio-evolution. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **169**, 165-191.
- Techau, U. and Bode, H. R., 1999. *HyBraI*, a Brachyury homologue, acts during head formation in *Hydra*. *Development*, **126**, 999-1010.
- Turbeville, J. M., Schulz, J. R. and Raff, R. A., 1994. Deuterostome phylogeny and the sister group of the chordates: Evidence from molecular and morphology. *Molecular Biology and Evolution*, **11**, 648-655.
- Wada, H. and Satoh, N., 1994. Details of the evolutionary history from invertebrates to vertebrates, as deduced from the sequences of 18S rDNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **91**, 1801-1804.
- Winchell, C. J., Sullivan, J., Cameron, C. B., Swalla, B. J. and Mallatt, J., 2002. Evaluating hypotheses of deuterostome phylogeny and chordate evolution with new LSU and SSU ribosomal DNA data. *Molecular Biology and Evolution*, **19**, 762-776.
- Yasui, K., Li, G., Wang, Y., Saiga, H., Zhang, P. J. and Aizawa, S., 2002.  $\beta$ -Catenin in early development of the lancelet embryo indicates specific determination of embryonic polarity. *Development, Growth & Differentiation*, **44**, 467-475.
- Yasuo, H. and Satoh, N., 1993. Function of vertebrate *T* gene. *Nature*, **364**, 582-583.
- Zhang, A., 1987. Fossil appendicularians in the early Cambrian. *Scientia Sinica, series B*, **30**, 888-896.

(2003年11月27日受付，2004年2月25日受理)

