

脊椎動物の肺の獲得プロセスに関する進化発生学的研究

●岡部 正隆

東京慈恵会医科大学解剖学講座

<研究の目的と進め方>

水棲脊椎動物から陸棲の四肢動物への進化は約3億8千万年前のデボン紀後期に生じた。この時代の初期四肢動物の化石記録は極めて少ないため、四肢動物が如何に進化したかを知る上で、進化発生学的解析による成果が期待される。

本研究課題では、脊椎動物の上陸の必要条件の一つである肺の獲得機構に注目する。脊椎動物の肺がどのように成立したかを知る目的で、肺もウキブクロも持たない軟骨魚類（トラザメ）、四肢動物に系統発生的に近縁であり肺を有する最も原始的な脊椎動物である肉鱗類の肺魚（オーストラリアハイギョ）、原始的な条鰭類で四肢動物の肺によく似た肺を持つポリプテルス、肺を持たずウキブクロを持つ条鰭類（ゼブラフィッシュ、メダカ）、最も原始的な四肢動物としての両生類（ツメガエル）、それぞれの動物胚において、これまで哺乳類（マウス）と鳥類（ニワトリ）の研究で明らかとなっている肺芽形成遺伝子カスケードの各素子（遺伝子）がどのような発現パターンを示し、相互にどのようなかかわり合いを持つかを明らかにする。その上で肺という器官がどのように獲得されたかを考察する。具体的には、各動物の相同遺伝子をクローニング後、これらの発現パターンを解析し、鍵となる遺伝子に関しては発現制御機構の解析を行なう。発現制御機構の解析は、各遺伝子の発現制御領域をレポーター遺伝子と融合させたベクターを作成し、四肢動物胚および肺を持たない条鰭類胚に導入、胚内にてどのような発現パターンを示すかを解析し比較する。また必要に応じてアンチセンスモルフォリノを用いて鍵遺伝子の機能低下を引き起こし肺芽形成への影響を観察する。実験で用いる動物のうち、ゲノム研究に適したサイズのゲノムを持つことが予想されるポリプテルスに関しては、本研究計画の中で、ゲノム研究の基盤となるリソースを整えたい。これらの実験を通じて、系統発生に沿って、肺芽発生に関わる遺伝子カスケードの質的変化とゲノム構造もしくは遺伝子発現制御領域の変化、肺芽獲得の関係を解析する。

<研究開始時の研究計画>

研究代表者は2005年2月に現所属機関に着任し、新規研究室を立ち上げるため、まず研究環境の整備から始める。必要な実験設備の獲得、実験動物胚を安定して確保できる動物飼育設備の整備を行う。実験動物を繁殖可能な状態になるようコンディションを整えた上で、順次下記の実験計画を進める。

・オーストラリアハイギョ胚を用いた発生学実験を行なうため、世界で唯一肺魚胚を用いた実験を行っているマクワリー大学（シドニー）のJean M.P. Joss研究室と共同研究を開始する。2005年8月末に同研究室を訪問し、実験環境の調査・共同実験準備を行なう。さらに、オーストラリアハイギョの産卵期に合わせて12月頃再び渡豪し、発現パターンの解析の一部を行なう。

・四肢動物の咽頭のパターン形成、咽頭と肺の初期発生にかかわる各遺伝子のニワトリ相同遺伝子のcDNA、ツメガエル相同遺伝子のcDNA、ゼブラフィッシュ相同遺伝子のcDNAを国内外の

研究者より提供を受ける。入手困難な場合はPCR法によって単離する。

・トラザメ胚、ポリプテルス胚、オーストラリアハイギョ胚のcDNAライブラリーを作成し、四肢動物の咽頭のパターン形成、咽頭と肺の初期発生にかかわる各遺伝子の相同遺伝子を、PCR法およびRACE法を用いて全長cDNAないしはin situ hybridizationを行うのに十分な長さのcDNAを単離する。

・ニワトリ胚、オーストラリアハイギョ胚、ポリプテルス胚、ゼブラフィッシュ胚、トラザメ胚を用いて各遺伝子の発現パターンをwhole mount in situ hybridization(WISH)法を用いて解析する。

・肺を持つニワトリとオーストラリアハイギョおよびポリプテルス、肺を持たないゼブラフィッシュおよびトラザメの各遺伝子の発現パターンを比較し、肺芽の形成と相関が観られる鍵遺伝子を検索する。

・遺伝子の発現パターンの変化が肺の獲得に関係していると推測される場合は、その鍵遺伝子のシス発現制御領域の機能を調べる必要がある。この実験を実行するための準備を行う。

<研究期間の成果>

・研究環境の整備

研究環境の整備は2005年8月にほぼ完了し、分子生物学解析、情報生物学解析、実験発生学解析（胚操作、遺伝子導入装置等）、組織学解析（顕微鏡等）用の各実験設備・施設（P1、P2レベル実験室）、水棲脊椎動物の飼育・繁殖のための設備（P1Aレベル水棲動物室）が整った（その後2009年4月に同研究機関にて異動があり、9月に研究室を移転した）。ゼブラフィッシュ、メダカおよびツメガエルに関しては、それぞれ東京大学の武田洋幸博士（生命システム情報班員）、同大学成瀬清博士（比較ゲノム班員）、同大学浅島誠博士から譲渡、飼育・繁殖法の指導を受けた。ポリプテルスはセネガルス種の野生型とアルビノを購入し飼育を開始した。産卵誘発法の検討を行い、胚を得ることに成功した。ワシントン条約によって輸入が規制されているオーストラリアハイギョの胚を用いた実験に関してはマクワリー大学（シドニー）のJean Joss博士の協力を得た。2005年8月末にJoss研究室を訪問し、オーストラリアハイギョの飼育繁殖施設・実験設備の視察、同国内における野生稀少動物保護の立場からの研究制限の状況の把握につとめ、同研究室にて胚の組織標本の観察を行なった。さらに産卵期に合わせて同年11月末に再び同研究室を訪問し、組織実験用に固定したオーストラリアハイギョ胚とRNA抽出用の同胚をオーストラリア政府の許可を得て日本に持ち帰った。

・肺芽形成の遺伝子カスケードの保存性、肺と鰾の相同性

マウス・ニワトリで明らかとなった肺芽形成遺伝子カスケード*Tbx4,5-Fgf10-Nkx2.1*がツメガエル類にも保存されているかを確かめるために、アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)の*Nkx2.1*、

Tbx4, *Tbx5* の cDNA を国内外の研究者から提供を受け、ニシツメガエル (*Xenopus tropicalis*) の *Nkx2.1*, *Tbx4*, *Tbx5*, *Fgf10* の各 cDNA を RT-PCR 法で単離し、発現パターンの解析を行った。さらに、ツメガエル胚の FGF シグナルの抑制を行うために SU5402 処理を行い、肺芽の形成抑制を確認した。その結果、ツメガエルにおいてもこの遺伝子カスケードが肺芽形成において保存されていることが明らかとなった。

オーストラリアハイギョおよびポリプテルスにおける肺芽形成を組織学的に解析したところ、どちらも四肢動物の肺芽形成にきわめて似た発生をすることが明らかとなった。咽頭後部の腹側組織において、肺芽形成領域の間葉系細胞は咽頭上皮と密着集合している像が観察され、マウス・ニワトリ胚同様に上皮間葉相互作用が生じていることが示唆された。また肺の解剖学的な記載の乏しいポリプテルス成魚における食道気管分岐部の詳細な観察を行い、咽頭の後方の腹側から気管が分岐し、分岐部はその左右に存在する括約筋によって2つの管の交通を調整していることが明らかとなった。哺乳類にみられる喉頭蓋のような気管口を覆い隠すような構造は見られなかった。オーストラリアハイギョ、ポリプテルス、ゼブラフィッシュ、トラザメにおける肺芽形成遺伝子カスケードの構成遺伝子の発現パターンを明らかにするために各遺伝子をクローニングし組織学的に解析した。その結果、オーストラリアハイギョでの発現は技術的な問題で確認できなかった。肺を持たないハナカケトラザメの *Tbx4*, *Nkx2.1* 遺伝子は、他の動物胚で肺芽を形成する時期に肺芽相当領域に明確な発現は観察されなかった。ポリプテルスは肺芽形成時に発現を確認した。肺を持たないゼブラフィッシュ胚においては、*Tbx4*, *Nkx2.1*, *Fgf10* の発現が咽頭後方の消化管組織に観察された。この発現は発生中の鰾であることが明らかになった。

ゼブラフィッシュ胚で、肺芽形成遺伝子カスケードが鰾の形成に関わっているかを明らかにする目的で、*Fgf10* のアンチセンスモルフォリーノを胚へ顕微注射したところ、鰾芽における *Nkx2.1* の発現が消失した。また *Tbx4* と *Tbx5* に対するアンチセンスモルフォリーノを同時に顕微注射することによっても、*Nkx2.1* の発現が消失することを明らかにした。さらに、*Fgf10* のアンチセンスモルフォリーノ単独注入、*Tbx4* と *Tbx5* のアンチセンスモルフォリーノの同時注入により、鰾が低形成もしくは欠失することを明らかにし、ゼブラフィッシュにおいては肺芽形成遺伝子カスケードが鰾の形成に関わっていることがあきらかとなった。このことは肺と鰾が相同器官であることを強く示唆している。

肺を持つマウスと鰾を持つゼブラフィッシュのこの遺伝子カスケードが同じ起源を有するかを確かめるために、マウスとゼブラフィッシュのゲノム情報を用いて *Nkx2.1* と *Tbx4* の cis 制御領域 (non-coding 領域) の比較を行った。*Tbx4* 遺伝子はマウス-ゼブラフィッシュ間で極めて類似しており、高度に保存されている領域が多数見つかった。これに対し、*Nkx2.1* 遺伝子近傍の non-coding region には高度に保存された配列が5箇所存在した。これらの保存された配列を外来プロモーターと GFP レポーター遺伝子に結合したベクターを構築し、これをゼブラフィッシュ胚にマイクロインジェクションすることで in vivo でエンハンサー活性を明らかにすることを試みたが、各配列単独ではレポーターの発現を確認できる程の転写活性が生じなかった。ポリプテルス胚においても同様の実験を行うために、Chris Amemiya らが作成したポリプテルスのゲノム BAC ライブラリーをスクリーニングし、*Nkx2.1* と *Tbx4* を含む BAC クローンを入手したが、他の複数の遺伝子座はこのライブラリーには含まれておらず、今後の研究のためには独自にゲノム BAC ライブラリーの作成が必要であることという認識をもった。

・最初の肺は何処から生じたのか

肺芽形成遺伝子カスケードがゼブラフィッシュにおいて鰾の形成にも関与することが明らかとなった。肺と鰾が相同器官であるかどうかを最初に議論したのはチャルズ=ダーウィン著の「種の起原」である。それ以降、肺が消化管の腹側に対をなして存在するのに対し、鰾は消化管の背中側に対をなさずに存在する点などから、肺と鰾は独立して獲得された器官であるという意見もあるが、肺と鰾が相同器官であれば、肺様の空気を含む器官は、四肢動物を含む肉鰭類と、条鰭類が分岐するよりも以前から存在していたことになり、肺の起源は少なくとも肉鰭類と条鰭類の共通祖先まで遡れる。また、原始的な条鰭類であるポリプテルスの肺が四肢動物と同じように消化管の腹側に1対存在することから、鰾の持つ消化管の背中側に1つ存在するという特徴は、条鰭類の分岐後にこの系統の中で獲得されたものであることが強く示唆される。一方で肺も鰾も持たない軟骨魚類を代表してトラザメ胚における肺芽形成遺伝子カスケードの構成遺伝子の発現パターンを調べたが、これに相当する発現は観察されなかった。軟骨魚類以降肺が獲得されたのか、それとも軟骨魚類はすでに獲得されていた肺を退化させたのか明らかではないが、肺の起源を探る上で以下のような重要な知見を得ることができた。

この研究の過程で、*Tbx4*, *Tbx5* と祖先遺伝子を共有する *Tbx2* 遺伝子が咽頭嚢に発現しており、*Fgf10* 遺伝子が肺芽誘導のみならず咽頭嚢の誘導にも関わっていることを示唆する実験結果が得られた。哺乳類の肺動脈は第6咽頭弓動脈由来であり、また肺胞の知覚神経が咽頭弓の上鰾プラコードから発生する知覚神経と同じく延髄の弧束核に投射するなどの解剖学的な状況証拠を合わせると、肺の発生機構や解剖学的な特徴は咽頭嚢のそれに極めてよく似ており、「肺を持たない祖先動物において、鰾嚢 (咽頭嚢) 形成に関与していた *Tbx2/3/4/5* 遺伝子が、遺伝子重複によって *Tbx* 遺伝子群を生じ、一部の *Tbx* 遺伝子群がその発現制御機構を変化させ、鰾嚢形成機構に由来する肺芽形成機構として *Tbx-Fgf10-Nkx2.1* 遺伝子カスケードを生み、その活性化により鰾嚢後方に肺が形成された」という仮説を立てた。

これを確かめるために、脊椎動物の祖先で、*Tbx2/3* 遺伝子と *Tbx4/5* 遺伝子を持ち、肺を持たない原索動物ナメクジウオにおいて、この2つの遺伝子の発現パターンを明らかにしたところ、どちらの遺伝子も鰾嚢に発現していた。四肢動物にみられる心肺領域の *Tbx4* と *Tbx5* 遺伝子に相当する発現は観られなかったことから、*Tbx4* および *Tbx5* 遺伝子は原索動物から脊椎動物に至る過程で、その発現を咽頭の後方にずらし、咽頭嚢類似器官として原始的な肺を得たのではないかと考察した。

・ポリプテルスのゲノムリソースの整備

ポリプテルスは現存する最も原始的な条鰭類であり、真骨魚に共通してみられる全ゲノム倍化以前に独立した系統である。そのゲノムは肉鰭類と比較する上で極めて有益であり、また真骨魚類のゲノムと比較することでゲノム倍化がもたらす遺伝子進化に関する知見が得られることが期待される。マウスとゼブラフィッシュ間で肺芽形成に関わる遺伝子制御領域の保存性について解析する目的で、ポリプテルスのゲノム解析用のリソースを整えるが、このことは他にも脊椎動物の進化を考える上で極めて有用な情報をもたらすと期待される。

かつて Chris Amemiya のグループが作成したポリプテルスのゲノム BAC ライブラリーは全ゲノム領域をカバーしていないことが明らかとなり、我々は独自にポリプテルスのゲノム BAC ライブラリーの作成を開始した。雄の成体の血液を採取し、有核赤血

球からゲノム DNA を調整した。ゲノムサイズを測定し、3GB 程度であることが明らかとなった。藤山秋佐夫博士（比較ゲノム領域代表）と共同で BAC ライブラリーの作成を行っている。同じゲノム DNA を用いた Fosmid ライブラリーはすでに完成している。

我々はポリプテルスから胚を得る実験系を確立したため、全胚から抽出した RNA を用いて EST 解析を行った。受精卵から原腸胚までのポリプテルス胚から RNA を抽出し polyA+RNA から cDNA を作成後、約 2 万クローンに関して両側からシークエンスした。また神経胚から孵化直後稚魚から同様に作成した cDNA に関しては約 5 万クローンを両側からシークエンスする予定であり、現在までに 2 万 5 千クローンに関して塩基配列を決定している（基盤ゲノムの支援による）。

<国内外での成果の位置づけ>

タクサ間で解剖学的な相同性が既に詳しく解析されている肺を題材として、進化上鍵となるが一般に実験動物として扱われにくい動物を積極的に用いた比較分子発生学解析と、既にゲノムプロジェクトが進行しており実験発生学的解析が可能な普及型モデル生物の解析を、組み合わせて研究を進める点が、本研究計画の特色である。古生物学的観点から、教科書には「肺の起源は古く脊椎動物の起源にまでさかのぼり、軟骨魚類ではそれが失われ、条鰭類ではこれが消化管の背側にある鰓に変化し、我々四肢動物・肉鰭類においてはそのまま腹側に肺が保存されている」という仮説が記載されている。では最初の肺はいかにして生じたのか、軟骨魚類以降に肺が生じた可能性はないのか、様々な脊椎動物の肺は複数の起源から生じた可能性はないのか、といった疑問が生じた。四肢動物誕生の研究は主に古生物学の分野で成されてきたものであるが、詳細な構造やその機能に関わる軟部組織の復元が困難な化石のみから、この出来事の過程を推測するのは容易ではない。本研究計画では、近年の豊富なゲノム情報と現存生物を用いた実験発生学的解析を用いて、この問題に取り組んだ。国内外においてこの問題にゲノム科学的アプローチをした研究は見いだせない。

その過程で我々は、肺と鰓が共通起源を持つ相同器官であること、その祖先器官が消化管の腹側に存在する一対の肺様の器官であったこと、その肺鰓祖先器官が咽頭嚢形成メカニズムを転用して形成されたことなど、3つの仮説を立てた。まだ論文として発表できてはいないが、国際学会での発表では多くの研究者から様々な意見をいただいたが魅力的な独創的な仮説として受け入れられた。

特に3番目の仮説に関しては、我々は鰓嚢と肺芽の形態や発生機構の共通性だけでなく鰓呼吸運動と肺呼吸運動にかかる筋肉とそれを支配する運動神経の相同性についても本研究計画の中で検討した。そのきっかけとなったのは1905年にKeithが報告しているツメガエルの横隔膜の再発見である。鰓呼吸に用いる舌筋群を支配する舌下神経と哺乳類で肺呼吸に用いる横隔膜を支配する横隔神経は哺乳類では脊髄神経根として4本分離しているが、我々が再発見したツメガエルの横隔膜においては舌筋を支配する舌下神経は第2脊髄神経、横隔神経は第3脊髄神経に相当しお互いに隣接していること、さらに哺乳類においては舌筋群と横隔膜は移動性軸下筋前駆細胞(MMP)から生じるという共通点があることから、鰓呼吸運動と肺呼吸運動にかかる神経筋ユニットはかつて連続した関係にあり、現在の哺乳類に進化する過程で、頸椎の増加によって、前後軸上離れた場所に位置することになったと考えられる。このことは肺が鰓嚢を形成するメカニズムを用いて獲得されたことを示唆するものである。*Keith A. The nature

of the mammalian diaphragm and pleural cavities. *J Anat Physiol*, 39, 243-284, 1905

ポリプテルスのゲノムリソースの構築に関しては、これまで Chris Amemiya らがゲノム BAC ライブラリーを構築した経緯があるが、我々はより充実したゲノム BAC ライブラリーの構築を開始している。また全世界的にみてもポリプテルスの胚発生の研究を開始したのは本研究計画の中で始めた我々の研究グループと我々と共同で研究を展開している国内グループしかおらず、胚を用いた EST 解析の展開は世界に先駆けたものである。脊椎動物の進化研究においてポリプテルスのゲノム情報は極めて重要であり、今後価値ある基盤データを提供できると期待される。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

多くの動物胚を比較検討する研究計画であった本研究は、それぞれの胚を用いた実験がすべて検討可能なデータをもたらして初めて議論ができるという点で、実験上の技術的問題点がなかなか解決しないことが研究全体を大幅に遅らせるという難点があった。事実、ポリプテルスやオーストラリアハイギョ胚の in situ ハイブリダイゼーション法はプローブの浸透や遺伝子の検出感度の低さなどから長らく解析を困難にしてきた。EST 解析やゲノムライブラリーの作成ももっと早い時期に着手していれば、本研究期間中により多くの情報を提供できたという点で悔やまれる。

<今後の課題、展望>

今後は咽頭嚢形成メカニズムによって肺が獲得された可能性を鰓呼吸と肺呼吸にかかる運動器系の比較によっても検討していく。すでに我々の研究グループは肺呼吸を支える運動系である横隔膜の起源に関する研究を開始している。またポリプテルスのゲノムリソースに関しても肺の起源の研究を含め脊椎動物上陸にかかる形態変化を理解する研究に利用すべく、情報の解析と早期公開に努力していく。

<研究期間の全成果公表リスト>

1) 論文

1. Takeuchi M, Takahashi M, Kuratani S, Okabe M, Aizawa S. Germ layer patterning in bichir and lamprey; An insight into its evolution in vertebrates. *Dev Biol*, 332(1), 90-102, 2009.
2. Takeuchi M, Okabe M, Aizawa S. The Genus *Polypterus* (Bichirs): A fish group diverged at the stem of ray-finned fishes (Actinopterygii). *CSH Protocols*. 2009; doi:10.1101/pdb.em0117
3. Takeuchi M, Okabe M, Aizawa S. Whole-Mount In situ hybridization of bichir (*Polypterus*) embryos. *CSH Protocols*. 2009; doi:10.1101/pdb.prot5158
4. Takeuchi M, Okabe M, Aizawa S. Microinjection of bichir (*Polypterus*) embryos. *CSH Protocols*. 2009; doi:10.1101/pdb.prot5157
5. Smith MM, Okabe M, Joss J. Spatial and temporal pattern for the dentition in the Australian lungfish revealed with sonic hedgehog expression profile. *Proc Biol Sci*, 276, 623-631, 2009.

6. Shimizu H, Okabe M. Evolutionary origin of autonomic regulation of physiological activities in vertebrate phyla. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, 193, 1013-1019, 2007.
7. 601301429
Graham A, Okabe M, Quinlan R. The role of the endoderm in the development and evolution of pharyngeal arches. *J Anat*, 207(5), 479-487, 2005.
- 2) 学会発表
1. Okabe M. Transition from aquatic to terrestrial life and evolution of the vertebrate pharynx. 日本分子生物学会 2006 フォーラム シンポジウム Integrative approaches for evolutionary developmental biology. 2006年12月. 名古屋
 2. Okabe M. Transition from aquatic to terrestrial life and evolution of the vertebrate pharynx. 文部科学省科学研究費補助金特定領域研究「比較ゲノム」領域主催 国際ワークショップ: 脊椎動物の起源 International Workshop: "Origin of Vertebrates: Approaches from Genome Biology and Informatics". 2007年3月. 東京
 3. Kondo S, Murata Y, Takahashi S, Asashima M, Joss J, Tanaka M, Okabe M. Molecular evidence that the lungs and the swimbladder are homologous organs. 日本発生生物学会第40回大会. 2007年5月. 福岡
 4. Kondo S, Murata Y, Takahashi S, Asashima M, Joss J, Tanaka M, Okabe M. Molecular evidence that the lungs and the swimbladder are homologous organs. 8th International Congress of Vertebrate Morphology. 2007年7月. パリ
 5. Smith MM, Johanson Z, Okabe M, Joss J. Building the marginal dentition of lungfish in a stereotypic osteichthyan pattern. 8th International Congress of Vertebrate Morphology. 2007年7月. パリ
 6. 近藤周, 村田有美枝, 高橋秀治, 佐藤矩行, Jean MP Joss, 浅島誠, 田中幹子, 岡部正隆. 脊椎動物の肺の獲得プロセスに関する進化発生学的研究. 日本進化学会第9回大会. 2007年8月. 京都
 7. 岡部正隆. 脊椎動物上陸の進化発生学 ~肺の獲得に関する一考察~. 日本発生生物学会秋季シンポジウム. 2007年11月. 岡崎
 8. 岡部正隆. 脊椎動物上陸の進化発生学. 第113回日本解剖学会総会・全国学術集会. 2008年3月. 大分
 9. Okabe M. Evolutionary origin of the vertebrate lung. 41st Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists. 2008年5月. 徳島
 10. 岡部正隆. 比較ゲノム・比較発生学から見たヒトの肺の進化的起源. 第48回日本呼吸器学会学術講演会. 2008年6月. 神戸
 11. Okabe M. Transition from aquatic to terrestrial life and evolution of the vertebrate pharynx. The 8th NIBB-EMBL Joint Meeting "Evolution: Genomes, Cell Types and Shapes". 2008年11月. 岡崎
 12. Tatsumi N, Okabe M. Comparative developmental anatomy of the diaphragm in mouse and chick embryo. 42nd Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists. 2009年5月. 新潟
 13. Okabe M. Transition from aquatic to terrestrial life and evolution of the vertebrate pharynx. The XIth Oxford conference On modeling and control of breathing -new frontiers in respiratory control -. 2009年7月. 奈良
 14. Okabe M. Transition from aquatic to terrestrial life and evolution of the vertebrate pharynx. The 3rd International Symposium of the biodiversity and Evolution. Global COE Project (Kyoto University). 2009年7月. 京都
 15. Okabe M. Evolution of the vertebrate pharynx. 36th International congress of physiological sciences. 2009年7月. 京都
 16. Tatsumi N, Okabe M. Comparison of diaphragm development between mouse and chicken embryo. 16th International Society of Developmental Biologists Congress 2009. 2009年9月. エジンバラ
 17. 岡部正隆. 脊椎動物の上陸と咽頭の形態進化. 第50回日本組織細胞化学会総会・学術集会. 2009年9月. 大津
- 3) 図書
1. 岡部正隆 (分担執筆). 中外医学社. 呼吸のトリビア—レスピサイエンス—. 2009年. 143頁
- 3) データベース
1. Polypterus EST Database. 受精後原腸陥入期までのポリプテルス胚の EST データベース <http://transcriptome.cdb.riken.go.jp/polypterus/>