

## 解 説

## 泌乳の開始ならびに初期進化に関する新仮説

—Olav Oftedal 博士による見解—

浦島 匡<sup>1</sup>・上村祐介<sup>1</sup>・中村 正<sup>1</sup>・佐々木基樹<sup>2</sup><sup>1</sup>帯広畜産大学畜産生命科学科)<sup>2</sup>帯広畜産大学獣医学科)

The origin and early evolution of lactation, a new hypothesis proposed by Olav T. Oftedal

Tadasu Urashima<sup>1</sup>, Yuhsuke Uemura<sup>1</sup>, Tadashi Nakamura<sup>1</sup>, and Motoki Sasaki<sup>2</sup><sup>1</sup>Life Sci. & Agr., Obihiro Univ. and <sup>2</sup>Vet. Med., Obihiro Univ.)

平成14年11月に文部科学省科研費基盤研究 (B) による補助を受け、帯広畜産大学と岐阜大学農学部においてスミソニアン動物学研究所の Dr. Olav Oftedal による“The origin and early evolution of lactation”と題する講演会を開催した。その後 Oftedal 博士より同内容を記述した2つの総説論文 (1. Oftedal, O.T., The mammary gland and its origin during Synapsid evolution, *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 7, 225–252, 2002, 2. Oftedal, O.T., The origin of lactation as a water source for parchment-shelled eggs, *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 7, 253–266, 2002) が送られてきた。本原稿は泌乳開始ならびに初期進化に関する新仮説を紹介するために、2つの総説論文より抜粋したものである。

## 緒 言

1758年に Linnaeus は最初に乳腺の独自性を認識し、陸生獣とクジラの特徴に基づいて哺乳類というクレードの新しい概念を提唱した<sup>1)</sup>。これは、サメ、サンショウウオ、トカゲなどは子宮や卵管における栄養物分泌あるいは胎盤様組織での栄養の移行によって子を育てるが<sup>2–6)</sup>、哺乳類以外の動物では、子を育てるために精密な皮膚腺からの複合栄養液の分泌を行わないということを根拠としている。

この総説では以下の3点を焦点として論じられる。

1. 哺乳類へと導いた Synapsid (単弓類) の進化期間で泌乳を裏付ける系統学的証拠はあるか?
2. Synapsid に存在したどのタイプの皮膚腺が乳腺の祖先か?
3. 先祖の皮膚腺が Synapsid の卵の生理的要求に適合して進化したならば、乳腺分泌への一連の進化を説明するシナリオはあるか?

なお、この論文では Synapsids という表現は初期単弓類から現生の哺乳類へと続く系列を包含する一方、

Sauropsids (竜弓類) は恐竜類や現存の爬虫類、鳥類へと続く系列を包含している。

## 泌乳オリジンに関する歴史的背景

1872年に Charles Darwin は、種の起源第6版の中で泌乳について以下の記述をしている<sup>7)</sup>。タツノオトシゴでは卵が孵化してから子達は育児嚢内で育てられるが、その子達は育児嚢内の皮膚腺分泌物を摂取しているかもしれない。哺乳類は、ポーチまたは腹部に袋をもつ動物の子孫であると考えられる。栄養的な液体を分泌する個体は、分泌の少ない個体よりも多い個体では成長率のよい子を育てる割合が高い。乳腺の類似物である皮膚腺は、より発達して効果的となり乳腺となった。しかし初期の乳腺には、原始的哺乳類である現生のカモノハシのように乳頭が存在しなかったと考えられる。Owen (1832) は、単孔類が泌乳することを初めて明らかにした<sup>8)</sup> (Fig. 1 は Owen の記述したカモノハシの乳腺)。また Darwin は、カモノハシは卵を産むのではなく、卵胎生であると考えたが<sup>9)</sup>、1884年に Caldwell は単孔類が卵を産み、抱卵と泌乳の両方を行うことを確かめた<sup>10)</sup>。

また Darwin 以降、乳腺起源に関して以下のような記述がなされた。Gegenbauer (1886) は、単孔類の乳腺は汗腺から進化したと仮定した<sup>11)</sup>。Bresslau (1907) は、乳腺の原基は胚の初期に存在し、ゆるやかに発達していくことを観察した<sup>12)</sup>。Gregory (1910) は、原始的乳腺により生産される油状の液体は卵を温め、豊富なアルブミン様物質は卵の腹部への付着を引き起こすかもしれないと考察した<sup>13)</sup>。Haldane (1964) は、哺乳類の祖先は卵を冷温状態に保持する必要があり、抱卵の際発汗によって卵に水分を含ませるようになったと考えた<sup>13,14)</sup>。またかれは、発汗によって濡れた毛の上での水分の吸飲のほどを渴かした子に対して利益をもたらすと考え、そして発汗から乳腺分泌は進化したと仮定した<sup>13,14)</sup>。Long

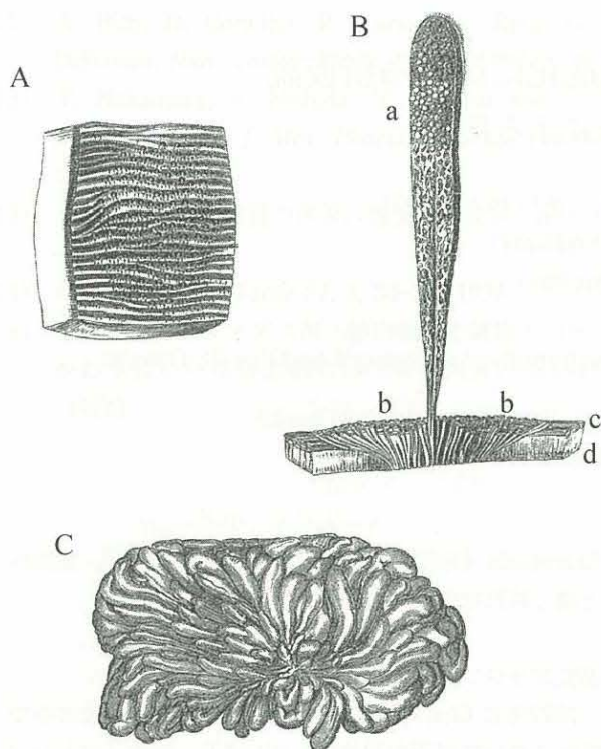


Fig. 1 1832年にRichard Owenにより記述されたコモドハシの乳腺。この研究はCharles Darwinには知られていたが、単孔類の乳腺解剖の近年の研究においては見逃されてきた。(A)乳腺毛を省かれた乳輪の拡大。(a)乳腺小葉、(b)他の乳腺小葉の導管の先端、(c)筋線維、(d)外皮。(B)1つの乳腺小葉の拡大。(C)十分に発達した乳腺。

(1969)は、単孔類の卵は産卵に先立ち子宮分泌物を吸収し、卵の液体吸収能が産卵後も続くのならば、哺乳類の祖先の卵は栄養のある皮膚分泌物から恩恵を受けた可能性があることを示唆した<sup>15,16)</sup>。Hopson (1973)は、三疊紀後期の哺乳類は非常に小さかったため、小さな卵を産み、そして内温性であったならば未熟な新生子を孵化したに違いないと主張した<sup>17)</sup>。GraveとDuvall (1983)は、皮膚によって産生されたフェロモンがmuzzling (鼻嗅ぎ)とlicking (舐め)を誘導することを示し、これが泌乳の開始に繋がったと考えた<sup>18,19)</sup>。GuilletteとHotton (1986)は、抱卵と皮膚分泌の両方が未熟な子の生存に必要不可欠であるとみなした<sup>20)</sup>。HayssenとBlackburn (1985)は、 $\alpha$ -ラクトアルブミンとリゾチームの分子類似性に基づき、皮膚腺の当初の機能は抗微生物目的であり、後に栄養目的になったと示唆した<sup>21,22)</sup>。Blackburn (1991)は、乳腺は多様な腺タイプの特徴をもち、一つの腺から進化したというよりもむしろ多様なタイプの皮膚腺の特徴を含ませた新規モザイク構造として進化したと主張した<sup>23)</sup>。

これらの仮説のいくつかは、乳腺は汗腺あるいは脂腺から進化したものとみなし、またいくつかはアポクリン

腺から進化したことを示唆した。Blackburn (1991)のアプローチはそれらのすべてを含むモザイクである。いくつかのシナリオは、泌乳は抱卵と関係をもち、そして子に栄養を与えるために進化したことを示唆している。

#### 古生物学における泌乳

Synapsid (単弓類)：哺乳類へと進化した系統への分化の開始

約1億2500万年前の初期の真獣類化石における毛の発見は、泌乳がそれ以前に開始されていたことを示唆している<sup>24)</sup>。哺乳類を生み出した先祖の系統としては、約3億1000万年前のペンシルバニア紀中期の化石において頭骨の側頭領域に“窓”(外側頭窓)をもつ小さなトカゲ様生物が発見されており、Synapsidと呼ばれた。Synapsidは最も初期の陸生脊椎動物、いわゆる羊膜卵をもつAmniote (有羊膜類)の1系統分枝である。有羊膜類の祖先である事前のTetrapodの卵はガス交換と水分保持が十分ではなかったが、有羊膜類の卵は外胚膜とガス交換に有利な外側の層をもっており、水分保持の点でも十分であった<sup>25)</sup>。Synapsid以外の初期の有羊膜類は、外側頭窓のないカメ(無弓類)の祖先や外側頭窓をもつトカゲ、ヘビ、ミミズトカゲといった現生の有鱗類、ムカシトカゲなどの隔頭類、ワニそして鳥類の祖先であるDiapsid (双弓類)を含み、これらのSauropsida (竜弓類)は、3億1000年以上前に分岐した。Olav Oftedalは、哺乳類が爬虫類から進化したのではなく、哺乳類と爬虫類が初期有羊膜類から進化したと考えている。

#### Synapsidの変換

約3億年前に出現したSynapsidは、放散と絶滅を繰り返し、三疊紀後期に恐竜に置き換わるまでは、二疊紀と三疊紀の最も優勢な動物相であった。約2億2500万年前に哺乳類型Synapsidが出現し、ついでジュラ紀と白亜紀には真性哺乳類が放散し、哺乳類は白亜紀後期の恐竜の絶滅以後新生代第三紀について花開いた。

基礎Synapsidから初期哺乳類への特徴的な形態的変換は、以下のように要約される。

1. それぞれの頭骨の大きさ、数、そして頭骨間の縫合は、顎の筋肉の量とパワーを増強させるように変化した。
2. 顎は歯骨の拡大をとめない筋肉を増強するように変化した。
3. 歯は食性の特殊化に伴って多様化し、そして複雑化した。
4. トカゲ様の横腹這い運動から垂直への姿勢の変化は、脊椎、胸骨、骨盤、四肢骨の構造変化によって明らかである。これは運動能力を向上させた。

5. 運動能力の発達に伴い、呼吸系が発達し、肋骨が胸部に限られるようになった。
6. 二次硬口蓋の発達は、口腔から鼻への空気の流れを分離し、食物摂取と同時に呼吸することを可能にした。
7. 鼻腔内における軟骨と骨のネットワーク、呼吸性鼻甲介が発達した。それは鼻腔が水分保持と熱交換を可能にし、内温性維持に重要と考えられる。
8. 長骨におけるミネラル沈着のパターンが変化し、縞状パターンからより均一で高度に血管の多い構造になった。

このような変換は一挙には起こらず、段階的に連続的に起こった。泌乳もまた飛躍的に進化したというよりも段階的に進化したであろう。

プレ哺乳類の放散

Fig. 2 に示した Synapsid の現生哺乳類への連続的進化は、下のように区分される。

- (I) 最初の有羊膜類の放散は Sauropsid から Synapsid を分離させた。

- (II) ペンシルバニア紀後期とそれに続くペルム紀に Synapsid は多様な基礎グループへと放散し、そして Therapsid (獣弓類) を出現させた。
- (III) ペルム紀後期に初期 Therapsid の放散がおこった。
- (IV) ペルム紀の終わりに大絶滅が起こり、わずかに生き残った Therapsid から Cynodont (キノドン類) が出現した。
- (V) 三疊紀までに Cynodont (キノドン類) は、歯、頭蓋骨、骨格の形態において哺乳類様の特徴を含むようになり、三疊紀後期およびジュラ紀に Mammaliaform (哺乳形類) が出現した。Mammaliaform は機能的な歯骨-鱗状骨顎関節をもつ。
- (VI) ジュラ紀後期か白亜紀までに真性の哺乳類が出現した。

初期有羊膜類の放散時期(約3億1000万年前、ペンシルバニア紀)は、広大な沼地、巨大なスギナを含む川辺の森、巨大なヒカゲノカズラ、広がったシダ植物に覆われていた。初期有羊膜類の化石は北アメリカとヨーロッパで見つかるが、その当時そこは赤道近くであった。有羊膜類は水分への生存依存性が小さく、顎の構

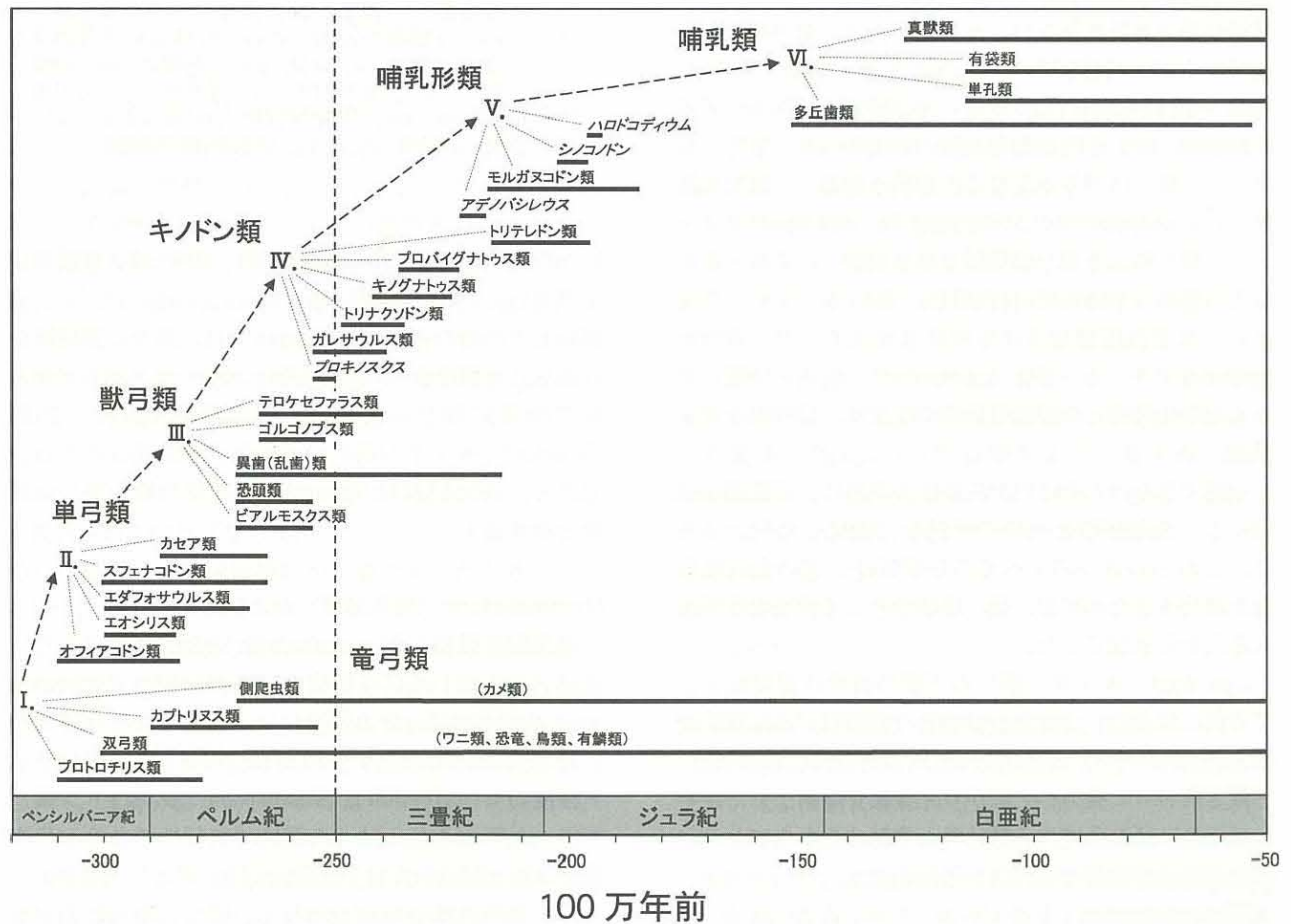


Fig. 2 有羊膜類(I)から始まり哺乳類(VI)までの連続的放散を示した図。各クレードの代表的なものを記載してある。太い線は各系統の出現時期および存続期間を示した。地質年代とペルム紀末の大絶滅(垂直の点線)はx軸に示した。

造から昆虫や無脊椎動物のような小さな獲物を摂食していたと考えられる。

基礎 Synapsid は多くの肉食および草食動物へと放散し、200~300 kg の体重を持つものが、陸生の生態系の優先種であった<sup>27)</sup>。基礎 Synapsid の Edaphosauridae (エダフォザウルス類) と Sphenacodontidae (スフェナコドン類) は、背中に巨大な帆をもっていた。帆は吸熱また放熱器として機能した。それらは、姿勢、運動、代謝また成長において原始の特徴を保持しており<sup>28,29)</sup>、羊皮紙様の殻をもった卵を産んだ<sup>30)</sup>。基礎 Synapsid の大半はペルム紀末に絶滅した。

Therapsid は、ペルム紀後期の初めに出現し、肉食性また草食性であった。それらは初期のものでさえ頭骨が強固で、食性の特殊化と運動の発達によって歯と骨格が発達した<sup>28)</sup>。そして、それらは系統進化が進むにつれて顕著になっていった。超大陸パンゲアはペルム紀に北方向から赤道に移動し、地上を暑く乾燥したものにし、砂漠は広がったため、いくつかの初期 Therapsid はペルム紀後期に絶滅したが、草食性の Dicyodont (ジキノドン類) と肉食性の Gorgonopsid (ゴルゴノプス類) や Therocephalians (テロケセファラス類) は生き残った。哺乳類に近い Cynodont (キノドン類) はペルム紀後期の終わりに出現した。

ペルム紀末の大絶滅によって、海生、陸生の生物の70%が絶滅した。その中で、代表的な3グループの Therapsid が生き残った<sup>31)</sup>。Theracephalian (テロケセファラス類) はペルム紀には生き残ったが、三疊紀に絶滅した。Dicyodont (ジキノドン類) と Cynodont (キノドン類) は生き残り優勢種となった<sup>28,32)</sup>。これら進化した3種の Therapsids は内温性、高いエネルギー消費といった哺乳類様の多くの特徴を備えていた。Dicyodont (ジキノドン類) と Cynodont (キノドン類) のよく血管の発達した線維層板骨の存在は、効率的な骨成長とリモデリングを示唆している。またこれら3グループで見られる骨性の二次口蓋の発達は、頭蓋骨を強固にし、食物摂取と同時の呼吸を可能にした<sup>33)</sup>。さらに、これらの3つのすべての分類群は、高い食物摂取量を維持するために歯、顎、頭蓋骨そして骨格の形態的大変化を引き起こした。

Cynodont (キノドン類) の下顎の歯骨は筋突起として背側に広がり、これにより強力な咀嚼筋である咬筋を発達させた<sup>28,34,35)</sup>。歯骨は postdentary bone (後歯骨) と置き換わって後方へと広がり、後歯骨は縮小した。そして歯骨は頭蓋骨である鱗状骨と接触するようになり、この接触は機能的な顎関節を発達させた。

Morganucodon (モルガヌコドン類) や Sinoconodon (シノコドン類) といった初期 Mammaliaforms (哺乳形類) では、顎関節の移行型を示し、

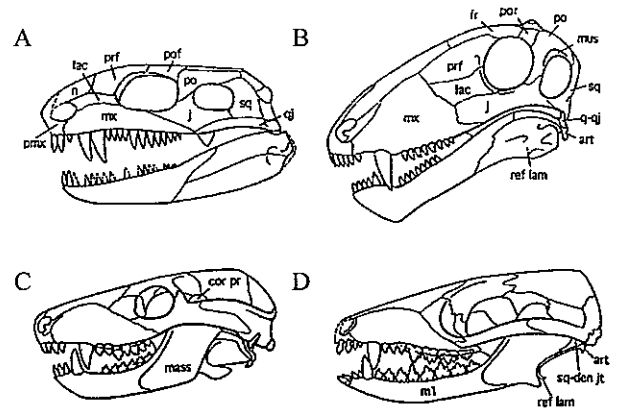


Fig. 3 Synapsids 頭骨の連続的進化を表した図。(A) ペルム紀初期の基礎 Synapsida (単弓類), *Eothyris* (エオンクス)。外側頭窓は眼高の後方にある。(B) ペルム紀後期の Therapsida (獸弓類), *Biamosuchidae* (ピアモスクス類), *Biamosuchus* (ピアモスクス)。下顎前方の骨(歯骨)の大きさが増加した。(C) 三疊紀初期の Cynodontia (キノドン類), *Thrinaxodontidae* (トリナクソドン類), *Thrinaxodon* (トリナクソドン)。筋の付着のための筋突起として、歯骨の大きな後背部への突起が形成された。(D) ジェラ紀初期の Mammaliaformes (哺乳形類), *Morganucodon* (モルガヌコドン)。歯骨-鱗状骨顎関節の接合が起こり、また複雑な歯列をもつようになった。art, 関節骨; cor pr, 歯骨筋突起; fr, 前頭骨; j, 頬骨; lac, 涙骨; mass, 咬筋窩; ml, 下顎第一臼歯; mus, 咀嚼筋の付着部; mx, 上顎骨; n, 鼻骨; pmx, 前顎骨; po, 後眼窩骨; pof, 後前頭骨; q, 方形骨; qj, 方形頬骨; lef lam, 角骨反転板 (reflected lamina); sq, 鱗状骨; sq den jt, 鱗状骨-歯骨顎関節

2つの顎関節(関節骨-方形骨関節, 歯骨-鱗状骨関節)を保有していた<sup>36,37)</sup>。Hadrocodium (ハルドコディウム類) とその後の Mammaliaforms では、新たに顎関節から独立した関節骨-方形骨関節は、ツチ骨とキヌタ骨として中耳に取り込まれた。哺乳類の中耳は、初期 Cynodont (キノドン類) の顎関節から誘導されたものである。(Fig. 3には Synapsids の連続放散を表した頭骨を示す。)

#### Mammaliaform (哺乳形類) および泌乳の証拠

三疊紀の最初の Mammaliaform は食虫動物であり、サイズはトガリネズミ程度のもの(2~3 g, *Hadrocodium*: ハドロコディウム類) マウス程度のもの(30~90 g, *Morganucodontids*: モルガヌコドン類), またラット程度のもの(~500 g, *Sinoconodon*: シノコドン類)であった<sup>37)</sup>。それらは、内温性で夜行性であり、代謝速度は爬虫類より大きく、現生の哺乳類よりも小さかった<sup>38)</sup>。吸熱性は小さかったため、密生した毛によって断熱された。密生した毛は、白亜紀初期の絶滅した小さな真獣類の化石に見られている<sup>24)</sup>。

泌乳が開始されたことの骨格学上の特徴としては、上恥骨の存在があげられる。対になった上恥骨は恥骨と関節で結ばれており、腹腔の前腹方向に突出している。これらの可動骨は袋の中で子を支えたり、袋のない有袋類においては乳頭についた乳子を支えたりするのを可能とした<sup>39)</sup>。上恥骨は現存する哺乳類では単孔類と有袋類のみにみられ、雄よりもより雌に特徴的である<sup>39,40)</sup>。また上恥骨は真獣類では失われ、陰茎骨や陰核骨として残ったとも考えられている<sup>41)</sup>。上恥骨は、中生代の Mammaliaform である Multituberculate (多丘歯類) や発達した Cynodont (キノドン類) である Tritylodont (トリチコドン類) にも存在した<sup>24,40~43)</sup>。上恥骨の機能が上記のようなものなら、これらの系統は卵や子を袋の中でかかえて移動したか、乳頭につかませたと想像される。上恥骨は、当初は卵を支えたり、育児嚢内で授乳中の子を支えたりするように進化したと考えられる。乳頭についた乳子の支えは Therian (真獣類と有袋類の共通祖先) においても発達していたと考えられるが、真獣類における胎盤進化は上恥骨の機能を失わせた。

歯の置換パターンもまた、個体発生期間での親への依存性の程度を反映している。基礎 Synapsid や Cynodont (キノドン類) においては、歯は交互に絶えず置き換わった<sup>28,44)</sup>。あらゆる発育過程においてそれらは十分に機能的な歯をもち、自立して摂食できた<sup>28)</sup>。ジュラ紀初期の Mammaliaform である Sinoconodon (シノコドン類) は切歯および犬歯の複数の置換とあきらかに臼歯の置換を行った<sup>34,45)</sup>。ジュラ紀初期の他の Mammaliaform は、前歯の1回の置換を行い、永久臼歯を発達させた<sup>34,45)</sup>。初期 Mammaliaform は、歯列の連続性と反対側の歯に対する正確な咬合を進化させた<sup>28,34,46)</sup>。さらに、後の Mammaliaform では、臼歯は高度に特殊化し、複雑な咬頭構造の正確な咬合が認められた。二生歯においては、歯の脱落が遅れ、子の顎が大人のサイズになるまでの間、乳歯が存在した。乳歯にはカルシウム、リン、そしてその他の栄養素のかなりの量が提供されなければならなかったため、二生歯であるためには泌乳による栄養補給が必要であったと考えられる<sup>17,47)</sup>。

上恥骨の存在や歯の置換パターンさらに生理的な観点から、泌乳の開始時期についての Olav Oftedal の仮説は以下のとおりである。三疊紀に Mammaliaform を生んだ内温性の Therapsid は卵生であり、ポーチをもっていて、皮膚分泌を通じて卵に水分を提供していた<sup>30)</sup>。Mammaliaform の小さな体サイズ、上恥骨の存在および二生歯は、子が未熟状態で孵化し、長期間親からの栄養補給に依存していたことを意味している。 $\alpha$ -ラクトアルブミン、カゼイン、脂質、ラクトース、ミルクオリゴ糖などの乳成分の生産は、ジュラ紀の単孔類、有袋

類、真獣類の共通祖先以前にすでに行われていた。ペルム紀大絶滅後に存在していた3つの Therapsid である Dicynodont, Therocephalian, Cynodont は部分的もしくは完全に内温性であり、それらは卵に皮膚分泌物を提供していた<sup>30)</sup>。

### 皮膚腺分泌の進化

現生哺乳類の乳腺が、初期 Synapsid や Therapsid の単純皮膚腺からどのようにして進化したかを検証するために、Synapsid の皮膚腺と Sauropsid の皮膚腺を対比しながら、哺乳類における皮膚腺と比較する。

### Synapsid の Tetrapod 前任者

Synapsid は、水に依存しないように作りかえられた Tetrapod からの外皮を受け継いでいる。初期の Tetrapod の外皮は、経皮的水分損失とくに抵抗性をもっていないと考えられる<sup>48)</sup>。現生の両生類は、1あるいは2~3のケラチン化した細胞層から成る非常に薄い皮膚角質層をもち、これが経皮呼吸を促進している<sup>49)</sup>。両生類の皮膚では、魚類の単細胞腺とは異なり真皮外胚葉が下方成長することによって多細胞腺が形成されている<sup>50,51)</sup>。その細胞腺には、真皮上部層に含まれる比較的小さな粘膜腺と真皮下層にあるいくらか大きな顆粒腺の2タイプがある<sup>51)</sup>。これら両タイプの腺細胞は、腺小胞内容物をエキソサイトーシス(開口分泌)によって腺腔に分泌する。さらに、顆粒腺は隣接する筋上皮細胞の収縮によって細胞全内容物を分泌する<sup>52)</sup>。

現生の両生類では、粘膜腺の主な分泌産物は糖タンパク質であるが、顆粒腺の分泌産物はポリペプチド、プフォゲニン、アルカロイド、芳香族アミンなどの毒性化合物である<sup>53)</sup>。これら毒性化合物は種特異的である。粘液の放出は擦過に対する防御に有効であり、皮膚水分を保つことによって経皮呼吸におけるガス交換を促進する。乾燥に適応した若干のカエル (Hylidae: *Phyllomedusa*) は、粘液腺や顆粒腺とともに脂質分泌腺をもっている。カエルは拭いさるようなこの動作によって外皮上に分泌したトリグリセリドとワックスエステルを皮膚全体に広げ、皮膚の水分損失に対する抵抗性を増している<sup>51,54,55)</sup>。

### Sauropsids (竜弓類) : 現生の爬虫類と鳥類

Sauropsid の表皮は、厚い角質層を発達させ個別のケラチン化した鱗に被われるようになった<sup>50,56)</sup>。Sauropsid の鱗は、擦過に対する防御能を提供し、ぬじれや水の流動性に対して抵抗性である。ケラチン産生細胞の成熟と脱落の複雑なサイクルはトカゲとヘビなどの有鱗類の間で発達した。鱗は、上層の  $\beta$ -ケラチンの融合細胞層と下層の  $\alpha$ -ケラチン層の間にはさまれた脂肪の豊富

な中間層を含む一つのユニットとして剥がれ落ちる<sup>56)</sup>。Sauropsidの皮膚は両生類と哺乳類の中間型ではなく、別個に進化したと考えられる。

Sauropsidの皮膚腺は、鼠径大腿部および下顎部表面のような特殊な領域に限られている。これらの腺は、腺腔に面して並んでいる細胞の死滅、いわゆる全分泌によって分泌する。半固体で脂肪の豊富な産生物は、異性間の性的コミュニケーションに重要である<sup>57,58)</sup>。

鳥類の外皮は、腺がほとんどないという点で他のSauropsidに類似しており、表面角質層の厚さおよび組成においてワニのものに似ている<sup>59)</sup>。一方において、高度に進化した鱗である羽毛と多様なタイプの鱗を保持している多くの鳥類において<sup>59,60)</sup>、全分泌腺である尾腺は、水をはじく働きをする脂肪を羽毛に分泌する<sup>61)</sup>。鳥類の皮膚は、ある時期においてケラチン産生細胞に高含量の脂肪を蓄積している。

#### 哺乳類を含む Synapsids の外皮および皮膚腺

鱗の痕跡は条件がよければ化石として残るが、基礎SynapsidやTherapsidの鱗の痕跡は化石として未だに発見されていない<sup>28,34)</sup>。ペルム紀初期のTherapsidである*Estemmonsuchus* (エステモンザクス類)の化石化した外皮は、凹レンズ様構造の密集パターンを示し、この構造は両生類の皮膚のような多細胞性のフラスコ型腺の存在を示唆した<sup>62)</sup>。Chudinov (1968) は、Therapsidの皮膚は鱗をもたず、腺をもっている皮膚であったと考察した<sup>62)</sup>。初期のSynapsidと非哺乳類であるTherapsidにおける皮膚腺は、液体や脂質分泌をしたと考えられている。

現生の哺乳類の皮膚腺は、毛包と会合して非常に高い密度で存在している。初期発生過程で毛包を形成する外胚葉組織は真皮中に陥入し、アポクリン腺と脂腺を形成する外側の原基を発達させる<sup>63)</sup>。アポクリン腺は脂腺よりも表面に近い方に伸び、両腺は毛包周囲に導管によって開口している。両腺の分泌物は各種の豊富な有機成分を含み、最終的には皮膚表面を被い、そして毛をコーティングする。脂腺は皮膚表面に脂肪を出し、それによって上皮表面からの水分損失を小さくしている<sup>61)</sup>。齧歯類のハーダー腺のような巨大な特殊化したアポクリン腺は、皮膚の水分損失防止と毛の防水にとって重要である<sup>64)</sup>。ヒトなどのいくらかの哺乳類ではアポクリン腺は、成熟した毛包には存在しない<sup>63)</sup>。

アポクリン腺および脂腺の巨大発達には、おいつけにおいて重要な役割をもっている。これらの発達した腺は多くの食虫目、齧歯目および食肉目においては肛門周囲に、多くの反芻獣では前眼窩領域、そして各種のコウモリや霊長類では咽喉頭・胸骨領域にある<sup>61)</sup>。これらの腺は通常毛を保持しているが、一般の体毛とは構造が異

なっている。これらの腺は典型的なアポ-ピロ-脂腺ユニットのより進化した変形腺であると思われる。

3番目の腺、エクリン腺は毛包と独立し、表皮表面に開口する。それは、サルの手球、掌表面、尾の下側、そしてカモノハシのくちばしなど表面の接触を調節している皮膚領域に限られて存在する<sup>65,66)</sup>。その希薄な分泌物は、若干の有機物を含んでいる。

3つの腺の分泌様式は以下のようである。エクリン腺の分泌細胞は、ゴルジ体から頂上の細胞膜へと移動する小胞内に産生分泌物を収納し、小胞の膜は細胞膜と融合して小胞内容をエキソサイトーシス(開口分泌)で腺腔へと放出する<sup>67)</sup>。アポクリン腺における分泌細胞もまた、エキソサイトーシスで産生物を放出する分泌小胞を形成するが、アポクリン腺のもう一つの特徴は、頂上の細胞膜で細胞膜に取り囲まれた形で分泌小胞がふくらみ、それが分離して細胞質の断片を遊離するメカニズムである<sup>63)</sup>。この分泌メカニズムをアポクリン分泌(離出分泌)と言い、乳腺の乳脂質分泌と似ている。脂腺は分泌細胞自身が死に、崩壊し、腺腔に分泌内容を放出するホロクリン分泌(全分泌)を行う。このように脂腺の分泌細胞は分化、成熟、そしてプログラムされた細胞死によって分泌を成し遂げる<sup>61)</sup>。

#### 乳腺と他の皮膚腺の比較

乳腺は通常1つ以上の上記の腺タイプから直接進化したか、1つ以上の腺タイプを祖先とする先祖型分泌腺から派生したと考えられている<sup>12,15,18,22,68)</sup>。しかしながらBlackburn (1991) は、乳腺は先祖型から派生したのではなく、様々な腺タイプの特徴を併せ持った新規モザイク型の新しい構造であるという異なる乳腺進化仮説を発表している<sup>23,69)</sup>。

一方Oftedalは乳腺と他の腺との比較から、Blackburnとは異なる乳腺進化説を提唱した。以下にそれを記述する。

多くの点で脂腺の分泌細胞あるいは脂肪嚢は、皮膚および毛包におけるケラチン産生細胞と類似している。ケラチン産生細胞は基底層から分化し、ケラチンと膜コーティング物質を蓄積してから死ぬ。脂腺の導管を構成する細胞は機能的には中間的であり、ある程度の脂肪とケラチンを蓄積する。乳腺の2層上皮構造とは対照的に、脂腺は基底細胞、分化細胞、そしてネクローシス細胞といったような重層上皮をもち、筋上皮細胞を欠いている。分泌によって個々の小葉は使い尽くされるため、新しい小葉と置き換わる<sup>61,65)</sup>。乳腺は脂腺からの変化によって形成されたとは考えられない。

エクリン汗腺は、多列上皮で乳腺同様にエキソサイトーシスによる分泌系を保持している。しかしながらそれは、電解質の希薄な溶液と低分子有機物の生産を行う

が、明らかに脂質、タンパク質、複合糖質合成能力が欠けており、アポクリン分泌は行わない<sup>65)</sup>。エクリン汗腺は、毛包の発達ともなう会合がなく、独立して進化したと考えられる。

一方アポクリン腺は、脂腺やエクリン腺よりも乳腺への多くの類似性を示している。アポクリン腺と乳腺において、単層の分泌上皮細胞は基底膜との間に筋上皮細胞による下層を形成し、分泌細胞の体積は分泌時期によってほとんど変化しない。アポクリン腺は、単孔類や有袋類の乳腺と同様、胚の発生段階で毛包と会合している。アポクリン腺は、乳腺上皮が乳房の脂肪層へと広がるように発生学的に皮下組織や皮下脂肪層に広がる<sup>70)</sup>。アポクリン腺のコイル状の管構造は、乳腺腺胞の密集した小葉構造よりはシンプルである。しかし、単孔類の乳腺は管状で複雑ではないが、産卵後に乳を分泌する。アポクリン腺は思春期にまず先に十分な分泌発達を行う。

特殊化したアポクリン腺は、脂質や複雑な有機物を合成し分泌する点において乳腺に似ている<sup>64,66)</sup>。例えば多くの哺乳類においてハーダー腺は、角膜の外表面に各種の脂質成分（アルキルシアシルグリセロールなど）とボルフィリンを分泌する<sup>71,72)</sup>。アポクリン腺は、分泌物をエキソサイトーシスとアポクリン分泌により放出する。乳腺は大部分の成分（タンパク質、ラクトース、ミルクオリゴ糖および多くの水溶性成分）を分泌小胞のエキソサイトーシスにより腺腔内に分泌する。脂肪球は乳腺においてこれとは対照的に、頂上の細胞膜を通して膨れ上り突出し、その膜を取り込んで腺腔内に遊離される。そしてその後、細胞質断片は乳脂肪球に取り込まれる<sup>73)</sup>。乳腺における脂質分泌はアポクリン分泌と似ている<sup>74)</sup>。乳腺分泌によって分泌細胞が失う細胞質の量はわずかである。このような乳脂肪分泌は、アポクリン腺から乳腺への進化を反映していると考えられる。Oftedal は、乳腺は乳腺と現在のアポクリン腺の共通祖先であるアポクリン様皮膚腺から進化した可能性もあると推測している。

#### 乳腺の初期個体発生時での発達

##### 単孔類における乳腺の発生

ハリモグラにおいて乳腺になる領域における表皮の肥厚の形跡は、母親が抱卵を開始した後、胎子が1 cm 程度になる際に観察される。mammary primary-primordium（乳腺一次原基）と命名されている<sup>75)</sup>。この乳腺原基は、卵が孵化するまでにはレンズ形になる。孵化後の新生子（380 mg 体重）では一次原基は毛細血管による豊富な血管分布を受けており、最初は露出したままであるが、毛包原基は乳腺原基の周囲の表皮で発達し始める。その後すぐに毛包原基は乳腺領域にあらわれ、他の皮膚領域よりも毛包原基は間葉の方向に伸び、そして汗

腺（アポクリン腺）に似た腺原基（乳腺原基）をその周囲に発達させる。この乳腺原基は急速に間葉に伸長して、最終的に乳腺小葉となる。乳腺領域における毛包は主毛を発達させ、最終的に発達した構造は、乳腺小葉、乳腺毛、一つ以上の脂腺から成り立っている（mammo-ピロ-脂腺ユニットと命名される）。

乳輪といわれる各々の乳腺領域は、ハリモグラでは小さな楕円形の抱卵領域に存在し、約100~150のこれらのユニットの集団を含んでいる<sup>75~77)</sup>。ここで分泌された乳は毛の基部ににじみ出る。乳輪の周囲を超えたところに巨大なアポクリン腺があり、アポ-ピロ-脂腺ユニットを発達させている<sup>70)</sup>。

カモノハシの乳輪は、泌乳していない個体では0.6 cm、泌乳している個体では2 cm まで広がり100~200のmammo-ピロ-脂腺ユニットを含む<sup>8,78)</sup>。単孔類の乳輪におけるmammo-ピロ-脂腺ユニットと周囲の皮膚のアポ-ピロ-脂腺ユニットの間に、発達と機能的組織形成において顕著な同時平行性が見られる。

##### 有袋類における乳腺発生

有袋類では、乳腺原基は胚の外腹側表面に発達する<sup>75,79)</sup>。その出生時には一次原基は小さく分割された表皮の盛り上がりになり<sup>10,80,81)</sup>、続いてそれは深くなりこぶ状の乳頭原基となる（Fig. 4(A)）。そしてこの乳頭原基の数は種により異なる<sup>79)</sup>。オポッサムでは8つの一次上皮芽が各乳頭原基から発生し、それらの各々の一次芽は順に1個の二次芽および一對の三次芽を発達させる。一次芽は毛包の原基であり、三次芽は脂腺原基となる。これらは一時的に発達してからその後退行する。しかしながら二次芽は乳腺小葉へと分岐する乳腺導管を産生する<sup>75,79)</sup>。オポッサムは一つの乳頭につき8つの小葉をもつ。オポッサムは12以上の乳頭をもっているので、小葉のトータル数は単孔類同様の100~200となる。

Fig. 4には一次(I)、二次(II)および三次(III)芽の発達を示した。ほとんどの有袋類においてまずこぶ状の乳頭原基が伸張し（Fig. 4(B)）、角質化によりほりぬかれる（Fig. 4(C)）。一次芽は、ほりぬかれて出来た乳頭嚢に向かって乳腺毛を生えさせる毛包となり、三次脂腺原基は乳頭嚢の基底近くのところで発達する（Fig. 4(C)）。ついで毛は脱落し、毛包は退行し、乳頭嚢は裏返されて乳頭が形成される（Fig. 4(D)）。各乳頭を貫通する導管の数ははじめの毛包原基の数によってきまり、マウスオポッサムで3、オオフクロネコで6、タマーワラビーで15-20、アカカンガルーで24-26、アジツワラビーで20-37である<sup>84)</sup>。コアラの場合、乳頭毛は乳頭が裏返った後も持続するが、乳仔が乳頭に吸い付く前に脱落する<sup>75)</sup>。

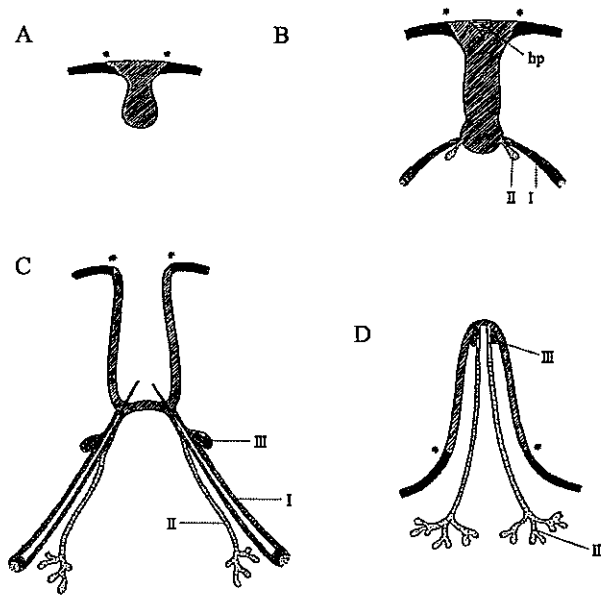


Fig. 4 Bresslaw による乳頭の外転を伴う有袋類の初期乳腺分化の模式図。

(A)芽形成前の乳頭原基 (B)毛包になる一次芽 (I)の出現と乳頭原基の伸長, および乳腺小葉になる二次芽(II), さらに角質化したプラグ (hp)の発達を示す。(C)毛包に乳腺毛をもつ凹状の乳頭嚢(I), 乳腺の成長(II), および脂腺の原基である三次芽(III)。(D)毛包の退行ならびに乳腺毛の脱落后に外転した乳頭; 脂腺(III)はまだ存在している。

#### 真獣類における乳腺の発生

真獣類における乳腺の初期発生において, 前および後肢原基の間の長い領域に単層の外胚葉が増大するが, そこは乳帯(乳腺提)と呼ばれる。このバンドの中央の厚みは, 乳線(mammary line)を形成する。Bresslaw (1920)は, この下層の間葉の集塊を伴う初期外胚葉の肥厚を単孔類や有袋類における楕円形領域の一次原基に相当するとみなした<sup>75)</sup>。ついで, 乳頭が発達する位置で乳腺原基は厚くなる。その位置は種によって異なり, 例えば, マナティーでは腋窩に, ゾウや類人猿では胸部に, 反芻獣, クジラ, ウマ, シマウマでは鼠径部か腹部にある。イヌやネコでは胸部から鼠径部にかけて存在する。乳腺が発達する以外の部位の乳線は急速に消失する。乳腺原基における表皮細胞の集積は, 最初この部位で促進された増殖によるものと考えられていた。しかしウサギとマウスでは, 乳腺原基の発達は周辺領域からの表皮細胞の移動によって起こるらしい<sup>83)</sup>。

マウスの乳腺初期発生において, 乳帯は受精後10~11日で最初に見られ, ついで5対の乳腺原基は12日後に現れて14日までに球形の原基になる<sup>83)</sup>。乳帯と乳腺原基は受精後11日から16日までゆるやかに伸長し, その後急速に下方に伸長して下層の乳腺脂肪層の前駆組織に侵入する乳腺原基を形成する。次いで層の中へ伸長

した乳腺原基は分岐し始めて, 増殖性のある乳腺終末原基を形成する。この段階的に分岐した導管系は最終的には脂肪層を満たす。このように乳腺構造は一つの原基から誘導され, 乳頭に開口する1本の導管によって外に開く。

毛包と乳腺の会合に対して, Olav Oftedal は以下のような推論をしている。真獣類では, 乳腺原基と毛包との密接な関係を裏付ける直接的証拠はない<sup>84)</sup>。単孔類, 有袋類, 真獣類が乳腺をもつ共通祖先から派生したこと, 乳腺は単孔類, 有袋類では毛包原基に由来する乳腺原基から発生したこと, 有袋類と真獣類は単孔類と有袋類よりも最近分化したことから, 毛包と乳腺の会合は初期真獣類の発達初期段階では存在していたと推定される。しかしながらはみ出した乳腺毛は乳頭の存在下では機能せず, 逆に哺乳を妨害するので, 真獣類における乳腺進化の過程では毛包形成は阻害されるようになったと考えられる。

#### 泌乳の進化についてのシナリオ (Oftedal による見解) 腺分泌と卵

ペルム紀の Synapsid は, 先祖 Tetrapod から受け継いだ腺のある皮膚をもっていたと思われる<sup>30)</sup>。それら Synapsid は乾燥の影響を受け易い羊皮状の殻の卵を産んだ。同様のことが, 現生の陸上に巣をつくる両生類のイモリ, カエル, そしてサンショウウオにもいえる。抱卵は両方の親が行い, 両親の皮膚との直接的な接触は, 卵への皮膚を介した水分の享受を可能にした<sup>51)</sup>。ある種のイモリにおいて, 孵化したばかりの幼体が, その特殊化した歯を用いて皮膚腺のよく発達している親の皮膚または皮膚腺分泌物を食べているという観察報告があり<sup>85)</sup>, もしこれが立証されれば, 卵への栄養補給としての皮膚分泌から幼体餌としての分泌への移行に対する直接的類似性を提供すると考えられる。

哺乳類において, 乳腺もアポクリン腺も卵に水分を供給していたと考えられる共通の先祖型皮膚腺から派生したと考えられる。これら先祖型腺は, おそらくエキソサイトーシスによる液体成分分泌とエキソサイトーシスあるいはアポクリン分泌による脂質分泌能力をもち, 卵にそれら分泌物を提供したと思われる。分泌された脂質は, 親の皮膚および卵両方に対する水分流動に対する抵抗性を増し, そして卵殻孔は, 塗り広げられた脂質による卵の閉塞を防ぐ必要があった<sup>30)</sup>。先祖型腺は, 進化のある時点でアポクリン腺や真獣類以外の哺乳類の乳腺にみられるように, 毛包と会合するようになったと考えられる。毛は当初卵表面への液体の薄い被膜の広がりをも促進するために進化したと考えられる。毛包は腺導管の開口部で進化したと考えられる。毛包は最初腹部あるいは胸部の腺分布領域に発達し, 続いて全皮膚表面におい



て保温のための体温調節の役割を果たすようになった。毛は三疊紀後期の Mammaliaform や Cynodont の出現前に進化したと考えられる<sup>30)</sup>。抱卵と関係した原始アポクリン様腺は複雑化し、導管の分岐化がおこり下層の間質組織へと導管が陥入することで乳腺様になった。原始アポクリン様腺の mammo-ピロ-脂腺ユニットとアポ-ピロ-脂腺ユニットへの分岐は、Therapsid において明らかにおこっていたに違いない。そしてこの分岐は、上皮成長や乳腺分泌を刺激するプロラクチンなどのホルモン調節の主要な変化と関連があったであろう。

#### 単孔類の泌乳についての今後の研究の役割

腺分泌、毛および卵の機能的な関係は、現生の単孔類でも続いている可能性がある。単孔類が抱卵過程で乳を分泌しているか明らかではないが、以下の事実は間接的にそれを示唆している<sup>30)</sup>。

1. カモノハシとハリモグラの卵は液体透過性の卵殻を保有しており、子宮内で液体を受け取り、何倍もの大きさになる<sup>10)</sup>。
2. 産まれた後のカモノハシとハリモグラの卵は、外部からの分子を含む最外側の有機層で覆われている<sup>86)</sup>。これは産卵後の子宮分泌物の乾燥、固化によるか、卵を産んだ後での分泌による卵への有機物の付加によるものであろう。カモノハシの卵は抱卵過程で粘質性の物質により親と密着している<sup>87)</sup>。ハリモグラの卵は抱卵嚢内で温められ、毛により固定される<sup>77)</sup>。
3. ハリモグラにおいて、乳腺は産卵前でさえ管状構造を発達させている。管は分泌性であり、12%の乾燥重量の成分を含む乳様の液体を生産している<sup>77)</sup>。

単孔類による抱卵過程での乳分泌、卵の水分摂取、また他の乳成分の摂取の確認は、乳腺オリジンについての仮説を支持する有力な根拠を提供するであろう。また単孔類の乳腺が、乳頭からでなく毛の生えた乳輪部でなぜ乳分泌をするかを説明する。つまり乳頭は卵に対し薄い液体層を供給しないと考えられるからである。

一方、有袋類の個体発生において、乳腺と会合した毛包の退行は、乳腺毛が、先祖が抱卵していた時からの痕跡的な特徴であることを示唆している。

#### “真の乳”の進化

卵への液体の提供は、微生物により侵襲されやすい環境を作り出したかもしれない。それゆえリゾチーム、鉄結合性タンパク質、そしていくつかのオリゴ糖などの抗微生物成分の腺分泌物への添加の可能性が示唆される<sup>22)</sup>。この点において初期乳腺分泌物は、分化中の胚に水分を供給すると同時に微生物による侵襲に対する防御能を提供している Sauropsid の卵における卵白画分に

類似した能力をもっていたかもしれない。鳥類の卵において卵白画分は、抗菌性の高含量のリゾチーム、鉄結合性タンパク質（オボトランスフェリン）、そしてビタミン結合タンパク質を含んでいる<sup>88)</sup>。乳腺分泌物におけるオリゴ糖は、有益微生物の増殖に対するプレバイオティクス機能と、病原体に対するレセプターアナログとしての阻害機能の両方をもっている<sup>89,90)</sup>。これらの機能は Synapsid の卵にも有益であったと予想される。いくつかの抗菌性成分は、両生類の皮膚分泌物に見つかっており<sup>53)</sup>、ここに乳成分の先祖オリジンがあるかもしれない。

ラクトースは、ほとんどすべての乳に遊離型かもしくはオリゴ糖の還元末端側に含まれる<sup>90,92)</sup>。その乳腺における生合成は、乳腺特異的タンパク質である  $\alpha$ -ラクトアルブミンと  $\beta$ 1,4ガラクトシルトランスフェラーゼのヘテロダイマーであるラクトースシンターゼの形成に依存する<sup>93,94)</sup>。 $\alpha$ -ラクトアルブミンは、細菌細胞壁のグリコシド結合を切断し、先祖アポクリン様腺の分泌物などどこにも存在する酵素リゾチームから明らかに進化した。リゾチームと  $\alpha$ -ラクトアルブミンを複製する gene の分岐は、分子データから Synapsid の発生に先立つ出来事であったと推定される。一方、 $\beta$ 1,4ガラクトシルトランスフェラーゼの  $\alpha$ -ラクトアルブミン結合ドメインは鳥類にも認められるので、これは Synapsid と Sauropsid の分岐前の出来事であったと考えられる<sup>95,96)</sup>。Messer と Urashima (2002) は、祖先乳腺における  $\alpha$ -ラクトアルブミン合成速度は低く、現生の単孔類、有袋類の場合のように過多の糖転移酵素活性は、ラクトースをミルクオリゴ糖に変換したと仮定した<sup>92)</sup>。そして初期分泌物は、還元末端にラクトース単位を含む抗微生物性のオリゴ糖を優先的に含んでいたと考えた。次いで  $\alpha$ -ラクトアルブミン量の増加によって、遊離ラクトースが作られるようになった。このシナリオでは、遊離ラクトースは腺分泌の後期に出現したことになる。Messer と Urashima (2002) は、 $\alpha$ -ラクトアルブミンに関する分子データが示唆するように、三疊紀後期の Mammaliaform の出現約1億年前になぜそれが出現したかということ想像できなかった<sup>92)</sup>。しかし、もし初期 Synapsid の卵がオリゴ糖を含んだ腺分泌物からの恩恵を受けていたならば、この疑問は解決される。

分泌物が水分や感染防御物質ばかりでなく、同時に栄養物を提供しはじめた際に、乳腺進化に新たに大きな変化が起こった。カゼインは胚に対してではなく、孵化後の子に対するアミノ酸、リンおよびカルシウムの供給源として進化したと考えられる。それは、巨大サイズのカゼインミセルが卵殻の孔を通過しないためである。カゼインの出現は、三疊紀の Mammaliaform の出現前であったと考えられる。それは、すでに Mammaliaform に

認められていた歯の置き換わりによって、自力によるえさ摂取前の骨発達のために多くのカルシウム摂取が必要とされたからである。 $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  および  $\beta$ -カゼイン gene は一つの gene からの重複と分岐によって、 $\kappa$ -カゼインは  $\gamma$ -フィブリノーゲン gene から派生した可能性がある<sup>97)</sup>が、カゼイン遺伝子の起源はまだはっきりしていない。

卵への供与物は、少量の脂質を含む少量の薄い液体であったと考えられる。孵化後には、乳脂質はエネルギー要求の増加によって増加したであろう。これは単孔類と有袋類の泌乳段階での成分変化と同様であろう<sup>98,99,100)</sup>。単孔類と有袋類の泌乳開始乳は、少量の脂質、そして単糖とラクトースから成るシンプルな糖質を含み、全く希薄である。これらは、祖先の初期分泌物に近いと考えられる。

ここまでの論述において、乳は、卵への栄養供給物から孵化後の幼体餌へと哺乳類への進化の過程において変化してきたと考えられ、そして、現生の単孔類においてはそれは両方の役割を演じていると推測された。ついて後半部分では、羊皮状卵殻への水分供給目的で開始されるようになったという泌乳オリジンに関する仮説を紹介する。

泌乳の開始は卵生哺乳類である単孔類と Therian (有袋類と真獣類の共通祖先) の分岐に先立って進化した。当初、哺乳類の祖先は巨大な卵黄をもつ卵から孵化していたと考えられる<sup>22,101)</sup>。哺乳類の祖先の卵は、鳥類、有鱗類(トカゲとヘビ)、ワニ、カメの卵とは異なり、そして泌乳の初期進化に特別な特徴をもち、役割を果たしていたのだろうか? それを解決するためのヒントは以下のものである:(1)有羊膜類の卵殻の構造の違いを理解すること。(2)卵の生理的要求の違いを理解すること。(3)窒息させないで卵表面へ液体を供給することが可能であるかを理解すること。哺乳類の祖先が、透水性のある殻をもち乾燥されやすい卵を産んだと仮定すると、そのような卵は過剰な水蒸気の損失から保護される必要があった。そして、それらの卵は水溶性の液体の補給を要求したに違いないであろう。

## 卵の構造と水分バランス

### Synapsid 卵の構造

初期の有羊膜類である Synapsid (約3億年前) の卵は、栄養物移動を可能にするように胚外膜を特殊化した巨大卵黄をもっていた。それは、呼吸ガス交換、胚消費産物の貯蔵、液体区分での胚防衛の点でそれ以前の Tetrapod とは異なっていた<sup>25,102,103)</sup>。これらの特徴をもった卵は、水に浸っている必要がなく、Tetrapod よりも卵の中での発達期間が長くなった。この初期 Synapsid の卵は石灰化した卵殻をもちあわせていなかったと

考えられるが、それは以下のような推理に基づいている。Stewart (1997) は、線維性の卵殻膜を覆う二酸化カルシウム結晶の付着は Sauropsid (現生の爬虫類と鳥類) の特徴で、初期有羊膜類である Synapsid の卵の特徴ではないことを論証した<sup>103)</sup>。現生の単孔類の卵殻は、多層だが明瞭な石灰層を保有していない。初期有羊膜類の卵が石灰化していなかったことは、石炭紀、ペルム紀、三疊紀初期において、卵の化石が存在していないということからも推測することができる<sup>104)</sup>。これとは対照的に、高度に石灰化した卵殻の結晶化した円柱形と円錐形のパターンは、化石としてよく保存されている。恐竜の卵の化石は、三疊紀中期/後期までは発見されていない<sup>104~106)</sup>。さらに、鳥類を含む他の Sauropsid の卵殻の化石は三疊紀後期に出現する<sup>104)</sup>。

一方、現生の単孔類の卵殻は羊皮状であり<sup>86,103,107)</sup>、卵黄は小さく、未熟な新生仔は何ヶ月も母親の乳に依存して成長する<sup>10)</sup>。

### 各タイプの卵殻からの水蒸気損失

羊皮状の卵殻をもつ有鱗類(トカゲ、ヘビ)の卵と石灰化した卵殻をもつワニ、カメ、そして鳥類の卵の水蒸気損失の比較により、羊皮状の殻をもつ有鱗類の卵は、硬い殻をもつワニやカメの卵の約50~150倍の速度で水分を失うことが示された<sup>108~111)</sup>。小さな卵は、卵容積に比べて相対的に表面積が広くなり、この結果によって水分の蒸発損失が大きくなり、例えば小さな羊皮状殻の卵(5g)は、28°Cでは99%の相対湿度であっても2週間以上は生存できない<sup>112,113)</sup>。ペンシルバニア紀とペルム紀初期に、巨大な Synapsid (20~320 kg) によって大きな卵が生産されたと考えられたが<sup>27)</sup>、500gの羊皮状殻卵が水分の1/3を失うのに112日を要する。一方、硬い殻をもつ卵はこの条件下では、わずかな水分を失うだけであり、長期間生存することができる。ペルム紀末から三疊紀にかけての段階的な乾燥化は、三疊紀に出現した恐竜の卵殻を硬くしていったと考えられる<sup>31,36,104)</sup>。各々の動物における卵のサイズは、有鱗類(トカゲ、ヘビ)(0.06~303g)、カメ(2.6~107g)、ワニ(52~113g)、鳥(0.3~1480g)、絶滅した鳥類である Aepyornis (4kg)、そして恐竜(5.5kg)である<sup>114~116)</sup>。また初期 Synapsid は、大きな卵を産んだであろうと考えられるが、卵を産む哺乳類である単孔類では1.5~2gである<sup>10)</sup>。

### 卵の水分摂取

トカゲとヘビの羊皮状卵殻をもつ卵は、環境土壌からの水分吸収によって産まれた後に10~100%の重量の増加をしたと思われる<sup>117,118)</sup>。実際に孵化した子は、産卵時の卵よりも重い<sup>117)</sup>。羊皮状殻卵の利点は拡張能を持つことである。しかし、硬い卵殻の卵では水分摂取は小

さく、その能力を保持していない。産卵後に単孔類の卵が水分を吸収しているかはわからないが、羊皮状の卵殻をもつ有鱗類の卵にとって水分吸収が重要なように、初期 Synapsid の卵においても水分の吸収は重要であったと思われる。硬い卵殻の卵は、水分の吸収による卵の膨張が卵殻にひびを生じさせ、細菌感染を引き起こす可能性があるため、湿潤な環境で抱卵するカイツブリなどの鳥類であっても、水分を通さない卵殻をもっている<sup>119)</sup>。

#### 卵の水分貯蔵

硬い卵殻の卵は、水蒸気ならびに液体水の移動が少ないが、胚形成を行うために産卵時に卵内部に水分を含んでいる<sup>113)</sup>。そのような卵において、水分は最初卵白層に貯蔵され、ついで卵黄に移動する<sup>113)</sup>。鳥類、ワニ、カメ、ヤモリの卵は、卵内部に水分を含んでいる endohydric であるが、有鱗類（トカゲ、ヘビ）の卵は、水分を外部環境から吸収する ectohydric である。

羊皮状の卵は ectohydric である。サイズの大きな卵は、前述したように表面積に対する容積比で水分保持にとって有利である<sup>113)</sup>。ニシキヘビ属 (*Python molurus*) の卵は現生の最も大きな羊皮状卵で (230 g)、この大きなサイズのために水蒸気導度が低い<sup>110,120)</sup>。さらに、イグアナの卵が乾燥した土壌でも生存し<sup>113)</sup>、またニシキヘビの卵が土の上で抱卵される<sup>121)</sup>といったことは、これらの産む大きな卵が、水分保持を可能にしていると思われる。ペルム紀後期と三畳紀における地球の乾燥化は、Synapsid の卵の巨大化を促進したかもしれない<sup>31,122)</sup>。

#### 内温性および抱卵

##### 鳥類と哺乳類における抱卵の対比

内温性また高代謝率による高体温を維持する2つの系統（鳥類と哺乳類）にとって、内温性は高い温度で抱卵する機会を提供し、これによって急速な成長と発生および抱卵期間の短縮を促進した。

一方、外温性動物である有鱗類（トカゲ、ヘビ）、カメ、ワニなどは、一般環境よりもより適した高温な環境で卵を維持する抱卵戦略をとる<sup>121,123,124)</sup>。すなわち、(1) 日当たりのよい巣の位置の選択、(2) 温度が変動しない深さに卵をうめる、(3) 巣への発酵性植物の使用、(4) ニシキヘビに認められるような卵をかたくまき、ふるえることによる高温の維持、などである。

鳥類はワニと恐竜を含む Archosaurian 系統から進化し、高度に石灰化した卵殻をもっている。硬い卵殻は発達中の胚へ水分貯蔵を解決した<sup>109)</sup>。この卵殻の構造によって、鳥類は内温性の維持と水分損失低下の方向へと適応していった。鳥類の進化とともに卵殻が硬くなり、卵水分損失は初期卵重量の平均約15%になった<sup>125)</sup>。一方、Synapsid は硬い卵殻をもたなかったため、抱卵時

の卵水分損失の問題を解決しなければならなかった。

#### Synapsid はいつ内温性を獲得したか

Synapsid の系統における増加した呼吸速度、高エネルギー消費および内温性の獲得といった哺乳類の特徴への一連の連続的変化は、前述したが、以下のように要約される。

1. Therocephalian（テロケセファラス類）と Cynodont（キノドン類）の前鼻腔における水分保持能のある顎甲介の獲得は高い通気速度と関係する。
2. 多くの Therocephalian（テロケセファラス類）、Dicynodont（ジキノドン類）および Cynodont（キノドン類）における血管の分布した線維層板状骨の獲得は、急速に成長する大きな内温動物の特徴である。
3. Therocephalian（テロケセファラス類）、Dicynodont（ジキノドン類）および Cynodont（キノドン類）における二次口蓋の獲得は、口の中に食物があっても呼吸するのを可能にした。
4. Cynodont（キノドン類）における腰部肋骨の減少により、横隔膜呼吸の進化過程で胸部肋骨と腰部肋骨の機能分化が起こった。
5. Therocephalian（テロケセファラス類）、Dicynodont（ジキノドン類）および Cynodont（キノドン類）での骨盤および後肢骨の変化は腹這いから直立姿勢への変化を促進し、直立歩行は運動機能を発達させ、それにともない代謝を増加させたかもしれない。
6. Cynodont（キノドン類）における下顎骨の構造的変化と多様な歯列の変化は、活発な捕食者としての進化を示している。

Hillenius (1994)<sup>126)</sup>と Ruben (1995)<sup>127)</sup>は代謝率の上昇は、ペルム紀後期の Therocephalians に始まり、三畳紀のより進化した Cynodonts において内温性が獲得されたと推論している。

#### 羊皮状殻卵による水分損失制限としての抱卵嚢

初期 Synapsid は卵の水分損失を最小にするために湿潤な大地に卵を埋めた。三畳紀のいくつかの Dicynodont（ジキノドン類）、Cynodont（キノドン類）は相対湿度の高い巣穴に生息した<sup>128)</sup>。

一方内温性でないニシキヘビ (*Python molurus*) は、抱卵時の温度を保持するためのユニークな戦略をもっている<sup>121,129,130)</sup>。すなわち、ニシキヘビの雌は引き締まったとぐろの中に卵を取り込み、ふるえることで外部から卵を温める。環境温度が下がるにつれてとぐろは一層きつくなり、巣内の CO<sub>2</sub> 増加によって巣と外部環境の間の空気の交換は制限される<sup>121)</sup>。

大半の Synapsid は卵をきつく取り囲むような体型をしていないが、現生の単孔類の抱卵囊の獲得は、抱卵時の温度の均一化と水分保持においてニシキヘビのとくろと類似した環境を導いた<sup>131</sup>。ハリモグラの抱卵中の卵は、抱卵囊内部と同じ温度と相対湿度をもち、母親からの水分補給によって水分損失は最小に抑えられる<sup>10</sup>。ハリモグラはよく発達した抱卵囊内において、正常体温の32°Cで抱卵する。一方、カモノハシは抱卵囊をもたず<sup>10</sup>、高湿度を維持するための巣材をつめ込んだ巣穴を水辺に作る<sup>87</sup>。そしてカモノハシは、巣の中で平らな尾によって腹の上の卵を覆うことで抱卵囊様の囲みを作り、おおむけになって横たわる<sup>87</sup>。巣穴温度が20°Cの時、カモノハシの表面温度は30~32°Cであり、巣の中の湿度は飽和に近い<sup>10</sup>。卵はカモノハシ、ハリモグラとも10~11日間抱卵される。

羊皮状の卵殻をもつ卵にとって、脱水に対する対策として抱卵囊やカモノハシに見られるような孵卵構造は生理学的に重要である。そして、すでに三疊紀の Therapsid においても内温性の抱卵が抱卵囊内で行われたと考えられる。もしそうであるならば、抱卵囊は Therapsid で獲得された哺乳類様の重要な特徴であり、それをサポートする構造として上恥骨が後に発達したと思われる<sup>24,40</sup>。

#### 皮膚分泌と卵の水分

卵の水分損失は皮膚分泌物によって補えるか？

抱卵囊での抱卵は卵を水分損失から保護するが、抱卵している親の移動を制限する。卵が皮膚分泌物から水分を吸収できたなら、親の移動制限を緩和し、卵が巢中に置かれるようになる。Synapsid において、卵の抱卵囊に対する依存性を最小にするために腺分泌を発達させたと考えられる。

鳥類においても皮膚の接触による卵への水分付加が観察されている。すなわち、皇帝ペンギンは、抱卵囊において1つの卵を抱卵する。また卵は、親の足の上に置かれ、低温環境との接触が避けられる<sup>132</sup>。卵は抱卵囊の皮膚と接触し、卵の水分損失はこの接触部分からの水分摂取（おおよそ0.1%）により補われる<sup>133</sup>。

有鱗類（トカゲ、ヘビ）においても卵の水分摂取は行われる。単純な絨毛膜尿膜胎盤と卵黄囊胎盤はガス交換を行い、母体の体液からの鉄分や水分またナトリウム、カルシウムそしてカリウムイオンの摂取を司る<sup>134</sup>。これらの成分の卵輸送へのメカニズムは、まだよく研究されていないが、ニワトリの卵において、尿膜絨毛膜の絨毛膜部分に、その外側の水分やイオンを取り囲んでいると考えられるエンドサイトーシスが認められている<sup>96,135</sup>。同様の輸送メカニズムが羊皮状の卵殻の卵にあるならば、産卵後の卵はイオン摂取を通じて卵への水

分輸送を増加させるかもしれない。

#### 単孔類による液体摂取の証拠

現生の単孔類の卵は、その構造や胚発生において、祖先 Synapsid の卵に関する情報を入手する手がかりを提供する。単孔類の卵は、排卵後、卵管を通過する際に卵殻内部の層を作る緻密な基底層と線維状の rodlet 層に加えて、ムコイドタンパク質（卵白層）の付加を受け、その後子宮へと入る<sup>86,107</sup>。この際の卵直径は4~5 mm である。ついで、胚極で胚盤が発達し、胚葉は卵黄を取り囲むように拡がって上層の外胚葉と下層の内胚葉の二層になる<sup>136</sup>。そして、外胚葉は子宮分泌物摂取のかぎを握る<sup>107,136</sup>。全卵は子宮分泌物の摂取によって急速に大きくなり、産卵前には15~17 mm の直径になる<sup>107</sup>。卵の膨張期に卵によって吸収された子宮分泌物の成分は、抱卵時に分化している胚への栄養源になると考えられる<sup>10,107,136,137</sup>。卵の膨張がほとんど終了した後、卵殻の3番目の厚い基質層が子宮内での最終段階で付着する。子宮内での滞在後半で、中胚葉が外胚葉と内胚葉の二層の胚盤胞間に拡がり、三層の卵黄膜（vitelline membrane）になる<sup>102,107</sup>。（注：Olav Oftedal は vitelline membrane（卵黄膜）を、本来の意味である卵もしくは卵黄を覆う細胞膜としてではなく、卵黄を取り囲む胚葉の膜構造に対して用いている。）産卵前には三層性の臍腸間膜（omphalopleure）あるいは卵黄膜は、胚に近い領域に局在するが、抱卵過程で、それは段階的に胚子と対極の部分を除く卵黄表面の大半に拡がるようになる。Luckett (1977) は、二層性臍腸間膜（omphalopleure）は組織学的に栄養摂取に対して特殊化した器官であり、対照的に三層の卵黄膜における表面の外胚葉層は薄く扁平であり、呼吸ガス交換を促進していると考察した<sup>102</sup>。また血管新生は、中胚葉のみで発達し、胚の対極の二層の膜の部分までは進行しない。

単孔類の抱卵過程における胚の変化も観察されている。三層の卵黄膜は、胚外体腔の拡張によって絨毛膜（外胚葉と非血管中胚葉（胚外中胚葉壁側板））と完全な卵黄囊または内臓葉（内臓葉；内胚葉と血管中胚葉（胚外中胚葉臓側板））に分割する。拡がった尿膜は絨毛膜とあわさり、尿膜絨毛膜となり呼吸に関わる構造を形成する<sup>102,107</sup>。Olav Oftedal は、単孔類の卵は多孔性の卵殻を持ち、また子宮内と抱卵の過程での液体摂取のための部分的、機能的特殊化とそれに適応した外胚葉を保持していると推論する。

抱卵中の卵表面は、産生源のわからない湿った粘着物質で覆われており、産卵後の卵の乳腺毛への付着に関わっている<sup>10,87</sup>。子宮内で十分に発達した卵は三層の卵殻層を持つが<sup>10,86,107,137,138</sup>、産卵後にはカモノハシとハリモグラの両方において外来性物質と有機物質からなる薄

い表面の第四層が認められている<sup>86)</sup>。乾いた最外層は子宮分泌液の残査によるか、乳輪部からの腺分泌物によるかはわからないが、単孔類の乳腺は産卵前にはすでに管構造を獲得しており、抱卵過程での分泌も考えられる。単孔類の卵は、有鱗類の卵との類似性から抱卵過程において、ナトリウム、カルシウム、カリウムなどの栄養物を腺分泌物から吸収していると予想される。

## 推論

羊皮状の卵殻をもつ Synapsid の卵は、抱卵嚢内で水分損失を受けにくい環境を付与された。しかしながら、抱卵嚢での抱卵は親の移動を制限するため、活発な捕食性である三畳紀の Therapsid は抱卵嚢の中で卵を運んでいたとは考えにくい<sup>28)</sup>。したがって、泌乳を介した卵への水分補給がこの時点で確立されており、卵を巢内にとどめていたと予想される。初期 Synapsid において、卵と親の皮膚との接触があったのならば、卵への皮膚腺分泌物の供給は3億年以上も前にさかのぼるであろう。この時期はラクトース合成の起源に対して算出されている時期と一致する。母親の卵への水分提供能力は、内温性への進化にとって有利であったと考えられる。Synapsid における卵への供給システムの確立は、鳥類の祖先における硬い石灰化した卵殻の獲得と同じく、内温性の獲得に有利であったと思われる。

## 要約

ペンシルバニア紀 (>3 億1000万年前) に、有羊膜類である Synapsid は他の系統から分化し、腺を発達させた。乳腺は毛包と会合した祖先型アポクリン腺から発達した。乳腺と毛の関係は単孔類の乳腺に保持されている。また、有袋類における乳腺毛の初期個体発生時の存在とその後の退化に、その証拠が残されている。単孔類の乳頭のない乳腺区分にある mammo-ピロ-脂腺単位の密集した集団は、透水性を示す卵への水分や他の成分の補給のための構造的進化を反映しているかもしれない。ラクトースなどの成分は、初期 Synapsid の祖先アポクリン腺から分泌されていたかもしれない。三畳紀の Therapsid は、複雑な栄養成分を含む乳を分泌し、卵サイズを小さくし、孵化時の新生子の未熟化を引き起こした。乳腺区分に生じた乳頭は、乳腺の毛を退化させた。

乳腺分泌は、羊皮状の卵殻をもつ卵を産む Synapsid で開始されたと考えられる。羊皮状の卵殻をもつ卵は、低湿度の空気にふれた際、急速に水分損失を被る。Synapsid は抱卵嚢の中で抱卵することで卵の乾燥を防いだが、これは母親の行動を制限した。羊皮状の卵殻をもつ卵は、殻を通して液体水分を補給することができる。乳

腺分泌は、本来卵に水分を供給する手段として開始され、Cynodont (キノドン類) において内温性獲得の要因となった。Synapsid の卵は、ナトリウムやカルシウムイオンなどの栄養素を摂取した可能性がある。孔のある卵殻と2層性の卵黄膜は、子宮内での分泌物と抱卵時での乳腺分泌物の摂取を促進したと考えられる。

## 語句説明

Altricial young (未熟な新生子)

孵化後あるいは出生後まもない未熟な状態の子

Amniota (有羊膜類)

ペンシルバニア紀に最初に出現し、羊膜をもつ卵で特徴づけられる Tetrapods 類。この類は Synapsids と Sauropsids の両方を含み、現生の爬虫類 (カメ、ワニ、有鱗目, tuataras), 鳥および哺乳類を含む。

Apocrine (アポクリン)

分泌小胞が細胞膜の頂上から細胞質と細胞膜の断片を伴って膨らみ出るような分泌形式。

Clade (クレード)

共通祖先から派生した特徴をもつ生物のグループとして定義される系統的ユニット。

Cynodonts (キノドン類)

ペルム紀後期に最初に出現し、下顎に大きく広がった歯をもち、胸部と腹部の脊椎および特徴的な頭骨と骨格で他と区別される Therapsids のクレード。このクレードは引き続いて Mammaliaform と哺乳類に進化した。

Diphyodontly (二換歯類)

脱落歯と永久歯の歯の生え替わりをもつ Mammaliaform。

Ectotherm

体内で発生した熱により体温を維持することができない動物であり、それゆえ体温調節を環境からの熱に依存する。外温動物と呼ばれる。

Exocytosis (エキソサイトーシス)

分泌小胞が細胞膜頂上と合体し、小胞内容物を細胞表面から腺腔に放出する分泌過程。

Endotherm

体内で発生した熱により体温を維持できる動物。内温動物と呼ばれる。

Eutherian

機能的な胎盤構造をもつ現生の哺乳類のクレードであり、有胎盤類といわれる。このクレードは世界中に分布しており、すべての家畜と北アメリカ、ユーラシア、アフリカに生息する動物種の大半を含む。白亜紀の最初に出現した。

Holocrine (全分泌)

分泌産物が細胞内に蓄積し、細胞死と細胞構造の破壊によってのみ分泌物を腺腔に遊離される分泌形式。

## Mammalia (哺乳類)

すべての現生の単孔類, 有袋類および真獣類と, その共通祖先と子孫を含む最上位のグループのクレード。現生の Sauropsids とは毛と乳腺の存在で区別されるが, 毛と乳腺の特徴はこのクレードの出現に先立つ。

## Mammaliaform (哺乳形類)

三畳紀後期に最初に出現したキノドン類から出現したクレードで, 歯骨と鱗状骨間での顎関節形成によって区別される。伝統的な習慣ではすべての Mammaliaform は哺乳類と考えられていたが, Mammalia (哺乳類) は Mammaliaform の部分集合と考えられている。

## Monotremata (単孔類)

現生のハリモグラとカモノハシを含む卵生の哺乳類のクレード。現存種はオーストラリアに限られるが, 化石は南アメリカに残る。

## Precocial young

孵化あるいは出生のときにかなり発達した状態である子。

## Sauropsids (竜弓類)

ペンシルバニア紀に最初に出現した有羊膜類のクレードで, 頭骨の側頭領域における2つの外側頭窓の有無によって特徴づけられる。この類はすべての現生の爬虫類と鳥を含む。

## Squamata (有鱗類)

ジュラ紀に出現した有羊膜類のクレードで, 各種の頭骨の減少により高度に可動的になった頭骨により特徴づけられる。現生の系統ではこのクレードはトカゲ, ヘビ, Amphibaenian を含む。

## Synapsids (単弓類)

ペンシルバニア紀に出現した有羊膜類のクレードで頭骨の側頭領域における一つの巨大な窓(外側頭窓)によって特徴づけられる。このクレードは現存の哺乳類に導く進化形(Therapsids, キノドン類, Mammaliaform)を含む。

## Tetrapods

デボニア紀に出現した脊椎動物のクレードであり, 陸地を移動するための肢の骨の巨大化によって特徴づけられる。現生の系統では両生類と有羊膜類を含む。

## Therapsids (獣弓類)

ペルム紀に出現した Synapsids からのクレードで, 頭骨の強化, 下顎骨への筋の付着に対する表面積の増加, およびその他頭骨, 骨格の特徴によって特徴づけられる。原始的な Therapsids はキノドン類を含む Mammaliaform の祖先と考えられている。

## Turbinal (鼻介)

キノドン類や哺乳類を含むいくつかの Therapsids の鼻腔にある軟骨と骨の渦巻き状構造。

## 謝 辞

本論文の作成にあたり, 文部科学省科学研究費(課題番号13575026)ならびに文部科学省21世紀 COE 形成プログラム(A-1ならびにE-1)による研究助成を受けています。本論文の翻訳を許可していただいたスミソニアン動物学研究所 Dr. Olav Oftedal ならびに Kluwer Academic/Plenum Publishers に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) Gregory, W. K. The orders of mammals. Bull. Am. Mus. Nat. Hist., 27, 1-524 (1910).
- 2) Blackburn, D. G., L. J. Vit., C. A. Beuchat. Eutherian-like reproductive specializations in a viviparous reptile. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 81, 4860-4863 (1984).
- 3) Blackburn, D. G. Convergent evolution of viviparity, matrotrophy, and specializations for fetal nutrition in reptiles and other vertebrates. Am. Zool., 32, 313-321 (1992).
- 4) Fishelson, L., A. Baranes. Observations on the Oman shark, *Iago omanensis* (Triakidae), with emphasis on the morphological and cytological changes of the oviduct and yolk sac during gestation. J. Morphol., 236, 151-165 (1998).
- 5) Wake, M. M. Evolution of oviductal gestation in amphibians. J. Exp. Zool., 266, 394-413 (1993).
- 6) Wourms, J. P. Viviparity: The maternal-fetal relationship in fishes. Am. Zool., 21, 473-515 (1981).
- 7) Darwin, C. On the origin of Species by Means of Natural Selection, 6<sup>th</sup> edn. Appleton-Century-Crofts, New York (1872).
- 8) Owen, R. On the mammary glands of the *Ornithorhynchus paradoxus*. Philos. Trans. R. Soc. Lond. 1832, 517-538 (1832).
- 9) Moyal, A. Platypus: The Extraordinary story of how a Curious Creature Baffled the World, Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. (2001).
- 10) Griffiths, M. Biology of the Monotremes, Academic Press, New York (1978).
- 11) Gegenbauer, C. Zur Kenntniss der Mammarorgane der Monotremen, W. Engelmann, Leipzig, Germany (1886).
- 12) Bresslaw, E. Die Entwicklung des Mammarpanates der Monotremen, Marsupialier und

- einiger Placentaler. 1. Entwicklung und Ursprung des Mammarapparates von Echidna. *Jenaische Denkschr.*, **7**, 459–518 (1907).
- 13) Haldane, J. B. S. The origin of lactation. *Rationalist Ann.* 1964, 19–30 (1964).
  - 14) Haldane, J. B. S. The possible evolution of lactation. *Zool Jb. Syst.*, **92**, 41–48 (1965).
  - 15) Long, C. A. The origin and evolution of mammary glands. *Bioscience*, **19**, 519–523 (1969).
  - 16) Long, C. A. Two hypotheses on the origin of lactation. *Am. Nat.*, **106**, 141–144 (1972).
  - 17) Hopson, J. A. Endothermy, small size, and the origin of mammalian reproduction. *Am. Nat.*, **107**, 446–452 (1973).
  - 18) Graves, B. M., D. Duvall. A role of aggregation pheromones in the evolution of mammal-like reptile lactation. *Am. Nat.*, **122**, 835–839 (1983).
  - 19) Duvall, D. A new question of pheromones: Aspects of chemical signaling and reception in the mammal-like reptiles. In N. Hotton, P. D. MacLean, J. J. Roth, E. C. Roth (eds.), *The Ecology and Biology of Mammal-Like Reptiles*, Smithsonian Institution Press, Washington, DC, pp. 219–238 (1986).
  - 20) Guillette, L. J., N. Hotton, The evolution of mammalian reproductive characteristics in therapsid reptiles. In N. Hotton, P. D. MacLean, J. J. Roth, E. C. Roth (eds.), *The Ecology and Biology of Mammal-Like Reptiles*, Smithsonian Institution Press, Washington, DC, pp. 239–250 (1986).
  - 21) Hayssen, V., D. G. Blackburn.  $\alpha$ -Lactalbumin and the origins of lactation. *Evolution*, **39**, 1147–1149 (1985).
  - 22) Blackburn, D. G., V. Hayssen, C. J. Murphy. The origin of lactation and the evolution of milk: A review with new hypotheses. *Mammal. Rev.*, **19**, 1–26 (1989).
  - 23) Blackburn, D. G. Evolutionary origins of the mammary gland. *Mammal. Rev.*, **21**, 81–98 (1991).
  - 24) Ji, Q., Z. X. Luo, C. X. Yuan, J. R. Wible, J. P. Zhang, J. A. Georgi. The earliest known eutherian mammal. *Nature*, **416**, 816–822 (2002).
  - 25) Packard, M. J., R. S. Seymour. Evolution of the amniote egg. In S. S. Sumida and K. L. M. Martin (eds.), *Amniote Origins: Completing the Transition to Land*. Academic Press, San Diego, CA, pp. 265–290 (1997).
  - 26) Berman, D. S., S. S. Sumida, R. E. Lombard. Biogeography of primitive amniotes. In S. S. Sumida and K. L. M. Martin (eds.), *Amniote Origins: Completing the Transition to Land*, Academic Press, San Diego, CA, pp. 85–139 (1997).
  - 27) Romer, A. S., L. W. E. Price. Review of the Pelycosauria. *Geol. Soc. Am. Spec. Pap.*, **28**, 1–538 (1940).
  - 28) Kemp, T. S. *Mammal-Like Reptiles and the Origin of Mammals*, Academic Press, London (1982).
  - 29) Carroll, R. L. *Vertebrate Paleontology and Evolution*. W. H. Freeman, New York (1988).
  - 30) Oftedal, O. T. The origin of lactation as a water source for parchment-shelled eggs. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **7**, 253–266 (2002).
  - 31) Erwin, D. H. *The Great Paleozoic Crisis: Life and Death in the Permian*. Columbia University Press, New York (1993).
  - 32) King, G. *The Dicynodonts: A Study in Palaeobiology*. Chapman and Hall, London (1990).
  - 33) Maier, W., J. van den Haever, F. Durand. New therapsid specimens and the origin of the secondary hard and soft palate of mammals. *J. Zool. Syst. Evol. Res.*, **34**, 9–19 (1996).
  - 34) Hopson, J. A. Synapsid evolution and the radiation of non-eutherian mammals. In D. B. Prothero and R. M. Schoch (eds.), *Major Features of Vertebrate Evolution*, Paleontological Society, Knoxville, TN, pp. 190–219 (1994).
  - 35) Sidor, C. A., J. A. Hopson. Ghost lineages and “mammalness”: Assessing the temporal pattern of character acquisition in the Synapsida. *Paleobiology*, **24**, 254–273 (1998).
  - 36) Benton, M. J. *Vertebrate Paleontology*, 2nd edn., Chapman & Hall, London (1997).
  - 37) Luo, Z.-X., A. W. Crompton, A.-L. Sun. A new mammaliaform from the early Jurassic and evolution of mammalian characteristics. *Science*, **292**, 1535–1540 (2001).
  - 38) Crompton, A. W., C. R. Taylor, J. A. Jagger. Evolution of homeothermy in mammals. *Nature*, **272**, 333–336 (1978).
  - 39) White, T. D. An analysis of epipubic bone function in mammals using scaling theory. *J. Theor. Biol.*, **138**, 343–357 (1989).
  - 40) Novacek, M. J., G. W. Rougier, J. R. Wible, M. C. McKenna, D. Dashzeveg, I. Horovitz. Epipubic

- bones in eutherian mammals from the Late Cretaceous of Mongolia. *Nature*, **389**, 483–486 (1997).
- 41) Lillegraven, J. A. Reproduction in Mesozoic mammals. In J. A. Lillegraven, Z. Kielan-Jaworowska, W. A. Clemens (eds.), *Mesozoic Mammals: The First Two-Thirds of Mammalian History*, University of California Press, Berkeley, CA, pp. 259–276 (1979).
  - 42) Hu, Y., Y. Wang, Z. Luo, C. Li. A new symmetrodont mammal from China and its implications for mammalian evolution. *Nature*, **390**, 137–142 (1997).
  - 43) Qiang, J., L. Zhexi, J. Shu-an. A Chinese triconodont mammal and mosaic evolution of the mammalian skeleton. *Nature*, **398**, 326–330 (1999).
  - 44) Kermack, K. A. Tooth replacement in mammal-like reptiles of the suborders Gorgonopsida and Therocephalia. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.*, **B670**, 95–133 (1956).
  - 45) Crompton, A. W., Z. Luo. Relationships of the Liassic mammals *Sinoconodon*, *Morganucodon oehleri*, and *Dinnetherium*. In F. S. Szalay, M. J. Novacek, M. C. McKenna (eds.), *Mammal Phylogeny: Mesozoic Differentiation, Multituberculates, Monotremes, Early Therians, and Marsupials*. Springer-Verlag, New York, pp. 30–44 (1993).
  - 46) Luo, Z.-X., R. L. Cifelli, Z. Kielan-Jaworowska. Dual origin of tribosphenic mammals. *Nature*, **409**, 53–57 (2001).
  - 47) Pond, C. M. The significance of lactation in the evolution of mammals. *Evolution*, **31**, 177–199 (1977).
  - 48) Frolich, L. M. The role of the skin in the origin of amniotes: Permeability barrier protective covering and mechanical support. In S. S. Sumida and K. L. M. Martin (eds.), *Amniote Origins: Completing the Transition to Land*, Academic Press, San Diego, CA, pp. 327–352 (1997).
  - 49) Lillywhite, M. B., P. F. A. Mederson. Skin structure and permeability. In C. Gans and F. H. Pough (eds.), *Biology of the Reptilia*, Vol. 12: *Physiology C: Physiological Ecology*, Academic Press, New York, pp. 397–442 (1982).
  - 50) Spearnan, R. I. C. *The Integument: A Textbook of Skin Biology*, Cambridge University Press, Cambridge, England (1973).
  - 51) Duellman, W. E., L. Trueb. *Biology of Amphibians*, Johns Hopkins University Press, Baltimore (1994).
  - 52) Delfino, G., R. Brizzi, R. Kracke-Berndorff, B. Alvarez. Serous gland dimorphism in the skin of *Melanophryniscus stelzneri* (Anura: Bufonidae). *J. Morphol.*, **237**, 19–32 (1998).
  - 53) Clarke, B. T. The natural history of amphibian skin secretions, their normal functioning and potential medical applications. *Biol. Rev.*, **72**, 365–379 (1997).
  - 54) Buttemer, W. A. Effect of temperature on evaporative water loss of the Australian tree frogs *Litoria caerulea* and *Litoria chloris*. *Physiol. Zool.*, **63**, 1043–1057 (1990).
  - 55) Blaylock, L. A., R. Ruibal, K. Platt-Aloia. Skin structure and wiping behavior of Phyllomedusine frogs. *Copeia* 1976, 283–295 (1976).
  - 56) Madderson, P. F. A., T. Rabinowitz, B. Tandler, L. Alibardi. Ultrastructural contributions to an understanding of the cellular mechanisms involved in lizard skin shedding with comments on the function and evolution of a unique lepidosaurian phenomenon. *J. Morphol.*, **236**, 1–24 (1998).
  - 57) Oldak, P. D. Comparison of the scent gland secretion lipids of twenty-five snakes: Implications for biochemical systematics. *Copeia* 1976, 320–326 (1976).
  - 58) Quay, W. B. The skin of reptiles: Glands. In J. Bereiter-Hahn, A.G. Matoltsy and K. S. Richards (eds.), *Biology of the Integument*, Vol. 2: *Vertebrates*, Springer Verlag, Berlin, pp. 188–193 (1986).
  - 59) Prum, R. O. Development and evolutionary origin of feathers. *J. Exp. Zool.*, **285**, 291–306 (1999).
  - 60) Stettenheim, P. R. The integumentary morphology of modern birds—An overview. *Am. Zool.*, **40**, 461–477 (2000).
  - 61) Wheatley, V. R. *The Physiology and Pathophysiology of the Skin*. Vol. 9: *The Sebaceous Glands*, Academic Press, London (1986).
  - 62) Chudinov, P. K. Structure of the integuments of theromorphs. *Dokl. Acad. Sci. U.S.S.R. Earth Sci. Sect.*, **179**, 226–229 (1968).
  - 63) Craigmyle, M. B. L. *The Apocrine Glands and the Breast*, Wiley, Chichester, England (1984).
  - 64) Harlow, M. J. *The influence of Hardarian gland*



- removal and fur lipid removal on heat loss and water flux to and from the skin of muskrats, *Onychomys leucogaster*. *Physiol. Zool.*, **57**, 349-356 (1984).
- 65) Montagna, W., R. A. Ellis. Sweat glands in the skin of *Ornithorhynchus paradoxus*. *Anat. Rec.*, **137**, 271-277 (1960).
- 66) Montagna, W., P. F. Parakkal. *The Structure and Function of Skin*, 3<sup>rd</sup> edn., Academic Press, New York (1974).
- 67) Alberts, B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter. *Molecular Biology of the Cell*, 4<sup>th</sup> edn., Garland Science, New York (2002).
- 68) Raynaud, A. Morphogenesis of the mammary gland. In S. K. Kon and A. T. Cowie (eds.), *Milk: The Mammary Gland and Its Secretion*, Vol. 1, Academic Press, New York, pp. 3-46 (1961).
- 69) Robinson, G. W., A. B. C. Karpf, K. Kratochwil. Regulation of mammary gland development by tissue interaction. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.*, **4**, 9-19 (1999).
- 70) Neville, M. C., D. Medina, J. Monks, R. C. Hovey. Editorial commentary. The mammary fat pad. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **3**, 109-116 (1998).
- 71) Buzell, G. R. The Harderian gland: Perspectives. *Microsc. Res. Tech.*, **34**, 2-5 (1996).
- 72) Seyama, Y., H. Ohtsuka, K. Ohashi, B. Vivien-Roels, P. Pevet. Sexual diversity of the lipid metabolism in the Harderian gland of the golden hamster. *Microsc. Res. Tech.*, **34**, 71-76 (1996).
- 73) Mather, I. H., T. W. Keenen. Origin and secretion of milk lipids. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **3**, 259-273 (1998).
- 74) Wooding, F. B. P. Lipid droplet secretion by the rabbit Harderian gland. *J. Ultrastruct. Res.*, **71**, 68-78 (1980).
- 75) Bresslau, E. *The Mammary Apparatus of the Mammalia in Light of Ontogenesis and Phylogenesis*. Methuen, London (1920).
- 76) Griffiths, M. *Echidnas*, Pergamon Press, Oxford, England (1968).
- 77) Griffiths, M., D. L. McIntosh, R. E. A. Coles. The mammary gland of the echidna, *Tachyglossus aculeatus*, with observations on the incubation of the egg and on the newly-hatched young. *J. Zool. Lond.*, **158**, 371-386 (1969).
- 78) Griffiths, M., M. A. Elliott, R. M. C. Leckie, G. I. Scoeff. Observations of the comparative anatomy and ultrastructure of mammary glands and on the fatty acids of the triglycerides in platypus and echidna milk fats. *J. Zool. Lond.*, **169**, 255-279 (1973).
- 79) Bresslau, E. Die Entwicklung des Mammarapparates der Monotremen, Marsupialer und einiger Placentaler. III. Entwicklung des Mammarapparates der Marsupialer, Insectivoren, Nagathiere, Carnivoren und Wiederkauer, *Jenaische Denkschr.*, **7**, 647-874 (1912).
- 80) Gould, S. J. *Ontogeny and Phylogeny*, Harvard University Press, Cambridge, MA (1977).
- 81) Mayr, E. Recapitulation reinterpreted: The somatic program. *Q. Rev. Biol.*, **64**, 223-232 (1994).
- 82) Tyndale-Biscoe, H., M. Renfree. *Reproductive Physiology of Marsupials*, Cambridge University Press, Cambridge, UK (1987).
- 83) Sakakura, T. Mammary embryogenesis. In M. C. Neville and C. W. Daniel (eds.), *The Mammary Gland: Development, Regulation, and Function*, Plenum, New York, pp. 36-66 (1987).
- 84) Howard, B. A., B. A. Gusterson. Human breast development. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **5**, 119-137 (2000).
- 85) Anonymous. Legless amphibians nurse their young. *Science*, **283**, 623 (1999).
- 86) Hill, J. P. The development of the Monotremata. Part ii. The structure of the eggshell. *Trans. Zool. Soc. Lond.*, **21**, 443-477 (1933).
- 87) Burrell, H. *The Platypus*, Rigby, Adelaide, Australia (1974).
- 88) White, H. B. Maternal diet, maternal proteins and egg quality. In D. C. Deeming and M. W. J. Ferguson (eds.), *Egg Incubation: Its Effects on Embryonic Development in Birds and Reptiles*. Cambridge University Press, Cambridge, England, pp. 1-15 (1991).
- 89) Newburg, D. S. Oligosaccharides and glycoconjugates in human milk: Their role in host defense. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **1**, 271-283 (1996).
- 90) Urashima, T., T. Saito, T. Nakamura, M. Messer. Oligosaccharides of milk and colostrum in non-human mammals. *Glycoconj. J.*, **18**, 357-371 (2001).
- 91) Fredericks, L. P., J. R. Dankert. Antibacterial

- and hemolytic activity of the skin of the terrestrial salamander, *Plethodon cinereus*. *J. Exp. Zool.*, **287**, 340-345 (2000).
- 92) Messer, M., T. Urashima. Evolution of milk oligosaccharides and lactose. *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **14**, 153-176 (2002).
- 93) Charron, M., J. H. Shaper, N. L. Shaper. The increased level of  $\beta$ 1,4-galactosyltransferase required for lactose biosynthesis is achieved in part by translational control. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 14805-14810 (1998).
- 94) Shaper, N. L., M. Charron, N.-W. Lo, J. H. Shaper.  $\beta$ 1,4-Galactosyltransferase and lactose biosynthesis: Recruitment of a housekeeping gene from the nonmammalian vertebrate gene pool for a mammary gland specific function. *J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia*, **3**, 315-324 (1998).
- 95) Linzell, J. L., M. Peaker. Mechanism of milk secretion. *Physiol. Rev.*, **51**, 564-597 (1971).
- 96) Packard, M. J., N. B. Clark. Aspects of calcium regulation in embryonic lepidosaurians and chelonians and a review of calcium regulation in embryonic archosaurians. *Physical. Zool.*, **69**, 435-466 (1996).
- 97) Ginger, M. R., M. R. Grigor. Comparative aspects of milk caseins. *Comp. Biochem. Physiol.*, **B124**, 133-145 (1999).
- 98) Green, B., K. Newgrain, J. Merchant. Changes in milk composition during lactation in the tamar wallaby (*Macropus eugenni*). *Aust. J. Biol. Sci.*, **33**, 35-42 (1980).
- 99) Crisp, E. A., M. Messer, J. L. VandeBerg. Changes in milk carbohydrates during lactation in a didelphid marsupial, *Monodelphis domestica*. *Physiol. Zool.*, **62**, 1117-1125 (1989).
- 100) Green, B., W. J. Krause, K. Newgrain. Milk composition in the North America opossum (*Didelphis virginiana*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **B113**, 619-623 (1996).
- 101) Oftedal, O. T. The mammary gland and its origin during synapsid evolution. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **7**, 225-252 (2002).
- 102) Luckett, W. P. Ontogeny of amniote fetal membranes and their application to phylogeny. In M. K. Hecht, P. C. Goody, B. M. Hecht (eds.), *Major Patterns in Vertebrate Evolution*, Plenum, New York, pp. 439-516 (1977).
- 103) Stewart, J. R. Morphology and evolution of the egg of oviparous amniotes. In S. S. Sumida and K. L. M. Martin (eds.), *Amniote Origins: Completing the Transitions to Land*, Academic Press, San Diego, CA, pp. 291-326 (1997).
- 104) Hirsch, K. F. The fossil record of vertebrate eggs. In S. Donovan (ed.), *The Paleobiology of Trace Fossils*, Wiley, London, pp. 269-294 (1994).
- 105) Carpenter, K., K. F. Hirsch, J. R. Horner (eds.) *Dinosaur Eggs and Babies*, Cambridge University Press, Cambridge, England (1994).
- 106) Hirsch, K. F., D. K. Zelenitsky. Dinosaur eggs. In J. O. Farlow and B. K. Brett-Surman (eds.), *The Complete Dinosaur*, Indiana University Press, Bloomington, IN, pp. 394-402 (1997).
- 107) Hughes, R. L. Monotreme development with particular reference to the extraembryonic membranes. *J. Exp. Zool.*, **266**, 480-494 (1993).
- 108) Packard, G. C., M. J. Packard. The physiological ecology of reptilian eggs and embryos. In C. Gans and R. B. Huey (eds.), *Biology of the Reptilia: Vol. 16B. Defense and Life History*, Alan R. Liss, New York, pp. 523-605 (1988).
- 109) Ar, A. Roles of water in eggs. In D. C. Deeming and M. W. J. Ferguson (eds.), *Egg Incubation: Its effects on Embryonic Development in Birds and Reptiles*, Cambridge University Press, Cambridge, England, pp. 229-243 (1991).
- 110) Deeming, D. C., M. B. Thompson. Gas exchange across reptilian eggshells. In D. C. Deeming and M. W. J. Ferguson (eds.), *Egg Incubation: Its Effects on Embryonic Development in Birds and Reptiles*, Cambridge University Press, Cambridge, England, pp. 277-284 (1991).
- 111) Ackerman, R. A., R. Dmi'el, A. Ar. Energy and water vapor exchange by parchment-shelled reptile eggs. *Physiol. Zool.*, **58**, 129-137 (1985).
- 112) Carey, C. Tolerance of variation in eggshell conductance, water loss, and water content by red-winged blackbird embryos. *Physiol. Zool.*, **59**, 109-122 (1986).
- 113) Tracy, C. R., H. L. Snell. Interrelation among water and energy relations of reptilian eggs, embryos and hatchlings. *Am. Zool.*, **25**, 999-1008 (1985).
- 114) Iverson, J. B., M. A. Ewert. Physical characteristics of reptilian eggs and a comparison with avian eggs. In D. C. Deeming and M. W. J. Ferguson

- (eds.), *Egg Incubation: Its Effects on Embryonic Development in Birds and Reptilians*, Cambridge University Press, Cambridge, England, pp. 87-100 (1991).
- 115) Smart, I. H. M. Egg-shape in birds. In D. C. Deeming and M. W. F. Ferguson (eds.), *Egg Incubation: Its Effects on Embryonic Development in Birds and Reptiles*, Cambridge University Press, Cambridge, England, pp. 101-116 (1991).
- 116) Coombs, W. P. Modern analogs for dinosaur nesting and parental behavior. In J. O. Farlow (ed.), *Paleobiology of the Dinosaurs*, Special Paper 238, The Geological Society of America, Boulder, CO, pp. 21-53 (1989).
- 117) Muth, A. Water relations of desert iguana (*Dipsosaurus dorsalis*) eggs. *Physiol. Zool.*, **54**, 441-451 (1981).
- 118) Vleck, D. Water economy and solute regulation of reptilian and avian embryos. In D. C. Deeming and M. W. J. Ferguson (eds.), *Egg Incubation: Its Effects on Embryonic Development in Birds and Reptiles*, Cambridge University Press, Cambridge, England, pp. 245-259 (1991).
- 119) Sotherland, P. R., M. D. Ashen, R. D. Shuman, C. R. Tracy. The water balance of bird eggs incubated in water. *Physiol. Zool.*, **57**, 338-348 (1984).
- 120) Black, C. P., G. F. Birchard, G. W. Schuett, V. D. Black. Influence of incubation substrate water content on oxygen uptake in embryos of the Burmese python (*Python molurus*). In R. S. Seymour (ed.), *Respiration and Metabolism of Embryonic Vertebrates*, W. Junk, Dordrecht, The Netherlands, pp. 137-145 (1984).
- 121) Van Mierop, L. H. S., S. M. Barnard. Further observations on thermoregulation in the brooding female *Python molurus bivittatus* (Serpentes: Boidae). *Copeia* 1978, 615-621 (1978).
- 122) Michaelson, P. Mass extinction of peat-forming plants and the effect on fluvial styles across the Permian-Triassic boundary, northern Bowen Basin, Australia, *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.*, **179**, 173-188 (2002).
- 123) Deeming, D. C., M. W. J. Ferguson. Physiological effects of incubation temperature on embryonic development in reptiles and birds. In D. C. Deeming and M. W. J. Ferguson (eds.), *Egg Incubation: Its Effects on Embryonic Development in Birds and Reptiles*, Cambridge University Press, Cambridge, England, pp. 147-171 (1991).
- 124) Harlow, P., G. Grigg. Shivering thermogenesis in a brooding diamond python, *Python spilotes spilotes*. *Copeia* 1984, 959-965 (1984).
- 125) Ar, A., H. Rahn. Water in the avian egg: Overall budget of incubation. *Am. Zool.*, **20**, 373-384 (1980).
- 126) Hillenius, W. J. Turbinates in therapsids: Evidence for late Permian origins of mammalian endothermy. *Evolution*, **48**, 207-229 (1994).
- 127) Ruben, J. The evolution of endothermy in mammals and birds: From physiology to fossils. *Ann. Rev. Physiol.*, **57**, 69-95 (1995).
- 128) Groenewald, G. H., J. Welman, J. A. MacEachern. Vertebrate burrow complexes from the early Triassic Cynognathus Zone (Driekoppen Formation, Beaufort Group) of the Karoo Basin, South Africa. *Palaios*, **16**, 148-160 (2001).
- 129) Benedict, F. G. *The Physiology of Large Reptiles With Special Reference to the Heat Production of Snakes, Tortoises, Lizards and Alligators*, Carnegie Institution of Washington, Washington, DC (1932).
- 130) Van Mierop, L. H. S., S. M. Barnard. Thermoregulation in a brooding female *Python molurus bivittatus* (Serpentes: Boidae). *Copeia* 1976, 398-401 (1976).
- 131) Randall, D., B. Gannon, S. Runciman, R.V. Baudinette. Gas transfer by the neonate in the pouch of the tammar wallaby, *Macropus eugenii*. In R. S. Seymour (ed.), *Respiration and Metabolism of Embryonic Vertebrates*, W. Junk, Dordrecht, The Netherlands, pp. 423-436 (1984).
- 132) Handrich, Y. Incubation water loss in king penguin egg. I. Change in egg and brood pouch parameters. *Physiol. Zool.*, **62**, 96-118 (1989).
- 133) Handrich, Y. Incubation water loss in king penguin egg. II. Does the brood patch interfere with eggshell conductance? *Physiol. Zool.*, **62**, 119-132 (1989).
- 134) Stewart, J. R., M. B. Thompson. Evolution of placentation among squamate reptiles: Recent research and future directions. *Comp. Biochem. Physiol.*, **A127**, 411-431 (2000).
- 135) Dunn, B. E., T. P. Fitzharris. Endocytosis in the embryonic chick chorionic epithelium. *J. Exp. Zool. (Suppl. 1)* **1**, 75-79 (1987).

- 136) Flynn, T. T., J. P. Hill. The development of the Monotremata. Part VI. The later stages of cleavage and the formation of the primary germ layers. *Trans. Zool. Soc. Lond.*, **26**, 1-151 (1947).
- 137) Hughes, R. L. Structural adaptations of the eggs and fetal membranes of monotremes and marsupials for respiratory and metabolic exchange. In R. S. Seymour (ed.), *Respiration and Metabolism of Embryonic Vertebrates*, W. Junk, Dordrecht, The Netherlands, pp. 389-421 (1984).
- 138) Hughes, R. L. Egg membranes and ovarian function during pregnancy in monotremes and marsupials. In J. H. Calaby and C.H. Tyndale-Biscoe (eds.), *Reproduction and Evolution. Proceedings of the Fourth Symposium on Comparative Biology of Reproduction*, held in Canberra, December 1976, Australian Academy of Science, Canberra City, Australia, pp. 281-291 (1977).