

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K19424

研究課題名(和文)哺乳類の転移因子がもたらした形態形成遺伝子の発現制御システムの探索

研究課題名(英文)Exploration of gene regulatory systems rewired by mammalian transposable elements.

研究代表者

西原 秀典(Nishihara, Hidenori)

東京工業大学・生命理工学院・助教

研究者番号：10450727

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、転移因子レトロポゾンによって様々なタンパク質の結合サイトが拡散増幅され哺乳類の形態進化に関与するシス制御配列が増大したことを明らかにした。特に乳腺形成に必須な転写活性化因子が結合するエンハンサーのうち3分の1が転移因子に由来したこと、またそれらが真獣類の祖先および真猿類の祖先における転移因子の増幅によって生じたことが明らかになった。これによりレトロポゾンによる転写活性化因子の結合サイトの拡大が哺乳類共通の形態進化に深く寄与したことが明らかになった。この研究を通し、大規模な遺伝子制御機構の進化には転移因子が多大な影響を及ぼしてきたことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般に転写活性化因子の結合サイトの新規獲得は単純な塩基置換の蓄積で説明されることが多い。転移因子がゲノム中で数万コピーもの結合サイトを増幅する可能性は以前から指摘されていたが、生物進化におけるその寄与の程度は分かっていなかった。今回その割合とともに哺乳類共通の形態進化に関わるシス調節配列の増大に寄与したことを初めて明らかにした。これにより発現調節ネットワークの改変とそれに伴う形態進化には従来考えられてきたような塩基置換だけでなく転移因子の増幅が深く関係することが明らかになり、今後転移因子の存在意義と生物進化における影響を再考する上で極めて重要な知見となった。

研究成果の概要(英文)：This study revealed that transposable elements such as retroposons amplified the seed sequences for cis-regulatory elements involved in mammalian morphological evolution by increasing binding sites for various transcription factors. In particular, one-third of the enhancers to which transcriptional activators essential for mammary gland formation bind were derived from transposable elements. These were caused by the two-phased amplifications of retroposons in the common ancestors of eutherians and simian primates. Thus, retroposon-mediated functional sequence expansion contributed profoundly to the common mammalian morphological evolution. Through this study, it was shown that transposable elements had a significant impact on the evolution of large-scale gene regulatory mechanisms.

研究分野：ゲノム進化学

キーワード：転移因子 哺乳類 乳腺

1. 研究開始当初の背景

転移因子レトロポゾンとはゲノム中で自身のコピー配列を増幅し、ヒトゲノムの 45% を占めている。従来、これらはゲノムの寄生因子として認識されてきた。しかし一部のレトロポゾン配列が進化の過程でエンハンサー機能を獲得し、脳梁や二次口蓋など哺乳類特有の形態形成に関与してきたことが明らかになってきた。ただしこれらのレトロポゾンは組織ごとに異なるエンハンサー活性を有することから、哺乳類の祖先で転移した後、偶発的にそれぞれ異なるエンハンサー機能を獲得してきたものであり、レトロポゾンが元来持つ共通機能が生物進化に寄与したものではないと考えられている。したがって従来のアプローチでは、ゲノム全体でどれほど多くの転移因子が生物進化に寄与してきたのか、その全体像が見えてこないのが難点であった。一方近年では転移因子の一部の種類が特定の転写活性化因子の結合サイトを拡散増幅させ、それによって多数のエンハンサーが生じた事例が報告されている。しかしこうした研究では転移因子由来のエンハンサーが生物の形態進化に寄与したのかどうかは議論されてこなかった。

これらを総合すると、転移因子が元来持つ転写活性化因子の結合サイトが転移によって過去に増幅された結果、細胞分化や組織発生に関わる膨大なエンハンサーが生じた可能性が考えられる。しかしこの仮説に対する具体的なアプローチは世界的にもこれまでおこなわれておらず、大きな課題として残されている。

2. 研究の目的

近年までに、レトロポゾン配列の一部が進化の過程でエンハンサー機能を獲得して哺乳類の形態進化に寄与したこと、レトロポゾンの一部の種類が特定の転写活性化タンパク質の結合サイトを拡散増幅し多数の共通機能エンハンサーのシード配列を増大したことが明らかになっている。この 2 点を踏まえ、本研究では転移因子レトロポゾンが様々なタンパク質の結合サイトを拡散増幅し、哺乳類の形態の進化多様性に関するシス制御配列を増大させたことを明らかにすることを目的とした。そのために乳腺のような哺乳類に特徴的な組織・細胞における様々な転写活性化タンパク質の結合サイトをレトロポゾンの観点から解析し、レトロポゾンがその細胞の分化発生に関わるシス制御配列を生み出したことを明らかにした。この研究により、転移因子が大規模な発現制御システムを創発し、生物の進化多様性に深く寄与したことを明らかにすることを試みた。これを解明することにより、生物の形態進化と多様性増大において転移因子を利用することが如何に重要であったのか、その全体像を明らかにすること、さらには転移因子を介した大規模な発現制御システムの創発と哺乳類の形態的な進化多様性研究を結びつけた研究の展開を目指した。

3. 研究の方法

代表的な哺乳類特有の組織として乳腺が知られている。そこで本研究では乳腺由来の培養細胞における ChIP-seq データ解析により、乳腺発生に必要な転写活性化因子である ER、FoxA1、GATA3、AP2 の結合サイトが哺乳類特異的レトロトランスポゾンによって増幅したことを証明することとした。またそれら転移因子由来の結合サイトのヒストン修飾、進化的保存度、シス調節配列としての機能分類、さらに由来となった転移因子の起源に関する進化解析もおこなった。さらにその細胞を用いてルシフェラーゼをレポーターとするエンハンサー機能解析もおこなった。さらにマウスの乳腺細胞についても同様の解析をおこない、ヒトとの類似点と相違を探索した。

4. 研究成果

ヒトの ER、FoxA1、GATA3、AP2 の結合サイトのうち 23~33% が転移因子に由来することが明らかになった (図 1A)。これは 38,500 コピーの転移因子がこのいずれかの結合サイトを持っていることを意味している。転移因子の中でも特に MIR、L2、ERV1 は ER 結合部位のうちそれぞれ 5~6% を占めており、これはヒトゲノムにおける割合 (3~4%) よりも高いことを示していた。またこれらの結合サイトは進化的に保存された領域に多く含まれ、DNase 感受性領域すなわちオープンクロマチンに存在することも明らかになった (図 1B,C)。したがって一般に転移因子の配列は細胞からの抑制機構によりヘテロクロマチン化されていることが多いが、これらの結合サイトは何らかの機能的制御を受けている可能性があることを示している。さらにこれら結合サイトの周辺では H3K4me1 および H3K27ac のヒストン修飾が見られ、同時にエンハンサーの co-activator である p300 の結合も見られたことから、多くの転移因子由来の結合サイトがエンハンサーとして機能していることが示された (図 1D)。クロマチン修飾状態に基づいた機能予測からは、これらの転移因子のうち 30% 以上がエンハンサーであったのに対し、プロモータ

ーは 1.6%にすぎなかった。特に 4 種類のタンパク質すべてが結合する転移因子では 60%以上がエンハンサーとして働くことが示された。このように転移因子由来の機能配列はプロモーターではなくエンハンサーである場合が圧倒的に多いことが分かった。これまで転移因子由来のエンハンサーは多数発見されてきたが、その割合が数値として得られたのは非常に有意義な情報であった。

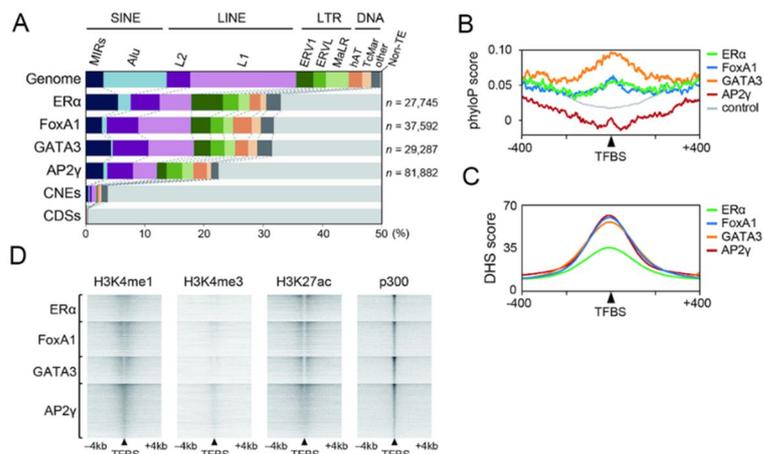


図 1. 4種類の転写活性化因子が結合する転移因子由来のエンハンサー (Nishihara, *Nuc. Acids. Res.* 2019より一部抜粋)

またこれらの転移因子のファミリーごとに調べると、ヒトゲノムに存在する計 536 ファミリーのうち 55 種類のファミリー (5つの SINE、5つの LINE、32の LTR レトロトランスポゾン、13の DNA トランスポゾン) において ER の結合サイトが有意にエンリッチしていることが示された。これらの転移因子の内部で結合サイトがどのように分布するのかを解析したところ、複数の転移因子において結合サイトが一樣分布ではなく偏っていることが明らかになった (図 2)。特に L2 LINE や MIR SINE など結合因子の位置が一部に偏り、その位置に各転写活性化因子の結合配列が存在することが示された。このように上記タンパク質の結合可能配列がかつて転移因子の転移によって増幅され、その後、その結合サイトが活用される形で同一タンパク質が結合するエンハンサーが多数獲得され、下流遺伝子の増大が起こったことが示された。

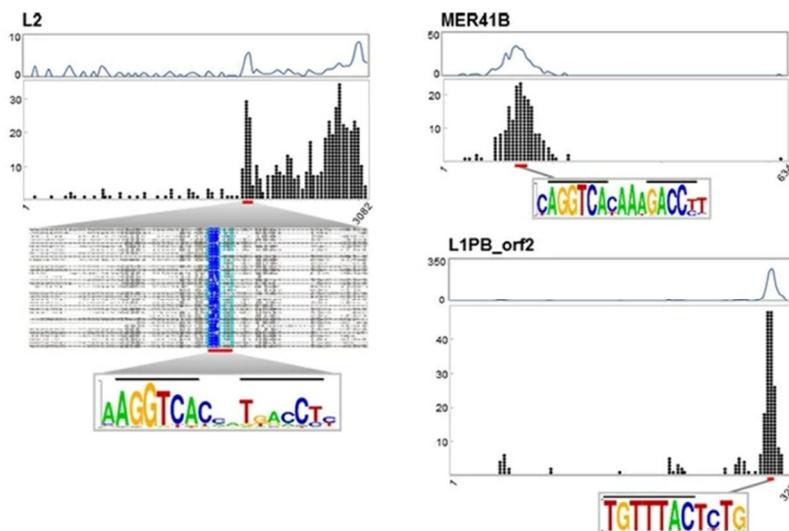


図 2. レトロトランスポゾン上における転写活性化因子の結合位置の分布

さらにこれらの転移が進化の過程でいつ起こったのかをオーソログの有無の探索から解析した。その結果、これらの結合サイトを持つ転移因子の増幅は主に真獣類の祖先および真猿類の祖先で起こったことが明らかになった (図 3 左)。すなわち転移因子によるエンハンサーの拡大は進化的に 2 段階にわたって起こっていたことが示された。一方、転移因子に由来しないエンハンサーの獲得は真獣類の祖先もしくはそれ以前に既に獲得されていたことも分かった。さらにマウスの乳腺組織における ER 結合状態についても同様の解析をおこなった結果、同様に真獣類の祖先およびネズミ科の祖先の 2 段階において転移因子由来の結合サイトの拡大が起こっていたことが明らかになった (図 3 右)。ヒトとマウスいずれにおいても、真獣類の祖先では主に SINE と LINE が関与し、その後は主に内在性レトロウイルスによる機能エレメントのシード配列の増幅が起こっていた。

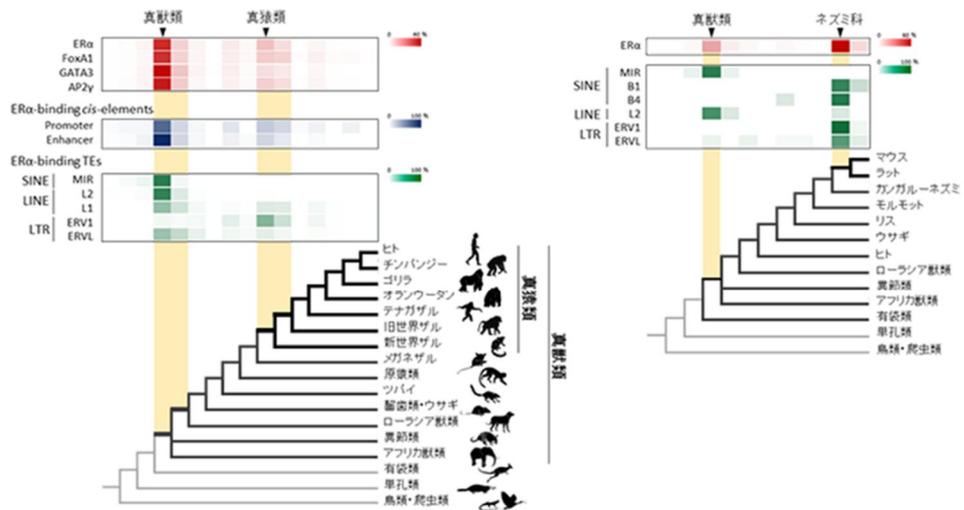


図3. ヒト(左)およびマウス(右)における結合配列を生じたレトロトランスポソンの獲得時期。

以上のように、本研究では転移因子によるエンハンサーのシード配列の拡大が哺乳類の乳腺といった形態進化に寄与した可能性が高いことが初めて示された。このことは大規模な遺伝子制御機構の成立には従来考えられているような単純な塩基置換の蓄積だけでなくレトロトランスポソンの増幅が多大な影響を及ぼしてきたことを意味しており、今後転移因子の存在意義と生物進化における影響を再考する上で極めて重要な知見となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Nikaido Masato, Nishihara Hidenori, Okada Norihiro	4. 巻 13
2. 論文標題 SINEs as Credible Signs to Prove Common Ancestry in the Tree of Life: A Brief Review of Pioneering Case Studies in Retroposon Systematics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 989 ~ 989
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes13060989	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Namba Yurika, Iwasaki Yuka W., Nishida Kazumichi M., Nishihara Hidenori, Sumiyoshi Tetsutaro, Siomi Mikiko C.	4. 巻 25
2. 論文標題 Maelstrom functions in the production of Siwi-piRISC capable of regulating transposons in Bombyx germ cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103914 ~ 103914
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.103914	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ishino Kyoko, Hasuwa Hidetoshi, Yoshimura Jun, Iwasaki Yuka W, Nishihara Hidenori, Seki Naomi M, Hirano Takamasa, Tsuchiya Marie, Ishizaki Hinako, Masuda Harumi, Kuramoto Tae, Saito Kuniaki, Sakakibara Yasubumi, Toyoda Atsushi, Itoh Takehiko, Siomi Mikiko C, Morishita Shinichi, Siomi Haruhiko	4. 巻 49
2. 論文標題 Hamster PIWI proteins bind to piRNAs with stage-specific size variations during oocyte maturation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 2700 ~ 2720
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkab059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nishihara Hidenori, Stanyon Roscoe, Tanabe Hideyuki, Koga Akihiko	4. 巻 26
2. 論文標題 Replacement of owl monkey centromere satellite by a newly evolved variant was a recent and rapid process	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 979 ~ 986
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12898	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nikaido Masato, Kondo Shinji, Zhang Zicong, Wu Jiaqi, Nishihara Hidenori, Niimura Yoshihito, Suzuki Shunta, Touhara Kazushige, Suzuki Yutaka, Noguchi Hideki, Minakuchi Yohei, Toyoda Atsushi, Fujiyama Asao, Sugano Sumio, Yoneda Misako, Kai Chieko	4. 巻 27
2. 論文標題 Comparative genomic analyses illuminate the distinct evolution of megabats within Chiroptera	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 DNA Research	6. 最初と最後の頁 1~12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/dnares/dsaa021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishihara Hidenori	4. 巻 94
2. 論文標題 Evolution of transposable elements and evolution of eukaryote genomes mediated by transposable elements	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes & Genetic Systems	6. 最初と最後の頁 231~231
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1266/ggs.94.231	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hidenori Nishihara	4. 巻 47
2. 論文標題 Retrotransposons spread potential cis-regulatory elements during mammary gland evolution	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 11551-11562
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkz1003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hidenori Nishihara	4. 巻 94
2. 論文標題 Transposable elements as genetic accelerators of evolution: contribution to genome size, gene regulatory network rewiring and morphological innovation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes & Genetic Systems	6. 最初と最後の頁 269-281
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1266/ggs.19-00029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 西原秀典	4. 巻 9
2. 論文標題 哺乳類の転移因子とゲノム進化研究	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 遺伝子医学	6. 最初と最後の頁 143-149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishihara Hidenori, Stanyon Roscoe, Kusumi Junko, Hirai Hirohisa, Koga Akihiko	4. 巻 10
2. 論文標題 Evolutionary Origin of OwlRep, a Megasatellite DNA Associated with Adaptation of Owl Monkeys to Nocturnal Lifestyle	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genome Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 157 ~ 165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/gbe/evx281	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 西原秀典
2. 発表標題 レトロトランスポゾンが関与した乳腺形成に関わる調節配列の多様化
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西原秀典
2. 発表標題 レトロトランスポジションが介在したエンハンサーの断続的多様化
3. 学会等名 日本遺伝学会第91回大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西原秀典
2. 発表標題 転移因子が寄与した哺乳類の乳腺形成に関わるシス調節ネットワークの進化
3. 学会等名 遺伝研研究集会「転移因子と宿主の相互作用による生命機能と進化」(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西原秀典
2. 発表標題 レトロトランスポゾンがもたらしたシス調節配列の拡大と哺乳類の乳腺進化
3. 学会等名 Tokyo Vertebrate Morphology Meeting
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hidenori Nishihara
2. 発表標題 Retrotransposons spread potential cis regulatory elements during mammary gland evolution
3. 学会等名 SMBE Meeting 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hidenori Nishihara
2. 発表標題 Transposable elements spread potential cis regulatory sources for mammary gland evolution
3. 学会等名 FASEB meeting "Mobile DNA in Mammalian Genomes" (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西原秀典
2. 発表標題 レトロトランスポソンの増幅がもたらしたシス制御システムの多様性
3. 学会等名 日本進化学会第19回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西原秀典
2. 発表標題 シス制御システムの進化をもたらした転移因子の重要性
3. 学会等名 日本遺伝学会第89回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西原秀典
2. 発表標題 転移因子レトロトランスポソンが拡大させたシス制御配列の多様性
3. 学会等名 ConBio2017
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------