

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06775

研究課題名（和文）哺乳類ゲノムに内在化したレトロウイルス由来の遺伝子の進化メカニズムの解明

研究課題名（英文）Construction of molecular evolution model for genes derived from endogenous retroviruses

研究代表者

中川 草（Nakagawa, So）

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：70510014

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：内在性レトロウイルスに由来する遺伝子の進化解析を目標とした。ヒトなどの胎盤形成に関わるsyncytin-2をモデルとして着目し、新世界ザルの12種のゲノム配列を探索した結果、3種ではナンセンス変異によってORFが短くなっていることがわかり、フサオマキザルでは短くなっていないにもかかわらずアミノ酸変異が膜融合活性を下げていることが分かった。2種の単孔類のゲノム配列を解析し、400アミノ酸以上コードするレトロウイルス膜タンパク質由来する配列が、カモノハシでは2配列しかなかったものの、ハリモグラでは121配列も存在し、特に膜融合活性をもつものもあることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、レトロウイルス由来の遺伝子はダイナミックに進化しており、たとえ長さが変わっていてもその活性などは種によって大きく異なる可能性が示唆された。これはおそらく他のレトロウイルス由来の遺伝子などが関わっている可能性が強く示唆されるため、そのような種ではどのような遺伝子に関わっているのかなどは更に検討する必要があると考える。また、胎盤発生と膜融合活性をもつ配列の獲得は密接に関わると考えられていたが、我々の研究成果は単純な因果関係ではなく、必要条件なのかもしれないが、少なくとも十分条件ではないことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：We aimed to analyze the evolution of genes derived from endogenous retroviruses. We searched syncytin-2 in genome sequences of 12 species of New World monkeys (NWMs). We found that nonsense mutations shortened the syncytin-2 ORF in three NWM species and that even if the ORF was not shortened, several amino acid mutations reduced membrane fusion activity in tufted capuchins. We also analyzed genome sequences of the two monotremes, revealing that while there was only two retroviral membrane protein-derived sequences encoding more than 400 amino acids in the platypus, there were 121 sequences in the echidna, one of which exhibited membrane fusion activity.

研究分野：ゲノム科学

キーワード：内在性レトロウイルス 分子進化 比較ゲノム 新規遺伝子 哺乳類 ゲノム進化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

哺乳類では、これまでにさまざまなウイルス、特にレトロウイルスに由来する配列が哺乳類のゲノム配列に内在化していて(内在性レトロウイルス)一部が遺伝子として機能していることが報告されている。特に、胎盤形成に関係する遺伝子について、内在性レトロウイルスの膜タンパク質に由来する配列が宿主の遺伝子として機能すると様々な種で報告されている一方で、胎盤を有する哺乳類にとって必須であると考えられるこれらの遺伝子の起源となるレトロウイルスが種によって大きく異なっている。どのようにしてレトロウイルス由来の遺伝子が進化的に変化しているのかについてはよく分かっていなかった。

### 2. 研究の目的

内在性レトロウイルスに由来する配列が、宿主で機能遺伝子となった場合の進化を詳細に調べることが目標とした。そのために、胎盤形成に関わる内在性レトロウイルスについて、1)ヒトなどの胎盤形成に関わる syncytin-2 をモデルとして着目し、新世界ザルでの機能変化を調べ、内在性レトロウイルスの機能進化について明らかにすること、2)胎盤を持たない哺乳類、単孔類の2種(カモノハシとハリモグラ)に着目し、これらの内在性レトロウイルスに注目し、胎盤形成に関わるような可能性のある配列の有無について明らかにし、内在性レトロウイルス由来の遺伝子と胎盤発生に関して研究することをそれぞれ目標とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 新世界ザルの syncytin-2 の機能解析

ヒトを含む類人猿 7 種、旧世界ザル 22 種、そして新世界ザル 12 種のゲノム配列を探索し、syncytin-2 を同定した。また、ヒトと新世界ザルのフサオマキザルについて、syncytin-2 の細胞融合を調べる実験アッセイを構築し、融合能を比較した。また、ヒトとフサオマキザルの syncytin-2 のキメラを作成し、syncytin-2 の融合活性の違いに關与するアミノ酸を探索した。

#### (2) 単孔類の新規機能性レトロウイルス由来の配列の探索

胎盤を持たない哺乳類である単孔類 2 種、カモノハシとハリモグラのゲノム配列をダウンロードし、レトロウイルス膜タンパク質や逆転写酵素に由来する配列を網羅的に探索し、分子進化解析を行った。また、それらの配列周辺を探し、レトロウイルス由来の配列の有無を確認した。その中で、特に胎盤形成に關与すると報告がある配列と類似する配列について、その受容体との相互作用を細胞融合アッセイによって確認した。

### 4. 研究成果

(1) syncytin-2 に関して、類人猿と旧世界ザルは、それぞれ今回調べたすべての種で ORF はすべて同じ長さであったが、新世界ザルではナンセンス変異が入ったため ORF 長が短くなっている syncytin-2 をもつものも 3 種あり、syncytin-2 が胎盤発生に關与していない新世界ザルがいるのではないかと示唆された。実際に、新世界ザルのフサオマキザルの syncytin-2 を合成し、その膜融合能を調べてみると、ヒトのものよりも活性が低いことが示唆された。また、そのアミノ酸変異に関しては一つではなくて複数の箇所の変異が關連していることも分かった。以上の結果から、Syncytin-2 は新世界ザルのいくつかの種では胎盤発生に關与しているかもしれないが、別な膜タンパク質に由来するような遺伝子を独自に獲得している可能性があることを示した(Shoji et al. FEBS Open Bio 2023)。

(2) 単孔類ゲノムから膜タンパク質に由来する配列を網羅的に探索した結果、400 アミノ酸以上をコードしている配列は、カモノハシでは 2 つしかなかったものの、ハリモグラのゲノムには 121 配列も存在することが分かった。分子進化解析の結果、カモノハシでは 2 つ、ハリモグラでは少なくとも 7 つの独立したレトロウイルスの内在化があったと分かった。400 アミノ酸以上と限定すると、2 種の共通祖先で挿入した内在性レトロウイルスに由来する膜タンパク質は保存されていないことがわかった。また、ハリモグラの膜タンパク質のなかで、一つは RD114/D-type retrovirus (RDR) interference group に分類されるタイプであることがわかり、受容体が ASCT2/1 を使うことが推察された。細胞膜融合に必要なモチーフもすべて保存されていたため、細胞融合活性があることを細胞融合アッセイによって示した。受容体の ASCT2/1 は腎臓で特に高発現し、またこのレトロウイルス由来の配列は腎臓を含む様々な組織で発現していて、これらの膜融合が実際に腎臓などの臓器で起こっている可能性が示唆された。本研究成果は、胎盤という新奇形質の獲得と膜融合活性をもつウイルス由来の配列の獲得というのは単純な因果関係で

はなく、必要条件なのかもしれないが、少なくとも十分条件ではないことを明らかにした (Kitao et al. *Molecular Biology and Evolution* 2023)。また、逆転写酵素に由来する配列がカモノハシとハリモグラの共通祖先で獲得され、3つに重複して、それぞれが非常に高度に保存されていて、精巢特異的に発現していることが分かった。しかし、逆転写酵素活性は失っている可能性が高く、どのような生理的な機能を担っているのかは分からなかった (Kitao et al. *Virus Evolution* 2022)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Nakagawa So, Sakaguchi Shoichi, Ogura Atsushi, Mineta Katsuhiko, Endo Toshinori, Suzuki Yoshiyuki, Gojobori Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Current trends in RNA virus detection through metatranscriptome sequencing data	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/2211-5463.13626	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 Kitao Koichi, Shoji Hiyori, Miyazawa Takayuki, Nakagawa So	4. 巻 40
2. 論文標題 Dynamic Evolution of Retroviral Envelope Genes in Egg-Laying Mammalian Genomes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Molecular Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 msad090
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/molbev/msad090	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 Shoji Hiyori, Kitao Koichi, Miyazawa Takayuki, Nakagawa So	4. 巻 13
2. 論文標題 Potentially reduced fusogenicity of syncytin 2 in New World monkeys	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 459 ~ 467
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/2211-5463.13555	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 Kitao Koichi, Miyazawa Takayuki, Nakagawa So	4. 巻 8
2. 論文標題 Monotreme-specific conserved putative proteins derived from retroviral reverse transcriptase	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Virus Evolution	6. 最初と最後の頁 veac084
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/ve/veac084	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 Kitao Koichi, Sumiyoshi Aoi, Nakagawa So, Matsumoto Yuki, Mizuno Takuya, Miyazawa Takayuki	4. 巻 1
2. 論文標題 Systematic Identification of Endogenous Retroviral Protein-Coding Genes Expressed in Canine Oral Malignant Melanoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Virology	6. 最初と最後の頁 785678
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fviro.2021.785678	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 Kitao Koichi, Nakagawa So, Miyazawa Takayuki	4. 巻 18
2. 論文標題 An ancient retroviral RNA element hidden in mammalian genomes and its involvement in co-opted retroviral gene regulation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Retrovirology	6. 最初と最後の頁 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12977-021-00580-2	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 Matsuzawa Ayumi, Lee Jiyoung, Nakagawa So, Itoh Johbu, Takahashi Ueda Mahoko, Mitsuhashi Satomi, Kochi Yuta, Kaneko-Ishino Tomoko, Ishino Fumitoshi	4. 巻 22
2. 論文標題 HERV-Derived Ervpb1 Is Conserved in Simiiformes, Exhibiting Expression in Hematopoietic Cell Lineages Including Macrophages	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4504 ~ 4504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22094504	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 Mitsuhashi Satomi, Nakagawa So, Sasaki-Honda Mitsuru, Sakurai Hidetoshi, Frith Martin C, Mitsuhashi Hiroaki	4. 巻 30
2. 論文標題 Nanopore direct RNA sequencing detects DUX4-activated repeats and isoforms in human muscle cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Human Molecular Genetics	6. 最初と最後の頁 552 ~ 563
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/hmg/ddab063	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 Nakagawa S, Kawashima M, Miyatake Y, Kudo K, Kotaki R, Ando K, Kotani A.	4. 巻 773
2. 論文標題 Expression of ERV3-1 in leukocytes of acute myelogenous leukemia patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gene	6. 最初と最後の頁 145363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gene.2020.145363	査読の有無 有
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 Ueda, M.T., Kryukov, K., Mitsuhash, S, Mitsuhash, H, Imanishi, T, Nakagawa, S.	4. 巻 11
2. 論文標題 Comprehensive genomic analysis reveals dynamic evolution of endogenous retroviruses that code for retroviral-like protein domains.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mobile DNA	6. 最初と最後の頁 29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13100-020-00224-w	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 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 北尾晃一、庄司日和、宮沢孝幸、中川草
2. 発表標題 卵生哺乳類ゲノムに内在化したレトロウイルス由来のエンベロープタンパク質の細胞融合活性
3. 学会等名 第45回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中川草
2. 発表標題 大規模シーケンスデータ解析が明らかにするRNAウイルスの生態系
3. 学会等名 日本微生物生態学会 第35回大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Koichi Kitao, Shoji Hiyori, Takayuki Miyazawa, So Nakagawa
2. 発表標題 Endogenous retroviruses in egg-laying mammals and the fusogenic property of an envelope protein in echidna
3. 学会等名 6th Uppsala Transposon Symposium (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 北尾晃一、宮沢孝幸、中川草
2. 発表標題 Open reading frameが保存されたLINEレトロトランスポゾン座位の同定
3. 学会等名 日本遺伝学会第94回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 庄司日和、北尾晃一、宮沢孝幸、中川草
2. 発表標題 新世界ザルで明らかになった syncytin 遺伝子の機能多様性とウイルス由来遺伝子の進化モデルの構築
3. 学会等名 日本遺伝学会第94回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 北尾晃一、早川卓志、宮沢孝幸、中川草
2. 発表標題 単孔類ハリモグラのゲノムにみられるレトロウイルスの活発な内在化
3. 学会等名 日本進化学会年大会 第24回沼津大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上田真保子、小野悠介、隅山健太、三橋里美、三橋弘明、中川草
2. 発表標題 筋細胞の融合にかかわる内在性レトロウイルス由来の新規遺伝子
3. 学会等名 日本進化学会年大会 第24回沼津大会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Koichi Kitao, Takayuki Miyazawa, So Nakagawa
2. 発表標題 Identification of conserved endogenous retroviral genes in monotremes (egg-laying mammals)
3. 学会等名 ISEGB2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 庄司日和、北尾晃一、宮沢孝幸、中川草.
2. 発表標題 ウイルスから獲得した胎盤形成遺伝子syncytinの新世界ザルにおける機能比較
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Satomi Mitsuhashi, So Nakagawa, Mitsuru Sasaki-Honda, Hidetoshi Sakurai, Martin C. Frith and Hiroaki Mitsuhashi.
2. 発表標題 Nanopore direct RNA sequencing detects novel DUX4-activated repeats and isoforms in human muscle cells.
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 Koichi Kitao, So Nakagawa, Takayuki Miyazawa.
2. 発表標題 An RNA element, SPRE, found in endogenous retroviral syncytin genes.
3. 学会等名 5th Uppsala Transposon Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北尾晃一、中川草、宮沢孝幸
2. 発表標題 哺乳類の内在性レトロウイルスに見いだされたRNAシスエレメントの研究
3. 学会等名 日本遺伝学会第93回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 庄司日和、北尾晃一、宮沢孝幸、中川草
2. 発表標題 受容体の配列解析によるウイルス由来遺伝子syncytinの進化モデルの検証.
3. 学会等名 日本遺伝学会第93回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中川草
2. 発表標題 大量シーケンスデータを活用したウイルス進化研究 新型コロナウイルスを含めて
3. 学会等名 日本進化学会第22回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上田真保子、Kirill Kryukov、三橋里美、三橋弘明、中川草
2. 発表標題 哺乳類ゲノムに内在するウイルス様配列の進化と機能
3. 学会等名 日本進化学会第22回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松沢歩、李知英、中川草、三橋里美、高地雄太、石野（金児）知子、石野史敏
2. 発表標題 ヒトゲノムで機能を獲得したHERV由来配列の探索
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会 (MBSJ2020)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中川草
2. 発表標題 哺乳類ゲノムに内在化するウイルスに由来する配列
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会 (MBSJ2020)
4. 発表年 2020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
研究 分担者	坂口 翔一  (Sakaguchi Shoichi)  (20815279)	大阪医科薬科大学・医学部・助教   (34401)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	宮沢 孝幸  (Miyazawa Takayuki)  (80282705)	京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・准教授    (14301)	

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