

令和 3 年 8 月 16 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15008

研究課題名(和文) ヒトが尻尾を失くした仕組：短尾有羊膜類の胚発生過程における尾部形態形成機構の解明

研究課題名(英文) How we humans lost a tail?: Investigation of tail morphogenetic process in short-tailed amniotes during embryonic development

研究代表者

東島 沙弥佳 (Tojima, Sayaka)

大阪市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：10792830

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：研究期間を通じて、胚発生過程で生じる尾部退縮のメカニズム解明に取り組んだ。細胞死に着目し尾部退縮との関連を調べたニワトリプロジェクトでは、尾部神経管における細胞死が重要である可能性がみえてきた。またハムスタープロジェクトでは、尾長の異なる齧歯類の尾部形態形成過程を比較した。短尾種でのみ尾部退縮が見られたことから、短尾形質を形成する発生過程のメカニズムが広く有羊膜類間で保存されている可能性がみえてきた。さらに、従来は尾部退縮異常により生じるとされてきたヒトの先天異常「Human tail」について尾部退縮異常が成因ではなく4種の異なる成因が考えられることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、多様な系統群で尾部形態形成を観察することで、胚発生過程において生じる尾部退縮が尾部形態形成に重要であることを示した点で新規的である。また、短尾という極端な形質をもつ有羊膜類において尾部退縮という発生現象が幅広く保存されている可能性が高いことは、進化を考える上で興味深い知見を提供したと言える。さらに、生物学的研究意義の高さに留まらず、基礎的知見をヒト先天異常の要因解明という臨床応用に昇華させた点でも大きな意義をもつ。

研究成果の概要(英文)：Tail length is considered as an important feature indicating adaptation and evolution. However, the mechanisms by which it is determined during development has not been clarified. Thus, I performed 3 different research projects for clarification of the tail reduction mechanism during embryonic development. From the first project using chicken embryos, I found that apoptosis in the caudal neural tube is possibly important for tail reduction. Additionally, the findings from the second project showed that tail reduction was broadly observed in short-tailed amniote species. This suggested that this developmental mechanism might be highly preserved in multiple taxa. These findings were helpful not only to understand developmental process but also a congenital anomaly known as “human tail”. This anomaly has been believed to be caused by aberration of tail reduction since the 1900's. However, my study regarding tail reduction has revealed that the previous hypothesis is not correct.

研究分野：解剖学、発生生物学

キーワード：しっぽ 発生 退縮

1. 研究開始当初の背景

脊椎動物の尾長は、環境への適応や系統進化を反映する重要な形態的指標であるが、中には我々ヒトのように、尻尾が極端に短縮・喪失した生物群もいる。報告者はこれまで、形態学的アプローチにより、霊長類では尾長変異と仙尾部の筋骨格形態多様性が強く相関することを明らかにしてきた (Tojima, 2010, 2013, 2014, 2015)。さらに、そうした形態変異を引き起こす発生機構の解明に向け、報告者は、発生物学的アプローチも実施してきた。ニワトリ胚発生過程および正常なヒト胚発生過程では、一旦形成された尾部が体節数の急激かつ大幅な減少を伴って短縮することをすでに見出しており、この観察結果から、尾部体節の急激かつ大幅な減少を伴う胚子期の尾部短縮が短尾有羊膜類において広く保存されている尾部形態形成メカニズムである可能性が見えて来ている。

2. 研究の目的

本研究の最終的な目標は、「ヒトはどのように尻尾を失くしたのか」の解明である。脊椎動物の尾長は適応と系統を反映する重要な指標であるが、我々ヒトの尻尾は完全に喪失している。脊椎動物の形態進化は発生過程における進化的変化に依存するため、ヒトの尻尾喪失過程の解明には尾長が発生過程において決定される仕組みの理解が欠かせない。そこで本研究課題では、ヒトにおける尻尾の喪失過程を復元するため、まず、ヒトを含む短尾有羊膜類における、胚発生過程での尾部形態形成機構の解明を目指す。具体的には、3年間の研究計画で下記の2点を明らかにすることを目標とした。

- (1) ニワトリ胚における尾部短縮過程と原因因子の解明 (ニワトリプロジェクト)
- (2) 尾長の異なる哺乳類間での尾部形態形成過程比較 (ハムスタープロジェクト)

3. 研究の方法

(1) ニワトリプロジェクト

尾部体節数減少に関わる細胞挙動の解明

報告者はこれまでに、尾部の免疫染色実験から尾部体節数減少期において尾部体節特異的に細胞死が増加することを見出した。そこで、まずは尾部体節数減少と細胞死との関連について検証した。RCAS レトロウイルスを使った抗アポトーシス遺伝子 (*Bcl-2*) の過剰発現実験ならびにアポトーシス阻害剤 (汎カスパーゼ阻害剤 *z-VAD-FMK*) を注入する実験を実施し、尾部での細胞死阻害による形態形成への影響を観察した。

尾部退縮に関わる分子メカニズムの解明

報告者はこれまでに、*Hoxb13* 遺伝子の発現パターンが尾部体節数減少と同時に変化することを見出した。本遺伝子はマウスでの先行研究から、体節数と尾長の決定に関与する可能性が示唆されている (Economides *et al.*, 2003)。これがニワトリ胚発生期の尾部短縮にはたす機能を、RCAS レトロウイルスベクターを用いた過剰発現実験と機能阻害実験で検証を試みた。

(2) ハムスタープロジェクト

尾長の異なる齧歯類 3 種間での尾部形態形成過程を比較

報告者はこれまで、ヒト胚ならびにニワトリ胚といった短尾の有羊膜類において尾部形態形成過程を観察してきた。その結果、短尾有羊膜類間では尾部体節数の減少を伴う尾部退縮が共通して生じる可能性が見えてきた。この発生現象が短尾有羊膜類にのみ共通するのか、あるいは有羊膜類全体で見られるのかを検証するため、尾長の異なる種間（キャンベルハムスター [*Phodopus campbelli*], チャイニーズハムスター [*Cricetulus griseus*], マウス [*Mus musculus*]) で尾部形態形成過程の比較を行った。

4. 研究成果

2018-2019 年度は当初の研究計画通り、ニワトリ胚と齧歯類胚を用いたプロジェクトを推進した。進める内に小さなトラブルに見舞われたものの、計画は概ね順調に進展した。だが、2020 年度はコロナ禍の影響により研究計画の変更が余儀なくされた。実験時間が十分に確保できない状況であったため、これまでに進行してきた 2 つのプロジェクトはやむなく一旦中断し、実験の必要ない新規研究プロジェクト (Human tail プロジェクト) を始め、十分な成果を得た。

(1) ニワトリプロジェクト

当初は RCAS レトロウイルスベクターを用いた実験系を主体として進めることを予定していたが、養鶏場で産生される有精卵のコンディションが変化したため、ウイルスを用いた遺伝子導入効率が予備実験時と比べて急激に低下し安定しなくなった。そのため、アポトーシス阻害剤 (汎カスパーゼ阻害剤 α -VAD-FMK) の注入実験を重点的に実施し、尾部退縮と細胞死との関係解明に取り組んだ。その結果、阻害剤を体節に注入しても尾部形態は変化しないものの、尾部神経管に阻害剤を注入すると、尾部退縮が生じないことがわかった。このことから、ニワトリ胚発生過程において生じる著しい尾部退縮には、尾部神経管における細胞死が重要である可能性がみえてきた。本研究成果は外胚葉由来の尾部神経管で生じる細胞死が、中胚葉由来の尾部体節に作用して協調的に尾部が退縮するメカニズムの存在を示唆している。マウスを用いた先行研究にも、尾部神経管から尾部体節へシグナルが伝達されている可能性を示唆するものがあり、ニワトリ胚発生過程においても同様のメカニズムが生じている可能性が考えられる。

(2) ハムスタープロジェクト

使用するハムスター 2 種 (チャイニーズハムスター、キャンベルハムスター) は発生段階の定義されていないモデル生物であったため、本プロジェクトではまず、発生段階の異なるハムスター胚を複数採取し、マウス胚と比較することで発生ステージを定義した。結果、キャンベルハムスターはマウスとほぼ同じスピードで発生が進むが、チャイニーズハムスターは 2 種に比べ約 2 日発生が遅れることがわかった。また同時に、比較的長い尾をもつマウス・チャイニーズハムスターと短尾のキャンベルハムスターとでは、尾部形態形成過程が異なることも見えてきた (図 1)。前者では尾部先端のみが時間をかけて退縮するのに対し、後者では、体軸伸長

が終了し尾部が最長となった直後に著しく尾部が退縮した。キャンベルハムスターで観察された尾部退縮は、ヒト胚やニワトリ胚で観察してきた事象に非常に類似しており、尾部体節数の減少を伴う尾部退縮が短尾有羊膜類間で広く保存されている可能性が見えた。

さらに、尾部退縮メカニズムに関与する分子の探索を目的とし、文部科学省科学研究費助成事業新学術領域『学術研究支援基盤形成』の「先進ゲノム解析研究推進プラットフォーム（略称・先進ゲノム支援）」に申請し、2019年度支援課題として採択された（本支援制度は、科研課題の更なる推進のための支援を実施するものである）。先進ゲノム支援のもと、マウス・チャイニーズハムスター・キャンベルハムスター・ニワトリの RNA-sequence を行った。具体的には、発生段階の異なる(体軸伸長終了時点・尾部退縮中・尾部退縮終了時点) 胚子の尾から total RNA を抽出し、これを解析に供した。

だが年度途中、ハムスター飼育に問題（原虫陽性反応が出る）が生じたことにより飼育ならびに胚採取の方法を大きく転換せざるを得なくなった。また、コロナ禍の影響もあり、本研究プロジェクトも最終年度に一旦中断せざるを得なくなった。

(3) Human tail プロジェクト

ヒトの尾は胚発生過程では他の有尾有羊膜類と同様に形成されるが、出生時には完全に消失している。ヒトの尾部消失には、尾部体節数の著しい減少を伴う尾部退縮が大きく寄与することを、報告者自身が見出した (Tojima et al., 2018)。だが、先天異常の中には「human tail」と呼ばれる奇形が存在する。本奇形は新生児や乳幼児で報告例が多く、その名の通り腰部・仙尾部に尾のような突起が見られるという症例である(図 2)。外観と名前のインパクトから症例は世界各地で報告されるものの、致死的な異常ではないため臨床的に重要視されず、症例の定義や分類が明確にされないまま今日に至っていた。だが、詳細に文献を読み解くと、単純切除により排泄障害や運動障害など患者の QOL (Quality of Life) を大きく損ないかねない後遺症を引き起こす可能性があることがわかった。本奇形の成因については、1900 年代初頭に、発生過程における尾部退縮異常により生じるとする説が提唱されている。すなわち、尾部先端に存在するとされた無体節領域の退縮異常だとされてきたのだが、報告者自身によるヒト胚尾部形態形成過程の観察結果に照らせば本説は誤りであることが明白であった。発生段階の異なるヒト胚のいずれにおいても、尾部先端に無体節領域は存在しなかったのである (Tojima et al., 2018)。



図 1 有羊膜類の尾部形態形成過程。
長尾と短尾では尻尾の作られ方が違う

報告者がこれまで積み上げてきた基礎的研究成果の蓄積が、先天異常 Human tail の成因理解と適切な処置へと繋がることを願い、報告者はこれまでに報告されてきた症例の収集と整理を行った。本奇形が 1800 年代以降に臨床系雑誌に報告されていた症例報告を可能な限り集め、傾向を分析した。その結果、① Human tail の原因は胚子期の尾部退縮異常ではないこと、② 本先天異常は発症部位や内容物により 4 タイプに分けることができ、外観上似通っていても成因が異なる可能性のあることを見出した (Tojima & Yamada, 2020; Tojima, *in press*)。

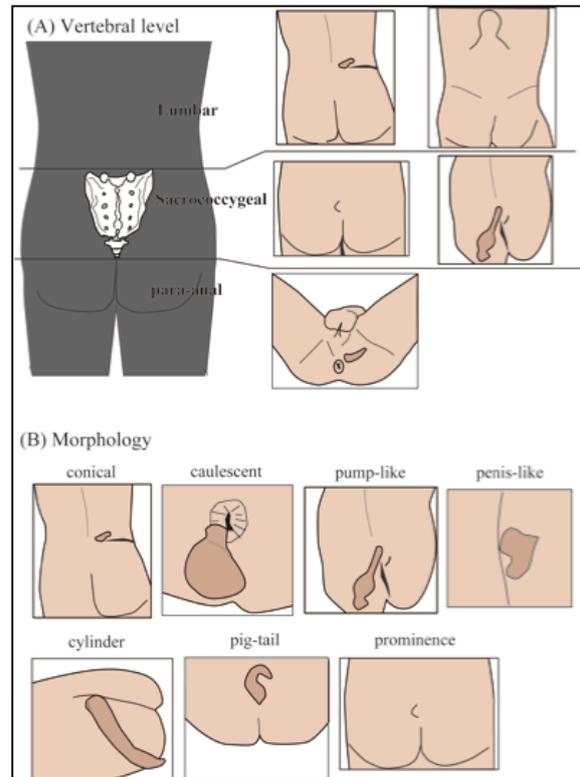


図 2 Human tail の多様性
(Tojima & Yamada, 2020 より)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tojima Sayaka	4. 巻 -
2. 論文標題 Relationship between sacral shape variation and phylogeny in Old World monkeys	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Morphology	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/jmor.21384	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 Tojima Sayaka	4. 巻 64
2. 論文標題 A Tale of the Tail : A Comprehensive Understanding of the “Human Tail”	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Korean Neurosurgical Society	6. 最初と最後の頁 340～345
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3340/jkns.2021.0017	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 Tojima Sayaka, Yamada Shigehito	4. 巻 33
2. 論文標題 Classification of the “human tail” : Correlation between position, associated anomalies, and causes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Anatomy	6. 最初と最後の頁 929～942
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ca.23609	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 Tojima Sayaka, Makishima Haruyuki, Takakuwa Tetsuya, Yamada Shigehito	4. 巻 232
2. 論文標題 Tail reduction process during human embryonic development	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Anatomy	6. 最初と最後の頁 806～811
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/joa.12774	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 東島沙弥佳、中島佑夏、西川晴花、中島裕司
2. 発表標題 尾長の異なる齧歯類3種における尾部形態形成過程の比較
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sayaka Tojima, Akio Shinohara, Tomohiro Koshimoto
2. 発表標題 Comparison of tail morphogenetic processes among three rodent species with different tail lengths
3. 学会等名 53rd Annual meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 東島沙弥佳
2. 発表標題 ヒト胚発生過程における尾部退縮過程の解明
3. 学会等名 第60回日本先天異常学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 東島沙弥佳
2. 発表標題 短尾有羊膜類の尾部形態形成：伸びて止まって、そして縮む
3. 学会等名 第41回肉眼解剖学懇話会（第126回日本解剖学会総会・全国学術集会）（招待講演）
4. 発表年 2021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
---------	---------