

令和 5 年 5 月 24 日現在

機関番号：63904

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K06370

研究課題名(和文) 脊索形質獲得の分子基盤：脊索動物の誕生・起源・進化

研究課題名(英文) Molecular basis of the acquisition of chordate traits: origin and evolution of chordates

研究代表者

高橋 弘樹 (Takahashi, Hiroki)

基礎生物学研究所・分野横断研究ユニット・助教

研究者番号：40283585

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)：脊索は脊索動物体制における中軸器官であると同時に、脊索動物を特徴付ける最も重要な形質である。したがって、脊索形成の分子メカニズムを明らかにすることは脊索動物の体制構築の解明につながると同時に、脊索動物進化のメカニズムの理解にも直結する。また、脊索を持たない共通祖先の動物がどのように、この新規形質を獲得したかをひも解くことは、我々ヒトを含めた脊索動物誕生の分子的基盤を明らかにする事につながる。そこで、まず脊索動物の祖先に近い頭索動物・尾索動物の脊索形質の分子基盤を明らかにした。次に、脊索形成の分子メカニズムを解析し、さらに、脊索形成遺伝子ネットワーク進化の解明を目指した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊索形成の分子メカニズムを明らかにすることは脊索動物の体制構築の解明につながると同時に、脊索動物進化のメカニズムの理解にも直結する。また、脊索を持たない共通祖先の動物がどのように、この新規形質を獲得したかをひも解くことは、我々ヒトを含めた脊索動物誕生の分子的基盤を明らかにする事につながる。

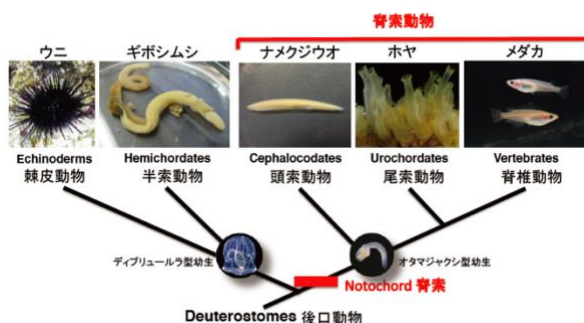
研究成果の概要(英文)：The notochord is the central axis organ of the chordate system, and at the same time, it is the most important trait that characterizes chordates. Therefore, elucidating the molecular mechanism of notochord formation will lead to the elucidation of the chordate body plan and directly to the understanding of the mechanism of chordate evolution. Furthermore, elucidating how the common ancestor of the chordates, which did not have a notochord, acquired this novel trait will help us to understand the molecular basis of the birth of chordates, including humans. Therefore, we first clarified the molecular basis of the notochord trait in cephalochordates and urochordates, which are close to the ancestors of chordates. Next, we analyzed the molecular mechanism of notochord formation, and furthermore, aimed to elucidate the evolution of the notochord gene network.

研究分野：進化発生

キーワード：脊索動物 脊索 ホヤ ナメクジウオ

1. 研究開始当初の背景

我々ヒトをはじめとする多種多様な生き物は地球上に生命が誕生してから 40 億年にもわたる歴史の中で存在し続けている。生命を育んだ源である海は、今なお全ての主要な生物分類群のすみかとなっており、ヒトの祖先にあたる脊索動物もこの海で生まれた。18 世紀後半から 20 世紀初頭にかけて、リンネ、コワレスキーなど多くの研究者により脊椎動物、頭索動物(ナメクジウオ)、尾索動物(ホヤ)が「脊索」と背側神経管を持つ特徴から脊索動物門とする分類が確立されてきた。一方、脊索動物は棘皮動物(ヒトデ)や半索動物(ギボシムシ)と共に後口動物群に属する。本研究では、我々ヒトを含めた脊索動物はどのようにして誕生したのか、「脊索」を持たない共通祖先の動物がどのようにしてこの形質を獲得したのか、その分子的な基盤を解き明かすことから、脊索動物の誕生・起源・進化に迫る。



2. 研究の目的

脊索動物の誕生・起源・進化を考える際にその鍵となるのが「脊索」である。脊索は中胚葉性で原腸陥入の初期に陥入を開始し、収斂と伸長などの特徴的な細胞運動を伴い、体軸の中心を前後に走るロット状の構造として形成される。脊索形成には T-box 転写因子である *Brachyury* が重要な役割を果たす。しかし、*Brachyury* の役割は脊索形成に特化したものではなく、もともと原腸形成に関連した役割を持っていたものが、脊索動物の進化の際に脊索形成に関わったものと考えられる。この点に焦点を当てた基盤的研究を遂行することにより、我々ヒトがどこから来たのか? という、地球上にヒトが由来した変遷について新しい進化生物学的世界観を得ることにもつながるといふ学術的な特徴を持つ研究を展開することを目的とした。

3. 研究の方法

進化発生的アプローチにより、新規形質「脊索」の獲得進化の理解を目指し、脊索動物誕生の分子的基盤に迫るために 3 つの研究手法をとった。

- (1) 頭索・尾索動物の脊索形質の分子基盤:(脊索特異的遺伝子解析)
- (2) 脊索形成の分子機構・脊索遺伝子機能:(発生細胞生物学的解析)
- (3) 脊索形成遺伝子ネットワーク進化:(遺伝子発現制御解析)

4. 研究成果

- (1) 頭索・尾索動物の脊索形質の分子基盤:(脊索特異的遺伝子解析)

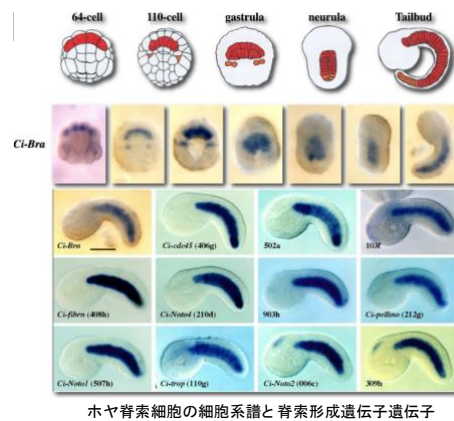
脊索動物門誕生の進化プロセスを解明する際に鍵となる祖先的な動物群であるナメク

ジウオ(頭索動物)およびホヤ(尾索動物)の脊索細胞の脊索形質遺伝子セットの分子的基盤を明らかにするために、RNA-Seq 解析を行なった。ナメクジウオの脊索は発生の過程で消失することなく成体においても存在している。成体のナメクジウオの脊索細胞を高純度に顕微鏡下で単離し RNA-Seq 解析することに成功した。その結果、興味深いことにナメクジウオ成体の脊索に *Brachyury* 遺伝子が発現していることが初めて明らかになり、特徴的な筋肉性の脊索形質を示すことが示唆された。

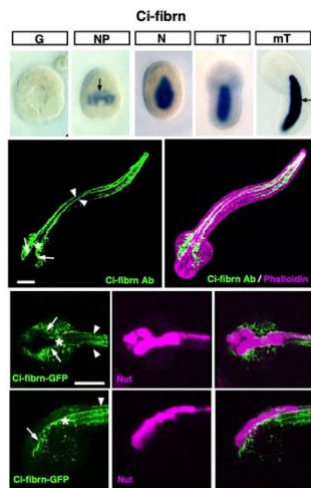
(2) 脊索形成の分子機構・脊索遺伝子機能:(発生細胞生物学的解析)

脊索形成の分子機構の解析は、脊索遺伝子解析を進めてきたホヤ(尾索動物)を用いて展開した。これまでの研究から脊索形成の分子メカニズムを説明する上で非常に興味深い脊索遺伝子の機能が明らかになった。

①脊索形成細胞極性:脊索細胞は収斂と伸長運動を引き起こし、一列に並び前後軸に沿ってロット状に伸びることで体軸が形成される。脊索細胞に発現する *Noto7* 遺伝子の機能を MO により阻害すると、脊索細胞が一列に伸長せずに Y 字型に分岐が起こり、前後軸にそった細胞の極性が乱れることが明らかになった。*Noto7* 遺伝子は bHLH ドメインを有した *Mad/Max* 関連遺伝子であることから、遺伝子発現を制御している可能性が考えられる。



ホヤ脊索細胞の細胞系譜と脊索形成遺伝子遺伝子

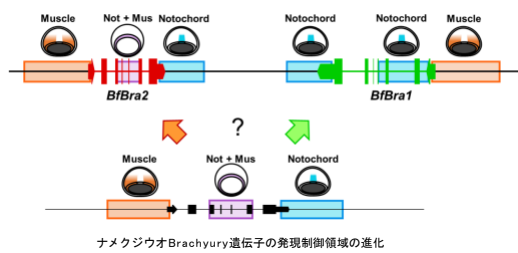


②脊索細胞運動と脊索細胞間接着分子: 脊索細胞のみに発現する *Noto4* は C 末端側に PTB ドメインを持ち、脊索形成過程において脊索細胞間の滑り込み運動の制御に重要な働きをしていることをホヤの解析から明らかにしてきた(Yamada et al. 2011)。すでに作成完了しているホヤ発生胚 *Noto4:GFP* の免疫沈降法による解析を進め、*Noto4* の PTB ドメインと相互作用するチロシンリン酸タンパク質の同定を試みた。また、これまでの研究結果から脊索細胞間の接着分子機構の関与が示唆されているので脊索細胞膜分子のイメージング解析を展開した。

③脊索-神経相互作用の分子基盤:中軸中胚葉である脊索は体軸身長において働くのみならず、神経誘導や神経管形成過程においても重要な役割を果たしていると考えられている。非常に興味深いことに *Brachyury* ターゲット遺伝子の一つである *Ci-Fibrin* mRNA は脊索に特異的に発現するが、そのタンパク質は中枢神経を取り囲むように局在し、神経前駆細胞に発現する *Notch* と協調して中枢神経形成に関与することが明らかになった。

(3) 脊索形成遺伝子ネットワーク進化: (遺伝子発現制御解析)

脊索動物門の脊索形成には *Brachyury* 遺伝子が重要な役割を果たす。しかし、*Brachyury* の役割は脊索形成に特化したものではなく、もともと原腸形成に関連した役割を持っていたものが、脊索動物の進化の際に脊索形成に関わったものと考えられる(Satoh et al.



2012)。すなわち、刺胞動物から脊索動物にいたるまで原口領域に一過性に発現する Primary Brachyury ネットワーク(原腸形成・原口)に加えて、脊索動物誕生とともに持続的に発現機能する Secondary Brachyury ネットワーク(脊索形成・脊索)が新たに加わったと考えることができる。しかし、この進化プロセスに焦点を当てた進化発生学的解析は行われていない。これまでに頭索動物(ナメクジウオ)の *Brachyury* 遺伝子の発現制御領域を尾索動物(ホヤ)の胚を用いた解析から Primary と Secondary の発現制御領域が明らかになってきた。非常に面白いことに主に 5' 上流領域とイントロン領域に Primary の発現を担う領域が、3' 下流領域とイントロン領域に Secondary の「脊索」での発現を担う領域が存在することが示唆された。今後さらに脊索を持たない近縁の棘皮動物(ヒトデ)と半索動物(ギボシムシ)の胚において *Brachyury* 遺伝子の発現制御領域がどのように働くのか、この進化プロセスの解析を展開することが可能になった。

2012)。すなわち、刺胞動物から脊索動物にいたるまで原口領域に一過性に発現する Primary Brachyury ネットワーク(原腸形成・原口)に加えて、脊索動物誕生とともに持続的に発現機能する Secondary Brachyury ネットワーク(脊索形成・脊索)が新たに加わったと考えることがで

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Tominaga, H., Satoh, N., Ueno, N. & Takahashi, H.	4. 巻 56
2. 論文標題 Enhancer activities of Amphioxus Brachyury genes in embryos of the ascidian, <i>Ciona intestinalis</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genesis	6. 最初と最後の頁 e23240
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/dvg.23240	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hitoshi Tominaga, Noriyuki Satoh, Naoto Ueno, Hiroki Takahashi
2. 発表標題 Enhancer activities of Amphioxus Brachyury genes in the ascidian <i>ciona</i> embryos
3. 学会等名 10th International Tunicate Meeting（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富永育、佐藤矩行、上野直人、高橋弘樹
2. 発表標題 ナメクジウオの二つのBrachyury遺伝子のエンハンサー機能解析
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

基礎生物学研究所 形態形成研究部門 形態形成の進化
<https://www.nibb.ac.jp/morphgen/summary/lightbox/hoya.html>

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		
中国	Xiamen University		