

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：38005

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06662

研究課題名(和文)ペプチド作動性神経系に共通する分子シグネチャーに基づく祖先的神経細胞の再構築

研究課題名(英文) Reconstruction of the ancestral neurons based on the common molecular signature of peptidergic nervous systems of early branching metazoans

研究代表者

渡邊 寛 (Watanabe, Hiroshi)

沖縄科学技術大学院大学・進化神経生物学ユニット・准教授

研究者番号：80356261

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：神経細胞の獲得は動物の進化における大きなイベントの一つであるが、祖先的神経細胞がどのような性質を備えていたのかについては未だに不明である。申請者は、クシクラゲの一種カブトクラゲを材料に最先端の質量分析技術を用いた網羅的ペプチドミクスを行った。現在までに、多くの神経ペプチドの同定に成功し、免疫染色によりそれらが発現する神経細胞を同定した。また単一細胞トランスクリプトームデータを用いた発現解析から、クシクラゲと刺胞動物/左右相称動物のペプチド発現神経細胞が類似の遺伝子シグネチャーを有することを見出した。今回の知見は、動物の進化においてペプチド性神経細胞が最初に登場した可能性を強く示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年のクシクラゲゲノムの解読は、最も原始的な系統の一つであるこの動物系統が、多くの神経関連遺伝子を欠いていることを示し、このことからクシクラゲ類の神経細胞が独立に進化したとする仮説が提唱されるなど、注目度の高いトピックである。しかし、このテーマに関する国内外の研究のほとんどがゲノム情報に基づく遺伝子の保存性の議論に終始しているのに対して、申請者らは独自のアプローチで神経ペプチドを多数見出し、さらにクシクラゲと刺胞動物/左右相称動物の神経系の相同性を示した。以上の知見は、最も祖先的な神経細胞の進化的起源を理解する上で極めて重要な情報を提供しており、世界的にも非常にインパクトのある研究である。

研究成果の概要(英文)：Acquisition of neurons is one of the major events in animal evolution, but the properties of ancestral neurons at early phase of animal evolution are still unknown. In this study, we performed a comprehensive peptidomic analysis using state-of-the-art mass spectrometry technology. We have successfully identified many neuropeptides in a ctenophore species *Bolinopsis mikado*, and identified neurons and neurosecretory cells in which the peptides are expressed. We found that the peptide-expressing neurons in Ctenophora and Cnidaria/Bilateria have similar genetic signatures, suggesting that peptidergic neurons may have appeared first in animal evolution.

研究分野：進化発生生物学

キーワード：クシクラゲ 神経細胞 神経ペプチド 進化 起源

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経系というシステムが、進化の初期段階でどのようにして機能し始めたのかについては不明である。この問題の解決のため、動物の初期進化において分岐した系統(原始後生動物)の現生種を用いた解析が始まっている。特に、神経細胞を有する現生系統の中で最も初期に分岐した有櫛動物を対象に研究が進んでおり、現在までにゲノム解析などが行われた。しかしながら、この系統が多く神経関連遺伝子を欠いていることが明らかとなり、有櫛動物の神経細胞は独立に進化したとする仮説が提唱された(Moroz et al., Nature 2014)。一方で、現在の議論に関する研究のほとんどがゲノム配列における神経関連遺伝子の保存性の議論に留まっており、神経細胞の起源に関してはいまだ議論が続けられているのも現状である。

2. 研究の目的

申請者は、神経生理学的特徴の初期進化過程を研究する中で、神経マーカーが見つからない有櫛動物などの原始後生動物において、神経ペプチドが神経伝達物質として機能している可能性に気がついた。そこで本研究では、祖先神経細胞における神経伝達物質(生理学的特性)と分子的な特徴(遺伝子シグネチャー)を明らかにすることを目的とした研究を計画した。

3. 研究の方法

原始後生動物におけるニューロペプチドミクス：本研究では、有櫛動物を含む複数の原始後生動物系統を対象に超高感度質量分析装置とインフォマティクスの連携による神経ペプチドの網羅的同定を進めた。またこれにより同定されたペプチドに対して抗体を作成し、免疫染色による神経ペプチド発現細胞の確認も行った。

ペプチド作動性神経細胞の進化的に保存された神経遺伝子要素の解明：また原始後生動物及び左右相称動物の単一細胞トランスクリプトームデータを利用し、神経ペプチド発現細胞の遺伝子シグネチャーを比較した。これらの遺伝子シグネチャーをもとに、神経細胞の有無(刺胞/有櫛/左右相称 vs 平板/海綿)やペプチド作動性システムの有無(刺胞/平板/有櫛/左右相称 vs 海綿)に関連した遺伝子要素を *in silico* で同定し、ペプチド作動性神経細胞に関する進化的に保存された遺伝子特性を精査した。

原始後生動物の神経分化機構の解析：ペプチド作動性神経細胞の分化に関わる転写因子の機能を解析する。神経系の起源が別と考えられている刺胞動物と有櫛動物の受精卵を用いて、遺伝子機能を阻害し、ペプチド作動性神経細胞の分化及び神経遺伝子の発現を検討することで、神経分化機構の相同性を実験的に検証した。

4. 研究成果

近年、原始後生動物のゲノムが次々と解読され、神経細胞に特異的と考えられてきた多くの遺伝子は、神経細胞の出現以前にすでに獲得されていたことが明らかとなっている。しかし原始後生動物の単一細胞トランスクリプトームデータを英刺した結果、我々はシナプス構成タンパクや古典的な低分子量神経伝達物質の合成酵素などの多くの「神経遺伝子」が、原始後生動物では神経

特異的な発現パターンを示さないことを見出した。以上のことから、進化のごく初期段階の神経細胞では、低分子量神経伝達物質とは異なるメッセンジャーが中心的な機能を担っていた可能性を示すと同時に、従来の神経関連遺伝子の発現比較だけでは祖先的な神経細胞の性質の理解には不十分であることを示唆された。

原始後生動物のモデル動物を対象にした超高感度質量インフォマティクス解析により、有櫛動物であるカプトクラゲ並びにクラゲムシから多くのアミド化ペプチドを同定することに成功した。これらのペプチドに対する特異的な抗体を作成し、免疫化学染色により組織内分布を検証した結果、神経突起を有する神経細胞において特異的に発現する複数の「神経ペプチド」を特定した。次に、カプトクラゲの近縁種である *Mnemiopsis leydi* の単一細胞トランスクリプトームデータを用い、これらの神経ペプチド遺伝子の発現プロファイルを検証した結果、未同定であった「神経細胞クラスター」を特定することに成功した。そこで、この神経細胞クラスターで発現する神経関連遺伝子群を精査したところ、神経ペプチドのような短鎖生理活性ペプチドを産生するために必要な一群の遺伝子を高く発現していることが明らかとなった。これは、低分子量神経伝達物質の放出に関わる遺伝子群が、有櫛動物では非神経細胞で多く発現しているのと対照的であり、このことは、進化的に最も祖先的な神経伝達がペプチドシグナルによって担われていたという可能性を示唆する。これらの成果は既に以下で報告した。

Hayakawa, E., Guzman, C., Horiguchi, O., Kawano, C., Shiraishi, A., Mohri, K., Lin, M. H., Nakamura, R., Nakamura, R., Kawai, E., Komoto, S., Jokura, K., Shiba, K., Shigenobu, S., Satake, H., Inaba, K., & Watanabe, H. Mass spectrometry of short peptides reveals common features of metazoan peptidergic neurons. *Nature Ecology & Evolution*, doi: [10.1038/s41559-022-01835-7](https://doi.org/10.1038/s41559-022-01835-7) (2022)

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 Hayakawa Eisuke, Guzman Christine, Horiguchi Osamu, Kawano Chihiro, Shiraishi Akira, Mohri Kurato, Lin Mei-Fang, Nakamura Ryotaro, Nakamura Ryo, Kawai Erina, Komoto Shinya, Jokura Kei, Shiba Kogiku, Shigenobu Shuji, Satake Honoo, Inaba Kazuo, Watanabe Hiroshi	4. 巻 6
2. 論文標題 Mass spectrometry of short peptides reveals common features of metazoan peptidergic neurons	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 1438 ~ 1448
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41559-022-01835-7	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3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hiroshi Watanabe
2. 発表標題 Common Features of Metazoan Peptidergic Neurons Support Their Single Origin.
3. 学会等名 West Pacific Marine Biology International Conference.（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊寛, グズマン クリスティーン, 堀口 理, 早川 英介
2. 発表標題 クシクラゲのペプチド発現神経の特徴と機能から見える神経細胞の進化的起源
3. 学会等名 日本動物学会・第93回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 毛利蔵人, 堀口理, 早川英介, 渡邊寛
2. 発表標題 有櫛動物におけるペプチド作動 性神経系の普遍性
3. 学会等名 日本動物学会・第93回年会
4. 発表年 2022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	早川 英介 (Hayakawa Eisuke) (20739809)	沖縄科学技術大学院大学・進化神経生物学ユニット・グルー プリーダー (38005)	
研究 分担者	稲葉 一男 (Inaba Kazuo) (80221779)	筑波大学・生命環境系・教授 (12102)	

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
---------	---------