



Evolutionary Theory for

CONSTRAINED & DIRECTIONAL DIVERSITIES

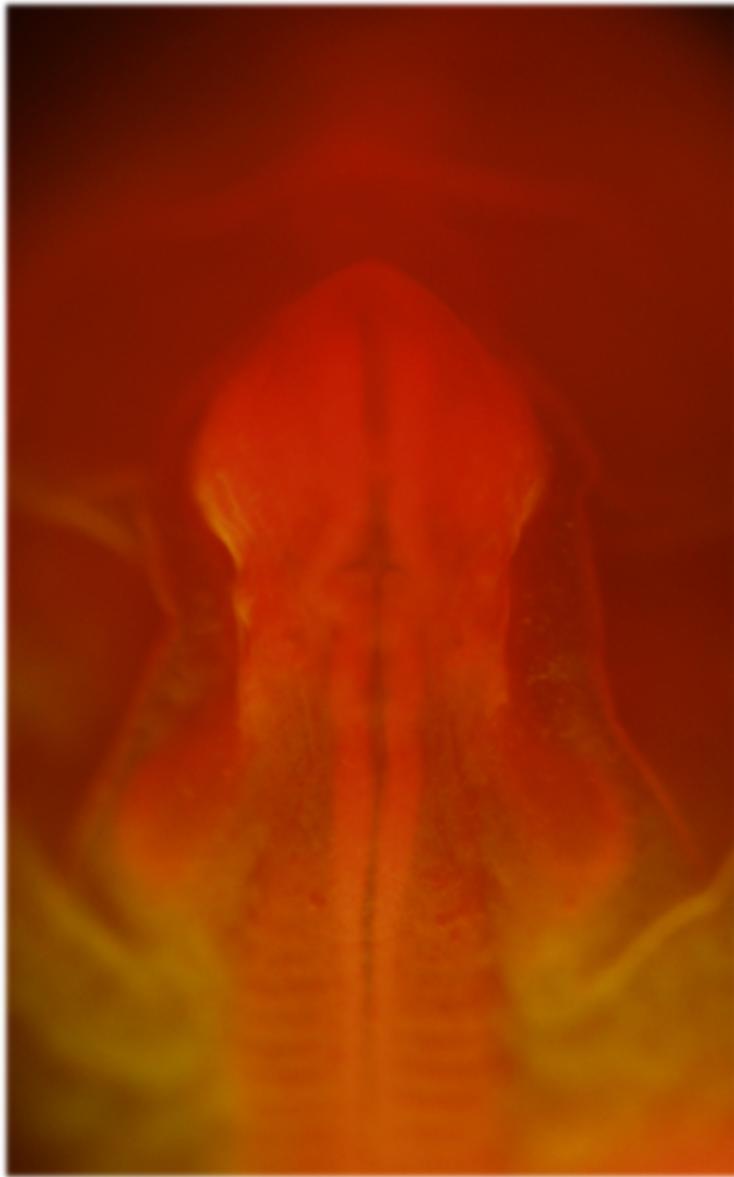
Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 2 No. S1 (2018)

新学術領域研究

進化の制約と方向性

～微生物から多細胞生物までを貫く表現型進化原理の解明～



号外

ヌタウナギとヤツメウナギから明らかになった
脊椎動物Hoxコードの共線性の起源

Hagfish and lamprey *Hox* genes reveal conservation of temporal colinearity in vertebrates

Nature Ecology & Evolution 2, 859–866 (2018)

doi:10.1038/s41559-018-0526-2

<https://www.nature.com/articles/s41559-018-0526-2>

Juan Pascual-Anaya* (jpascualanaya@gmail.com), Iori Sato, Fumiaki Sugahara, Shinnosuke Higuchi, Jordi Paps, Yandong Ren, Wataru Takagi, Adrián Ruiz-Villalba, Kinya G. Ota, Wen Wang, Shigeru Kuratani

Hox genes exert fundamental roles for proper regional specification along the main rostro-caudal axis of animal embryos. They are generally expressed in restricted spatial domains according to their position in the cluster (spatial colinearity)—a feature that is conserved across bilaterians. In jawed vertebrates (gnathostomes), the position in the cluster also determines the onset of expression of *Hox* genes (a feature known as whole-cluster temporal colinearity (WTC)), while in invertebrates this phenomenon is displayed as a subcluster-level temporal colinearity. However, little is known about the expression profile of *Hox* genes in jawless vertebrates (cyclostomes); therefore, the evolutionary origin of WTC, as seen in gnathostomes, remains a mystery. Here, we show that *Hox* genes in cyclostomes are expressed according to WTC during development. We investigated the *Hox* repertoire and *Hox* gene expression profiles in three different species—a hagfish, a lamprey and a shark—encompassing the two major groups of vertebrates, and found that these are expressed following a whole-cluster, temporally staggered pattern, indicating that WTC has been conserved during the past 500 million years despite drastically different genome evolution and morphological outputs between jawless and jawed vertebrates.

ヌタウナギとヤツメウナギから明らかになった 脊椎動物 Hox コードの共線性の起源

Nature Ecology & Evolution 2, 859–866 (2018)

doi:10.1038/s41559-018-0526-2

<https://www.nature.com/articles/s41559-018-0526-2>

Juan Pascual-Anaya* (jpascualanaya@gmail.com), 佐藤伊織, 菅原文昭,
樋口真之輔, Jordi Paps, Yandong Ren, 高木亙, Adrián Ruiz-Villalba, 太田欽也,
Wen Wang, 倉谷滋

Hox 遺伝子群は、動物胚の前後軸上の特異化に際して重要な機能を持つ。これら遺伝子群は一般に、Hox 遺伝子クラスター内の相対的位置と同じ序列で胚体に発現し(空間的共線性)、このパターンは左右相称動物全体で保存されている。顎のある脊椎動物(現生顎口類)では、クラスター内の位置と Hox 遺伝子の発現開始時期の間にも相関性が現れ、この特徴はクラスター全体の時間的共線性 (whole-cluster temporal colinearity: WTC)として知られる。しかし無脊椎動物では、同様の共線性はサブクラスターレベルでしか見られない。顎のない脊椎動物(円口類)では、これまで Hox 遺伝子の発現プロファイルがほとんど知られておらず、WTC の起源も謎に包まれていた。今回我々は、円口類の Hox 遺伝子群が発生中に WTC を伴って発現することを示す。脊椎動物の 2 つの主要分類群に対応する 3 つの異なる種(ヌタウナギ、ヤツメウナギ、およびサメ)の Hox 遺伝子レパートリーおよびその発現プロファイルを調べた結果、Hox 遺伝子制御の序列が、クラスター全体にわたり WTC を示すことが明らかになった。これは、円口類と顎口類が著しく異なったゲノムや形態を持つにもかかわらず、両者の間で WTC が過去 5 億年にわたり保存されてきたことを物語る。

背景

Hox 遺伝子群は、動物の頭尾軸に沿った形態的特異化に機能する。この Hox 遺伝子群の機能が進化的にどのように変遷してきたかを理解することは、「ヒトの解剖学的構築がどのようにして成立してきたのか？」という根源的な謎を理解する上で不可欠である。哺乳類における頭、尾、四肢、ショウジョウバエなど昆虫における触覚、2対の翅、3対の脚などは、すべて Hox 遺伝子群の発現を介した位置情報の成立に基づいて形成される。このため、Hox 遺伝子の変異は胚発生における重篤な奇形をもたらす。例えばヒトにおける多指症(6本以上の指をもつ)は HoxA、HoxD クラスターの制御領域の変異に起因する。

クラスター内に並ぶ Hox 各遺伝子の位置と順序は、非常に重要な発生学的要因である。まず、遺伝子の位置は、それが発現する体軸上の位置を定める。例えば、クラスターのより下流に位置する遺伝子は胚前方に発現するのに対し、上流に位置する遺伝子は胚のより後方に発現する。この現象は「空間的共線性 (spatial colinearity)」と呼ばれ、これまで調べられたほとんどの動物(ミズ、セミ、鳥など)に見出される。一方で Hox 遺伝子の位置関係は、発現のタイミングに関わることもある。これは「時間的共線性 (temporal colinearity)」と呼ばれるが、すべての動物群で共通な様式として見られるわけではない。脊椎動物、特に顎のある脊椎動物(顎口類)の Hox 遺伝子群のそれぞれの発現時期は、クラスター全体の遺伝子の配列順序に従っており、これを「全クラスターの時間的共線性 (whole-cluster temporal colinearity: WTC)」と呼ぶ。これに対し、脊椎動物以外の Hox 遺伝子群は単一の Hox クラスターからなるものの、いくつかのグループ(サブクラスター)に分断されており、そのグループ内においてのみ、前方の遺伝子は後方の遺伝子より先に発現する。これは「サブクラスターレベルの時間的共線性 (subcluster-level temporal colinearity: STC)」と呼ばれる。この時間的共線性の2つの状態(WTC、STC)は、進化上いつ成立したのか、とりわけ脊椎動物の共通祖先が WTC と STC、どちらの状態であったのかについては、いまだ解明されていない。また、脊椎動物の成立以前の祖先では、どのような制御により Hox 遺伝子群は発現していたのだろうか？

研究手法と成果

上記の謎を解明し、我々のボディプランの起源を理解するため、当研究グループでは、顎口類の姉妹群に位置する謎の多い顎のない脊椎動物、円口類を調べることにした(図1)。というのも、これまで円口類の Hox 遺伝子群の発現が、時間的共線性をもつかどうか未解明であったからである。円口類はヤツメウナギ、ヌタウナギの2系統に分類される(図1)が、理化学研究所 BDR の倉谷滋主任研究員が率いる形態進化研究チームは、日本産カワヤツメ(*Lethenteron camtschaticum*)および浅海性のヌタウナギ(*Eptatretus burgeri*)の発生学において豊富な経験をもち、その成果によりこの研究分野をリードしてきた。円口類のうち、ヤツメウナギの Hox 遺伝子レパートリーは近年報告された(図1)(Mehta et al., 2013)。それによると、ヤツメウナギは顎口類より多くの Hox クラスターを持ち、また非常に長大であるなど複雑であるらしい(図1)。加えて、いくつかの先行研究により、ヤツメウナギの Hox 遺伝子群は時間的共線性を示さない可能性が示唆されていた(Takio et al., 2007)。そこで我々はまず、これまで Hox 遺伝子に関する知見の乏しい円口類のもう一つの系統、ヌタウナギについて調べることにした。RNA-seq によるヌタウナギ胚および幼若個体のトランスクリプトーム解析(図1)、および成熟個体の血液ゲノム DNA に由来する BAC ライブラリーと生殖細胞のゲノムの解析を行ったところ、ヌタウナギからヒトとほぼ同数の40個の Hox 遺伝子が同定された(ヒトは39個、ヤツメウナギは43個)。興味深いことに、ヌタウナギ Hox 遺伝子は、顎口類よりも多くのクラスターに分かれており、ヤツメウナギのクラスター構造と類似していた。さらに、ヤツメウナギとヌタウナギはどちらも Hox12 をゲノムから欠いていることが判明した。これは、Hox12 の欠

矢がヤツメウナギとヌタウナギが分岐する以前の共通祖先の段階において起こったことを示唆する。

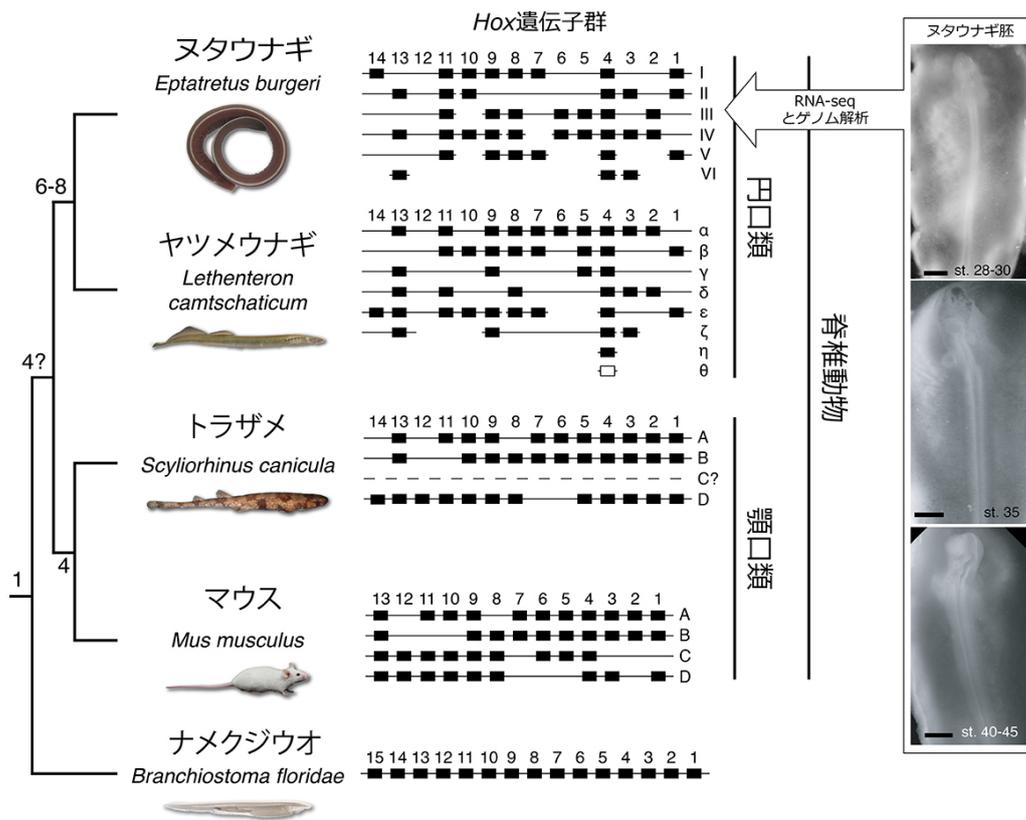


図1. 脊椎動物とナメクジウオの系統樹と、Hox 遺伝子レパートリー。現生の脊椎動物は、顎口類と円口類の2つの主要なグループに分けられる。ナメクジウオは単一の Hox クラスターしかもたないが、これは、ナメクジウオの祖先が全ゲノム重複より前に分岐したからである。したがって、脊椎動物とナメクジウオの共通祖先は、おそらく単一の Hox クラスターをもっていた。脊椎動物が複数のクラスターをもつのは、全ゲノム重複を複数回経験しているからであるが、祖型としては4クラスター(2回の重複)だと考えられており、サメやマウスなどはその状態を保持している。本研究で我々は、ヌタウナギ胚のトランスクリプトーム解析や生殖細胞のゲノム解析を行い、ヌタウナギがヤツメウナギと極めて類似した、4つ以上の Hox クラスターをもつことを明らかにした。つまり、円口類の系統で独自のゲノム重複が起こったと考えられる。系統樹内の数字は、その位置において推定される Hox クラスター数。

次に、ヤツメウナギとヌタウナギの Hox 遺伝子群の発現様式が時間的共線性を示すのか、示すのなら WTC、STC のどちらであるかを解析した。ヤツメウナギ、ヌタウナギ、および顎口類の代表としてトラザメ (*Scyliorhinus torazame*) を使用し、複数の発生段階の胚から RNA-seq による包括的な発現データを得た。その結果、従来の報告通り、顎口類であるサメの Hox 遺伝子群は明瞭に WTC の発現様式を示し、クラスター全体において前方の(数字の若い) Hox 遺伝子群が後方の遺伝子より先に発現する傾向が見られた(図2)。これに対しヌタウナギでは、得られた胚が限られていたこともあり、それほど明瞭な傾向は見られなかったものの、後方の Hox11-13 遺伝子は、後期の胚の方が初期の胚に比べて強く発現していた。また、前方と中間の Hox 遺伝子群は、初期の胚でより強く発現していた。いっぽう、ヤツメウナギはより多くの発生段階から発現データが得られたこともあり、トラザメで見られたような WTC の発現様式を明瞭に示すことがわかった。以上から、円口類を含むすべての脊椎動物において、Hox クラスター全体が時間的共線性; WTC の様式に従い発現することが明らかになった。つまり、WTC は少なくとも現生

脊椎動物の共通祖先の段階で、すでに成立していたのである。

次の疑問は、WTC が脊椎動物の成立よりさかのぼり、脊索動物の進化の過程に起源を發するのからである。この点を解明するため、我々はすでに公開されているナメクジウオの発現データの再解析を試みた (Yang et al., 2016)。ナメクジウオはゲノムの再編成が著しいホヤと異なり、完全な単一の Hox クラスターを保持している (図1) ため、時間的共線性を解析するのに適した動物といえる。ナメクジウオ胚の Hox 遺伝子の発現レベルを各発生段階において新たに解析したところ、Hox1~5 のみが時間的共線性を示すことが判明し、全クラスターレベルにわたる時間的共線性は示さなかった (図2)。では、ナメクジウオ Hox 遺伝子に見られる時間的共線性はサブクラスターレベル;STC であると言っているのかというと、実はそう単純ではない。というのも脊椎動物以外で定義される STC は、Hox1 から 2 もしくは 3 までの最前方の Hox において見られるのが一般的である。従って、ナメクジウオで見られた Hox1~5 まで連続する時間的共線性は、WTC が二次的に「崩壊した」結果であるとも考えられる (broken colinearity 仮説; Pascual-Anaya et al., 2012)。もしこの仮説が正しいとすると、WTC の起源はより古く、現生の脊索動物の共通祖先にまでさかのぼることになる。

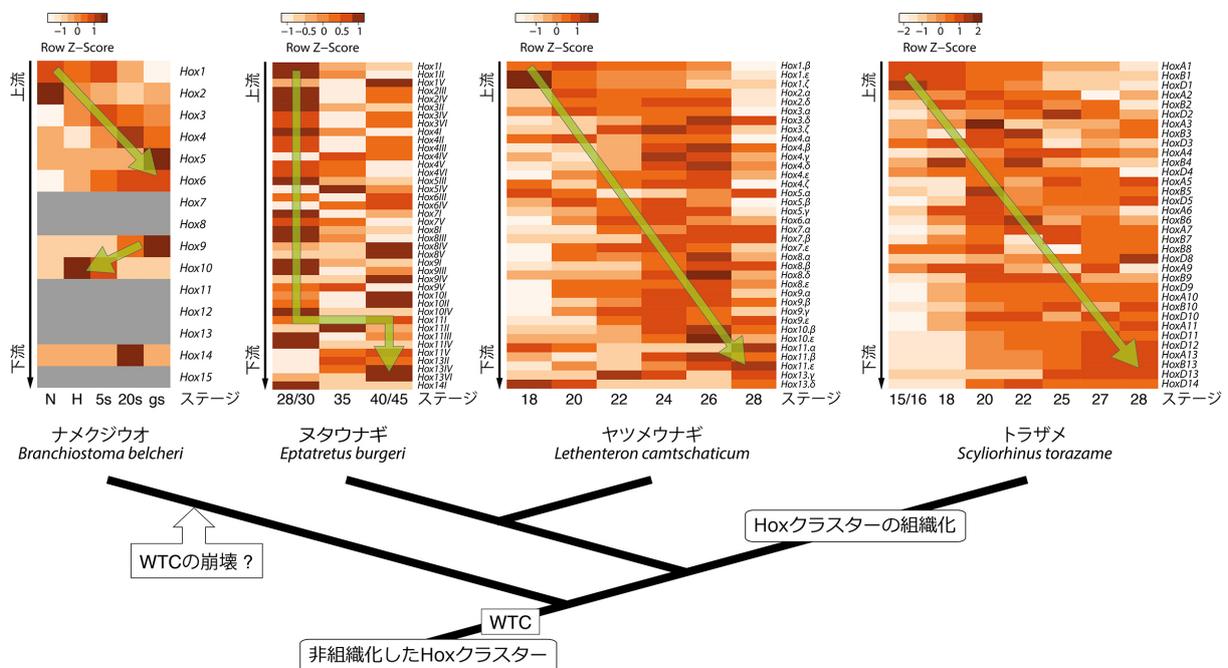


図2. 上部のヒートマップは、ナメクジウオ、ヌタウナギ、ヤツメウナギ、トラザメ各系統における、Hox 遺伝子群の発生段階ごとの発現強度を示す。下部は本研究から推定される Hox 遺伝子の進化のシナリオ。ヤツメウナギとトラザメは明瞭に全ゲノムの時間的共線性 (WTC) を示している。すなわち数字の若い Hox 遺伝子は発生初期に発現し、数字の大きいものは後期に発現する。ヌタウナギ胚は入手が非常に難しく、解析が困難であるが、それでもこの傾向をわずかに見て取ることができる。ナメクジウオの場合 Hox1 から 5 のみが時間的共線性を示しているが、これはおそらく派生的な状況であると推測される (クラスターレベルの時間的共線性;STC はふつう最も前方の Hox1-3 においてのみ見られるため)。また、ヤツメウナギとヌタウナギはともに長大なクラスターをもつことから、コンパクトに組織化された Hox クラスターは顎口類の系統で進化したと考えられる。

今後の期待

円口類やナメクジウオの *Hox* クラスターは顎口類に比べ非常に長大で、「非組織化」した状態だとされる (Duboule, 1997)。一方で、顎口類の *Hox* クラスターは進化の過程でコンパクト化しており、「組織化した」状態をつくっている。顎口類の *Hox* クラスターをこのような状態へ向かわせた進化の過程については未解明であるが、脊椎動物の進化過程で起こった2回の全ゲノム重複が、その原動力だとする説が提出されている。この全ゲノム重複がいつ、どのように起こったのか(円口類と顎口類の分岐以前なのか、以降なのか)を知るためには、ヌタウナギのゲノムを解読することが不可欠である。当研究グループはすでに中国、ヨーロッパ、日本からなる国際コンソーシアムを結成し、ヌタウナギゲノムの解読に取り組んでいる。ヌタウナギと他の脊椎動物とのゲノム比較が、脊椎動物のゲノム構造の起源と進化についての問題を解く鍵となるであろう。それは、なぜ我々の *Hox* クラスターがコンパクトに組織化したのかについても光明を与えてくれるかもしれない。

References

- Duboule, D. The rise and fall of *Hox* gene clusters. *Development* 134, 2549–2560 (2007).
- Mehta, T. K. et al. Evidence for at least six *Hox* clusters in the Japanese lamprey (*Lethenteron japonicum*). *Proc Natl Acad Sci USA* 110, 16044–16049 (2013).
- Pascual-Anaya, J. et al. Broken colinearity of the amphioxus *Hox* cluster. *EvoDevo* 3, 28 (2012).
- Takio, Y. et al. *Hox* gene expression patterns in *Lethenteron japonicum* embryos—insights into the evolution of the vertebrate *Hox* code. *Dev Biol* 308, 606–620 (2007).
- Yang, K. Y. et al. Transcriptome analysis of different developmental stages of amphioxus reveals dynamic changes of distinct classes of genes during development. *Sci Rep* 6, 23195 (2016).

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 2 No. S1

発行：2018年5月29日

発行者：新学術領域研究「進化の制約と方向性～微生物から多細胞生物までを貫く表現型
進化原理の解明～」(領域代表者 倉谷 滋)

編集：Constrained & Directional Evolution Newsletter 編集委員会(編集責任者 深津 武馬)

領域 URL：<http://constrained-evo.org/>