

ゲノム情報検索で解読した神経系遺伝子の出現と進化

菊田 浩希 (大学院創成科学研究科ライフサイエンス系専攻)

荒木 幸次 (大学院創成科学研究科化学系専攻)

荒牧 孝弘 (大学院創成科学研究科化学系専攻)

久保 友雅 (大学院創成科学研究科化学系専攻)

多葉田 菜月 (大学院創成科学研究科化学系専攻)

本菌 尚悟 (大学院創成科学研究科化学系専攻)

星田 尚司 (大学院創成科学研究科化学系専攻)

赤田 倫治 (大学院創成科学研究科化学系専攻)

Emergence and evolution of neuronal genes deciphered by genome informatics

Hiroki KIKUTA (Division of Applied Chemistry, Graduate School of Sciences and Technology for Innovation)

Koji ARAKI (Division of Applied Chemistry, Graduate School of Sciences and Technology for Innovation)

Takahiro ARAMAKI (Division of Applied Chemistry, Graduate School of Sciences and Technology for Innovation)

Yuga KUBO (Division of Applied Chemistry, Graduate School of Sciences and Technology for Innovation)

Natsuki TABATA (Division of Applied Chemistry, Graduate School of Sciences and Technology for Innovation)

Shogo MOTOZONO (Division of Applied Chemistry, Graduate School of Sciences and Technology for Innovation)

Hisashi HOSHIDA (Division of Applied Chemistry, Graduate School of Sciences and Technology for Innovation)

Rinji AKADA (Division of Applied Chemistry, Graduate School of Sciences and Technology for Innovation)

Abstract: Human neuronal proteins were searched to various animal genomes along with the phylogenetic tree using higher than 50% of query cover for the homology evaluation to know the presence or absence of homologs. Using the query cover value and gene ID of searched proteins, the number of homologous genes in the genomes was identified. The results showed that numbers of genes of synaptotagmin, neuronal channel proteins and myelin sheath proteins are increased along with evolution, implicating that these genes have roles in the development of neuronal network and neurotransmission. At the emergence of mammals, MEPE is appeared but missed only in egg-laying mammals. MEPE is a brain-specific protein negatively regulating bone mineralization. The emergence of MEPE is linked with the emergence of fetal animals. HTT gene of Huntington's disease known as poly Q disease is appeared from lamprey, an ancestor of vertebrate. The lamprey HTT protein contains only one Q but the number of Q and also P existing next to poly Q in higher animals is dramatically increased and human has the longest poly Q-poly P sequence, suggesting that increase of the length of poly Q and P may have evolutionary role in brain development. The results of gene emergence and gene number transition in this study elucidated evolutionary history of neuron and brain development.

Key Words: Neuronal gene, synaptotagmin, syntaxin, HTT, SNCA, MEPE, human brain, *Homo sapiens*, *Latimeria chalumnae*, *Petromyzon marinus*, *Trichoplax adhaerens*

1. はじめに

ヒトの脳は、全生物種の中で最も進化し、高度に神経系が発達していると考えられることに異論はないと思われる。この高度な神経系がどのように発達してきたかを調べることは、脳機能の理解にとっても、さらには、脳疾患に関与する遺伝子の病原性を考察することにも役立つと考えられる。

発達したヒトの脳神経系で機能する遺伝子群は、下等な生物に存在する神経系遺伝子が基本となり、進化の過程で新たに現れた神経系遺伝子が、脳の発達を促し、少しずつ高度な脳を作り上げ、最終的にヒトの脳に辿り着いたと考えることができる。生物

種の系統進化、例えば、脊索動物から、魚類、両生類、爬虫類、鳥類、哺乳類などへの進化に伴って、脳が発達進化した過程と、神経系遺伝子の出現変化が連携しているのか、それとも別々に進化しているのかも興味深い。また、神経系遺伝子の祖先型はいつから存在するのか、いつ、どの遺伝子が発達することによって複雑な神経系が形成されたかも、生物の系統進化や脳の発達と、神経系遺伝子の出現変化との関連を調べることによって理解が可能かもしれない。そこで、下等から高等へ、生物種が進化してきた歴史の中で、どのような神経系遺伝子が、どの段階で現れ、どのように変化発達してきたかを探る

ことにした。

神経系は、散在神経系を持つ真正後生生物である平板動物(センモウヒラムシ)付近から発生しているとされており、口の周りなどの一部に神経系が集まる周口神経系などを経て、神経が集中することで、中枢神経系と成り、複雑さを増し、我々の脳にまで進化したと考えられている¹⁾。

これまでに、特定動物の形態と神経系の構造を近縁生物と比較することで神経系の進化の予測を行った研究^{1,2)}や左右相称動物の神経系遺伝子と刺胞動物であるイソギンチャクとヒドラで相同性のある遺伝子を探すような近縁動物間の神経系の進化を調べた研究³⁾が行われてきた。また、ゲノムシーケンズプロジェクトにより様々な生物の神経系関連遺伝子の有無を比較することが可能となり、これを用いて神経系の起源と進化を明らかにするための研究も行われている。特定のヒト神経系遺伝子群がどこまで下等な生物まで存在しているのかを調べた研究も存在する⁴⁾。しかしながら、これまでの研究では、神経系遺伝子の有無だけが注目されていたことから、神経系の各遺伝子の数や配列が、生物種間でどのように変化し、これらが、神経系の起源や進化、複雑さの獲得に寄与するのかを説明するには不十分であった。

そこで、本研究では、ヒト神経系遺伝子群に対する相同性検索によって各進化段階における代表的な生物種における相同性のある遺伝子を一定の基準を設定して網羅的に探索し、各進化段階における神経系遺伝子の数の変化や配列の変化の解析を行った。さらに、これらと神経系の発達の関連を考察した。その結果、本研究で初めて、神経系の起源と進化に寄与する一部の神経系遺伝子の数、配列の変化をとらえることができた。

2. 方法

ヒト神経系遺伝子の抽出

対象とするヒトの神経系遺伝子には、脳におけるmRNA発現量が他の臓器に比べて多い遺伝子群⁵⁾、または、脳疾患遺伝子として同定されているもののうち、アルツハイマー病原因遺伝子APP⁶⁾とパーキンソン病原因遺伝子SNCA⁷⁾、ハンチントン病原因遺伝子HTT⁸⁾、クフス病原因遺伝子DNAJC5⁹⁾、神経変性原因遺伝子MAPT¹⁰⁾、および、シナプス小胞に存在するタンパク質群¹¹⁾を用いた。発現量に関しては、遺伝子発現データ⁵⁾を参考にし、各組織のmRNA発現量の総和に対して大脳(cerebrum)での発現量が80%以上ある遺伝子を抽出し、候補とした。また、調査過程で明らかになった関連遺伝子群も検索に用いた。

相同性検索対象生物種の選定

National Center for Biotechnology Information (NCBI)のGenome data viewer (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/>)には、2021年9月1日時点で、692種の後生動物分類群(Metazoan)のゲノムが登録されており、それらの生物種が持つ全ゲノムが検索できる。

まず、各進化段階から代表的な生物種を選び、比較の方法を検討した(Fig. 1)。哺乳類からは、ヒト(Human, *Homo sapiens*)、ニシゴリラ(*Gorilla, Gorilla gorilla*)、ハツカネズミ(Mouse, *Mus musculus*)を選んだ。次に水中動物が陸生になる直前の姿を留めており、四肢動物と魚類の間に位置するとされているシーラカンス(Coelacanth, *Latimeria chalumnae*)を選んだ。さらに、脊椎動物の中で最も原始的な構造をしているとされており、全ゲノム重複が起きたと考えられているヤツメウナギ(Lamprey, *Petromyzon marinus*)^{12,13)}を加えた。さらに下等な半索動物からギボシムシ(Acorn worm, *Saccoglossus kowalevskii*)も加えた。また、神経系遺伝子を持っているかどうか

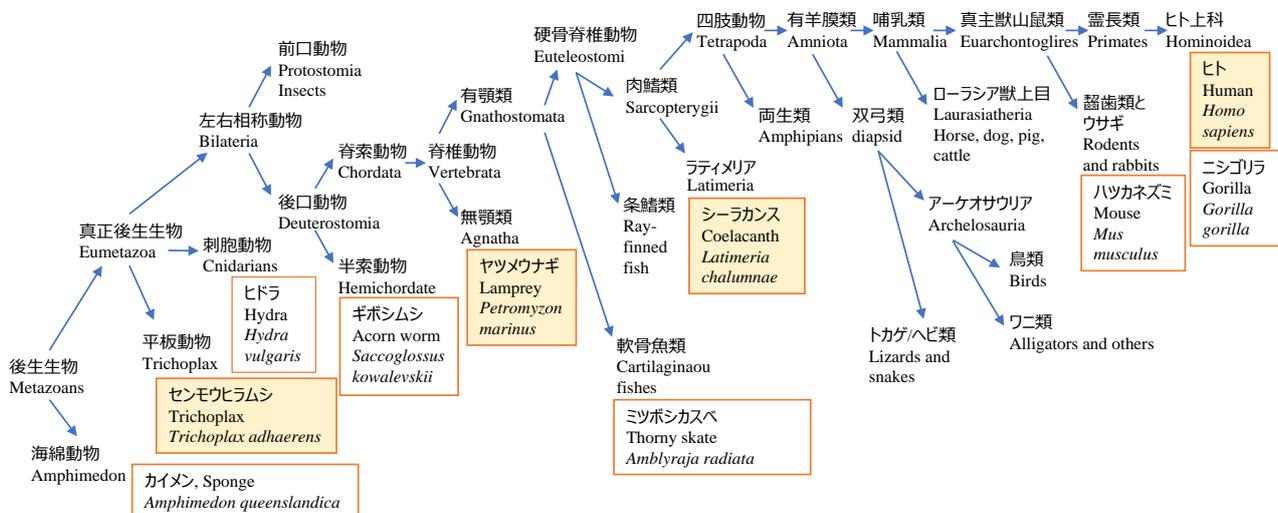


Fig. 1. Phylogenetic tree of animals having reference genome sequences

Human neuronal proteins are homology-searched to the genomes of trichoplax, lamprey, and coelacanth, and other animals.

の境界付近で、神経発生の最も下等な動物と考えられている平板動物のセンモウヒラムシ(*Trichoplax*, *Trichoplax adhaerens*)や、神経を持っていないとされているカイメン(*Sponge*, *Amphimedon queenslandica*)も含めた。昆虫類や甲殻類などが含まれる前口動物は神経系の発達様式がヒトなどとは異なる方向に進んでいると考えたため、今回の調査対象には含めていない。まず、ニシゴリラ、ハツカネズミ、シーラカンス、ヤツメウナギ、ギボシムシ、センモウヒラムシ、カイメンの7種類の生物で、ヒト神経系遺伝子と相同性を持つ、評価値の選定を行った。

相同遺伝子数の決定方法

まず、NCBIでヒト神経系遺伝子の各タンパク質配列を特定した。多くの場合、遺伝子に対してタンパク質は数種のアミノ酸配列が存在するが、その中から最も長いアミノ酸配列を持つタンパク質をコードする遺伝子を選択した。これらのタンパク質配列を用いて、ヒト、ニシゴリラ、ハツカネズミ、シーラカンス、ヤツメウナギ、ギボシムシ、センモウヒラムシ、カイメンの8種類のゲノムに対して、タンパク質間のBLAST検索(*blastp*)を行った¹⁴。異なるタンパク質アイソフォームが複数個検索結果に出ることがあった。それぞれのタンパク質のgene IDが同じ場合はquery cover率の低いものを削除した。また、query cover率が50%未満のものは除外した。これにより、query cover率50%以上を全体的相同性のある遺伝子と判断し、各生物種における遺伝子数を決定した。

3. 結果と考察

相同性検索に使う評価値の選定

タンパク質の相同性を検出する方法として、本研究ではBLAST¹⁴を用いた。BLAST検索では、query cover, e-value, identityの3つのデータが示される。

Query coverとは検索元の配列全長を100%としたときの、相同性を示す領域の長さの割合を示している。Identityは、相同性の高い短い領域でも高い値になるので、遺伝子全体の相同性ではなく、タンパク質のドメイン構造の相同性の高さを比較することになる場合がある。E-valueとは、配列が偶然に一致する場合の期待値であり、値が低いほど類似度が高い。

Query cover, e-value, identityのどれが遺伝子の全体的相同性を調べるのに適しているか判断するために、5つの遺伝子を各進化系統の動物で比較した(Fig. 2)。対象とした遺伝子は、シナプスタンパク質をコードするSYPNO、 α シヌクレインをコードしているSNCA、神経伸長因子をコードするBDNF、神経内分泌に関係するRTN1、ミエリン鞘関連遺伝子のPLP1である。BLASTにおいて相同性が検出されなかった動物種のquery cover, identityは0%とし、e-valueの場合は、グラフ最低値の1とした。Query coverのグラフ

では、SYPNOとRTN1はヤツメウナギからマウス、SNCAはギボシムシとヤツメウナギの間、BDNFはセンモウヒラムシとギボシムシの間、ヤツメウナギとシーラカンスの間、PLP1はセンモウヒラムシからヤツメウナギの間で顕著に上昇した。一方、同じ遺伝子をe-valueやidentityで評価すると、急激な上昇は見られず、徐々に相同性が高まるグラフになった。これは、タンパク質の短い領域の相同性レベルを計算に用いているのでタンパク質全体の評価ではない。特にe-valueは、比較する配列の長さに依存する値なので、配列が短いSNCAでは、ヒトの同一タンパク質同士で比較しても値が他の遺伝子より低くなり、複数の遺伝子を一律に比較するのには適さない。したがって、タンパク質全体の進化を評価するには、query coverを利用することがよいと判断した。

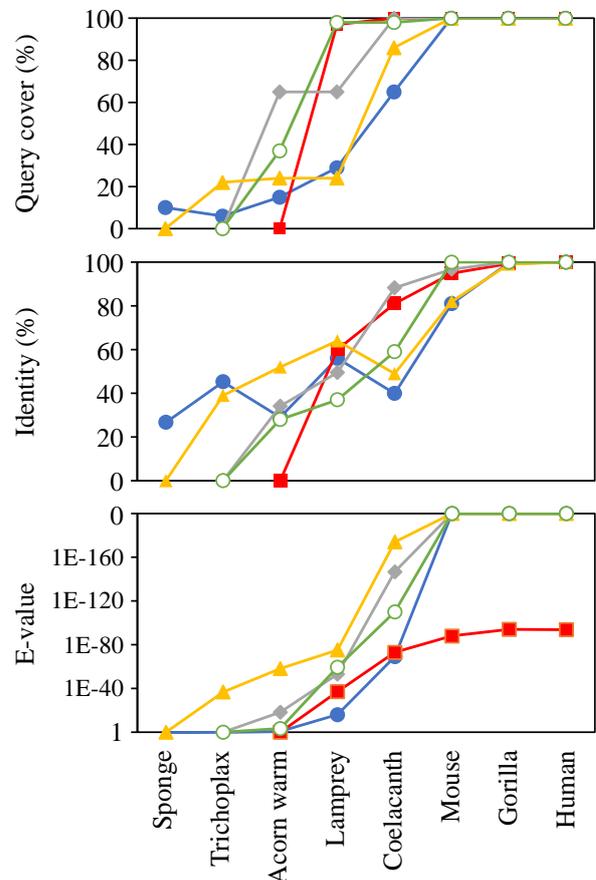


Fig. 2. Comparison of e-value, identity, and query cover values in homology search of human neuronal proteins to various animals.

Five human neuronal proteins, SYPNO (●), SNCA (■), BDNF (◆), RTN1 (▲), and PLP1 (○) were homology-searched by protein BLAST to the animals indicated. The proteins which show lowest e-values in each animal were used. No homology was shown 0% in identity and query cover, and 1 in e-value. E-value of SNCA was $2E-94$ against the same human SNCA protein due to the short (140 amino acid) length. Query cover was used for the evaluation of homologous gene emergence. Higher than 50% of query cover was determined as the value of the presence of human homologous gene in this study.

Table 1. Number of genes showing higher than 50% query cover to human neuronal proteins

Classification	Protein or gene name	Official gene symbol	Description	Number of genes (>50% query cover)			
				Trichoplax ヒラムシ	Lamprey ヤツメウナギ	Coelacanth シーラカンス	Human ヒト
Synaptobrevin	VAMP-1	VAMP1	vesicle-associated membrane protein	4	4	5	5
	VAMP-2	VAMP2	vesicle-associated membrane protein	5	4	5	4
	Cellubrevin	VAMP3	vesicle-associated membrane protein	4	4	5	5
Synaptogyrin	Synaptogyrin 1	SYNGR1	protein associated with presynaptic vesicles family	2	4	4	4
	Synaptogyrin 3	SYNGR3	synaptic vesicle protein	2	4	4	4
Synaptosomal-associated protein	SNAP-23	SNAP23	binds to syntaxins and synaptobrevins	1	1	1	1
	SNAP-25	SNAP25	presynaptic plasma membrane protein	3	4	3	2
	SNAP-29	SNAP29	SNAP25 gene family, synaptosomal-associated protein 29	0	1	1	1
	SNAP-47	SNAP47	synaptosomal-associated protein 47	0	1	1	1
Synaptotagmin	Synaptotagmin 1	SYT1	synaptic vesicle protein, synaptotagmin-1	10	30	42	21
	Synaptotagmin 2	SYT2	synaptic vesicle protein, synaptotagmin-2	12	30	44	23
	Synaptotagmin 5	SYT5	synaptic vesicle protein, synaptotagmin-5	10	29	42	23
	Synaptotagmin 14	SYT14	synaptic vesicle protein, synaptotagmin-14	2	14	18	20
Syntaxin	Syntaxin 1A	STX1A	syntaxin-1A	6	5	8	8
	Syntaxin 6	STX6	syntaxin-6	1	1	2	2
	Syntaxin 7	STX7	syntaxin-7	2	3	4	4
	Syntaxin 12	STX12	syntaxin-12	4	2	5	4
	Syntaxin 16b	STX16	syntaxin-16	1	2	2	3
Synaptic protein	SVOP	SVOP	synaptic vesicle 2-related protein	13	10	25	19
	SV2s	SV2A	synaptic vesicle protein interacted with synaptotagmin	7	5	5	4
	Synaptophysin	SYN1	synaptic vesicle protein, synaptophysin	1	3	4	3
	SYNPR	SYNPR	synaptoporin	2	3	4	4
	synapsin	SYN1	synapsin-1	0	2	3	3
	SYBU	SYBU	syntabulin that contributes to presynaptic assembly	0	0	2	2
	Synaptopodin	SYNPO	associated with postsynaptic densities and dendritic spines	0	0	1	1
Neuro-degenerative disorder	alpha-synuclein	SNCA	implicated in the pathogenesis of Parkinson disease	0	3	3	3
	CSP	DNAJC5	protein play a role in cystic fibrosis and Huntington's disease	0	2	2	4
	APP	APP	amyloid beta precursor protein	0	2	3	3
	Huntingtin	HTT	Huntingtin is a disease gene linked to Huntington's disease	0	1	1	1
	MAPT	MAPT	microtubule-associated protein tau	0	0	0	1
Channel	CACNA1G	CACNA1G	voltage-sensitive calcium channel	5	11	14	2
	KCNC2	KCNC2	voltage-gated potassium channel	3	37	27	24
	KCNH5	KCNH5	voltage-gated potassium channel	3	9	8	10
	KCNH7	KCNH7	voltage-gated potassium channel	3	8	8	4
	CACNG2	CACNG2	calcium voltage-gated channel auxiliary subunit gamma 2	0	7	7	4
	CACNG3	CACNG3	calcium voltage-gated channel auxiliary subunit gamma 3	0	4	8	7
Phosphatase	PPP2R2B	PPP2R2B	phosphatase 2 regulatory subunit B	5	5	6	5
	PPFIA2	PPFIA2	LAR protein-tyrosine phosphatase-interacting protein	1	3	4	4
	PHACTR3	PHACTR3	phosphatase and actin regulator protein family.	0	1	1	3
	PTPRR	PTPRR	protein tyrosine phosphatase	0	0	1	3
Transporter	NTT4	SLC6A17	transporter for the presynaptic uptake of neurotransmitters	17	23	25	19
	vGluT	SLC17A7	sodium-dependent phosphate transporter	4	5	5	9
	SLC17A6	SLC17A6	vesicular glutamate transporter 2	3	5	5	9
	ZnT-3	SLC30A3	zinc transporter	1	6	8	8
	vGAT	SLC32A1	amino acid/polyamine transporter	0	4	5	4
	SLC32A1	SLC32A1	GABA and glycine transporter	0	3	3	7
Myelin	PMP2	PMP2	peripheral myelin protein 2	3	10	15	14
	MAG	MAG	myelin associated glycoprotein	1	9	10	16
	PLP1	PLP1	transmembrane proteolipid protein	0	4	3	3
	MOG	MOG	involved in maintenance of the myelin sheath	0	0	4	6
Other	GAD1/GAD67	GAD1	glutamic acid decarboxylase	4	7	6	5
	YWHAH	YWHAH	14-3-3 family of proteins	2	5	7	8
	Reticulon 1	RTN1	neuroendocrine secretion	1	4	5	4
	DCX	DCX	doublecortin appears to direct neuronal migration	1	4	2	4
	PEX5L	PEX5L	PEX5-related protein	1	1	2	2
	PRMT8	PRMT8	arginine methyltransferase	1	1	2	2
	VWC2L	VWC2L	von Willebrand factor C domain-containing protein 2-like	0	9	10	6
	NXPH1	NXPH1	promote adhesion between dendrites and axons	0	5	4	1
	NKX2-2	NKX2-2	involved in the morphogenesis of the central nervous system	0	3	5	5
	BDNF	BDNF	nerve growth factor	0	3	4	3
	RBFOX1	RBFOX1	RNA-binding protein that regulates tissue-specific splicing	0	3	4	1
	PDYN	PDYN	secreted opioid peptides	0	3	3	2
	NEUROD6	NEUROD6	NEUROD family of transcription factors	0	2	4	3
	VSTM2B	VSTM2B	V-set and transmembrane domain-containing protein 2B	0	2	3	2
	RALYL	RALYL	RNA-binding Raly-like protein	0	2	2	8
	SCHIP1	SCHIP1	schwannomin-interacting protein 1	0	2	1	2
	ANKS1B	ANKS1B	multi-domain protein	0	1	1	2
	GAP43	GAP43	protein expressed at high levels in neuronal growth cones	0	0	1	1
	C2orf80	C2orf80	uncharacterized protein C2orf80	0	0	0	1
	Reticulon 3	RTN3	neuroendocrine secretion	0	0	0	1
MEPE	MEPE	calcium-binding phosphoprotein	0	0	0	1	

加えて、どの進化段階の生物種を調べることが、本研究の目的である神経系遺伝子の起源と発達を解析するのに適しているかを検討した。

Fig. 2で調べた神経系タンパク質は、ヒト、ゴリラ、マウスでquery coverがどの場合もほぼ100%に近いので、マウスとゴリラは調査対象から外した。カイメンとギボシムシも調査では除外し、ヒトの神経系タンパク質を、シーラカンス、ヤツメウナギ、センモウヒラムシの3種で検索し、query cover率50%以上を示す遺伝子数を調べた(Table 1)。Table 1の結果では、神経系遺伝子群の遺伝子数の変遷を示している。遺伝子数の変化が群ごとに特徴のあったシナプス関連遺伝子、channel関連遺伝子、ミエリン関連遺伝子、および、ヒト近縁で新たに出現したMEPEを取り上げて詳しく解析した。加えて、神経疾患原因遺伝子であるAPP、SNCA、およびHTTの出現と進化についても調べた。

シナプスの起源とシナプスタグミンの多様化による発達

神経伝達物質の放出に重要とされるシナプス関連遺伝子群である synaptobrevin, synaptogyrin, synaptosomal-associated protein, synaptotagmin, syntaxin, synaptic proteinから、シナプス関連遺伝子の出現と発達を考察した。ヒトシナプス関連遺伝子のほとんどで、最も下等なセンモウヒラムシでも相同性のある遺伝子を持っていたことから、古くから存在していたことがわかる(Table 1)。これらの遺伝子の起源を探するために、単細胞真菌類である酵母(*Yeast, Saccharomyces cerevisiae*)とマッシュルーム(*White mushroom, Agaricus bisporus*)、最も下等な多細胞生物とされるカイメンで調べた(Table 2)。シナプス関連遺伝子の中で、synaptobrevinとsyntaxinは、神経系を持たない酵母菌やマッシュルームにも相同性を持つ遺伝子が存在した (Table 2)。これらは、細胞内小胞上に存在するv-SNAREタンパク質¹⁵⁾と融合する標的膜上に存在するt-SNAREタンパク質¹⁶⁾であった。酵母から存在している小胞融合機能を、シナプス機能へ発達させたことが伺える。

一方、カイメンには、synaptobrevinとsyntaxinに加えて、synaptotagmin, synaptosomal-associated protein, synaptogyrin, synaptic proteinが存在していた(Table 2)。カイメンには神経系がないとされている¹⁷⁾が、遺伝子調査の結果からは、多細胞化した際に、神経系で重要な神経伝達物質の受け渡しのシステムを、すでに獲得したことが示唆された。この結果は、神経系遺伝子群の存在と生物の形態から神経系の進化や起源を調べた研究¹⁸⁾や、神経系遺伝子群の一部の遺伝子に注目して行われた研究⁴⁾の結果と一致していた。つまり、神経系遺伝子群が神経系を持つ生物より以前に存在しているという報告を支持する結果であった。

また、遺伝子数の変化を、シナプスの発達の観点

で見ると、調査したsynaptotagmin以外のシナプス関連遺伝子はカイメンからヒトに至るまでその数に大きな変化はなかったが、synaptotagminファミリーの遺伝子数のみが大きく増加していた(Table 1)。Synaptotagminは神経伝達物質の放出、エキソサイトーシスの主要なカルシウムセンサーとしての機能を持つ¹⁹⁾。これまでに、ヒトのsynaptotagminファミリーは、17種類知られており²⁰⁾、ほとんどが脳で高発現しているが、脳の領域の違いによって発現するsynaptotagminファミリーが異なるという報告がある²¹⁾。したがって、カルシウムセンサー機能と、脳領域特異的または神経細胞特異的なセンサー機能を発達させるために、synaptotagminファミリーの遺伝子数が増加したと考えられる。カルシウムセンサーとしての機能に関わる遺伝子には、カルシウムの流入を制御するchannel類が考えられる。そこで、脳で発現するchannel類の進化をみてみると、CACNA1GやKCNC2などのchannel関連遺伝子の数もsynaptotagminの増加と減少に伴って変化していた(Table 1)。進化に伴い、シナプス前膜にイオンの取り込みや膜電位の維持や変化の複雑化が可能になったと考えられる。以上のことから、イオン依存性のシナプス前膜の種類を多様化し、脳の領域ごとに用いるsynaptotagminの種類を変化させることで、複雑な神経系を構成できるようになった可能性が考えられる。

Table 2. Protein blast of human synapsis-related proteins to yeast, mushroom and sponge

Protein name	Gene name	Yeast	Mushroom	Sponge
Synaptobrevin	VAMP1	3	2	4
	VAMP2	3	2	4
	VAMP3	3	3	5
Syntaxin	STX1	0	0	10
	STX6	0	2	1
	STX7	1	1	3
	STX12	1	1	1
	STX16	1	2	4
Synaptotagmin	SYT1	0	0	6
	SYT14	0	0	1
	SYT2	0	0	7
	SYT5	0	0	5
Synaptosomal-associated protein	SNAP25	0	0	2
Synaptogyrin	SYNGR1	0	0	1
Synaptic protein	SYP	0	0	2
Transporter	SLC6A17	0	0	1

Yeast: *Saccharomyces cerevisiae*, mushroom: *Agaricus bisporus*, and sponge: *Amphimedon queenslandica*.

ミエリン鞘関連遺伝子の出現と機能付与

ミエリン鞘は神経細胞の軸索を取り囲んでいる絶縁構造体で、跳躍伝導により電気信号の伝わる速度を速めたり、他の軸索との混線を防いだりする機能がある。ミエリン形成過程に必要なミエリン塩基性タンパク質をコードするMAGと、ミエリン膜を安定化する働きを持つPMP2は、センモウヒラムシから出現し、その相同遺伝子数を進化の過程で増加させていた(Table 1)。また、中枢神経ミエリンを構成するプロテオリポドプロテインをコードするPLP1遺伝子はヤツメウナギから出現した。一方で、中枢神経系におけるミエリン鞘の外表面に存在するMOGはシーラカンスから出現した。このことから、ミエリン鞘関連遺伝子は進化に伴って、新たなる機能を持つ遺伝子の出現とその多様化により発達したと考えられる。つまり、単純で小さい動物から複雑で大きな形態に進化する過程で、神経伝達速度を速め、他の神経細胞との混線を防ぐ機能を付加するような進化を進めたことが伺える。

胎生への進化に必要な遺伝子MEPE

MEPEは、シーラカンスにはないので、その出現時期を詳細に調べたところ、哺乳類から出現した遺伝子であることがわかった。哺乳類内での出現時期を調べたところ、下等な哺乳類に分類されている単孔類にはMEPEが存在しないことがわかった(Fig. 3)。

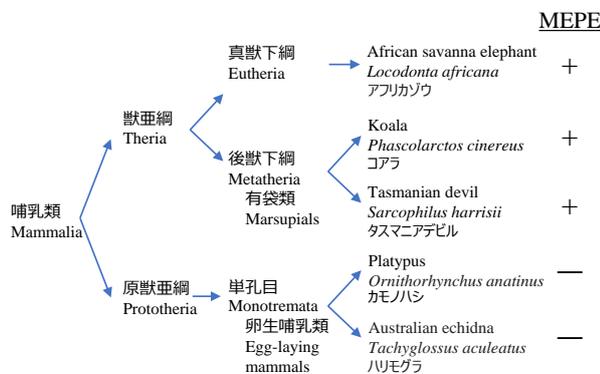


Fig. 3. Emergence of MEPE gene from fetal animals.

MEPE gene is absent in egg-laying mammals but present in Theria that are fetal animals. MEPE encodes a secreted calcium-binding phosphoprotein and has a role of negative regulation of bone mineralization. MEPE is expressed exclusively in brain in human, suggesting that mineralization of brain bone is inhibited by MEPE, possibly for increasing brain size during embryonic development.

しかし、有袋類にはMEPEが現れ、哺乳類の単孔類以外で存在していた。単孔類は哺乳類に分類されるが、卵生であるという特徴があり、その他のすべての哺乳類が胎生であるという点で大きな違いがある。ヒトのMEPEは脳で特異的に発現し⁵⁾、骨の石灰化を阻害する²²⁾。卵生から胎生への進化の過程で、脳で特異的に発現する骨石灰化阻害機能を持つMEPEが出現したことで、卵生で用いる卵殻形成を阻害し、胎

生の発達過程において脳骨格形成を遅らせることで、脳構造の巨大化を促したという考察が可能かもしれない。反対に、脳発達のために発生したMEPEが副次的に卵生から胎生への進化に関わったとも考えられる。

アルツハイマー型認知症原因遺伝子APPの構造進化

アルツハイマー型認知症の原因となるタンパク質がアミロイドβペプチドであり、この領域を含む前駆体タンパク質がAmyloid-β precursor protein (APP)である。APPと高いquery coverを示す遺伝子は、センモウヒラムシにはなく、ヒドラとギボシムシに存在した。

ヒトからギボシムシまでのAPPには、E1、acidic、E2とYENPTY領域が生物間で保存されていた²³⁾(Fig. 4A)。APPの祖先型を調べるため、ヒドラより下等なセンモウヒラムシのゲノムに対して、各領域をBLAST検索すると、E1領域と相同性を持つ遺伝子TRIADDRAFT_55959が存在していた。他の領域との相同性がある遺伝子は存在しなかったことから、この遺伝子がAPPの祖先型であることが予想される。ヒドラからはE2とYENPTY領域が加わり、APPの基本形が出来上がり、ギボシムシからはacidic domainも加わりヒトとほぼ同じ構造のAPPとなったと予想される(Fig. 4AB)。

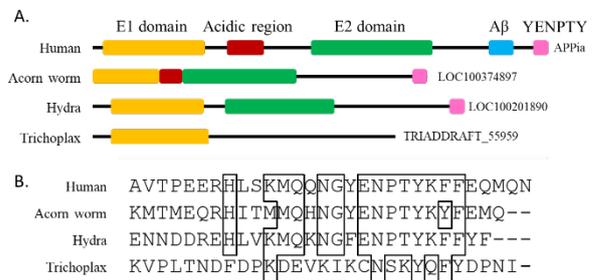


Fig. 4. Conserved regions of APP

A. Human APP contained E1, acidic, E2, and YENPTY domains. Aβ indicates amyloid β region. Hydra contained E1, E2 and YENPTY domains but trichoplax only contained E1 domain. B. C-terminal YENPTY sequence of APP-like proteins are similar but trichoplax does not have the conserved C-terminus.

パーキンソン病原因遺伝子SNCAの構造進化

シヌクレインにはα-シヌクレイン(SNCA)、β-シヌクレイン(SNCB)、γ-シヌクレイン(SNCG)という3つのファミリーが存在する。α-シヌクレインはパーキンソン病の原因タンパク質として知られている。シヌクレインの起源を調べると、ヤツメウナギで3つの相同タンパク質が誕生し、その後、数を変化することなく高度に保存されていた(Table 1, 3)。ヤツメウナギ、ミツボシカスベ、シーラカンス、セキショクヤケイ、ハツカネズミで存在する各3つの相同タンパク質とヒトのシヌクレインファミリーとの相同性を

みてみると、どれもSNCAと相同性が高かったが、β-シヌクレインの相同性が増加することから、αに加えて、異なる構造のβを発達させ、それぞれの役割分担を行うことで進化したことが伺えた(Table 3)。

Table 3. Query cover percentage of synuclein-like proteins compared with three human synuclein proteins

Animals	Synuclein protein		Human synuclein protein		
	name	Gene ID	α	β	γ
Lamprey	γ-like	116945019	92	92	81
	α-like	116951075	91	66	64
	α-like X2	116940171	98	89	82
Thorny skate	α X1	116974152	100	69	69
	β	116978366	100	91	68
	γ	116966448	96	81	82
Coelacanth	α	102358429	100	69	70
	β	102347959	100	90	70
	γ	102348703	82	84	82
<i>Gallus gallus</i>	α	395393	100	69	69
	β	395391	100	95	66
	γ	395392	81	79	87
<i>Mus musculus</i>	α	20617	100	71	71
	β	104069	100	100	70
	γ	20618	91	82	87

ハンチントン病原因遺伝子HTTの構造進化

ハンチントン病の原因遺伝子であるHTT遺伝子²⁴⁾はヤツメウナギから存在しており、ヒトに至るまで遺伝子数が1つから変化していなかった(Table 1)。ヤツメウナギでさえquery coverが96%もあることから、非常に保存性の高い遺伝子であるといえる。HTT遺伝子のN末側に存在するグルタミン(Q)の連続配列が長くなった場合に不随意運動、性格変化、認知機能

障害、精神障害などの症状が現れることからpoly Q病と呼ばれている。そこで、HTTタンパク質構造の生物種間での違いを調べることにした。

系統ごとにさらに調べる対象の生物種を増やし種間のアミノ酸配列を比較したところ、N末側に存在するpoly Qおよびpoly プロリン(P)配列を構成するQやPのアミノ酸の数に違いがみられた(Fig. 5)。poly Q配列中のQ数はHTT遺伝子が誕生したヤツメウナギでは1個であったが、有顎類になるとその数は増え、軟骨魚類では2個になった。硬骨脊椎動物に進化してからは鳥類に至るまで4個であった。また、トカゲ、ヘビ属の一部の種でpoly アラニン(A)配列がみられた。Poly Q配列のQ数は哺乳類になるとカモノハシとハツカネズミで7個、コウモリでは9個と徐々に数を増やし、ニシゴリラからヒトへの進化では11個から21個に急激に増加していた。また、哺乳類ではpoly P配列の増加もみられた。ヒトで最も長いpoly Q-poly P配列を持つことから、ハンチントン病との関連性に加え、脳の高度化に密接に関わる機能の存在が示唆され、これを明らかにする意義があると思われる。

4. 結論

本研究では、進化の過程における遺伝子の出現、および、遺伝子数の変遷を調べた。Query cover 50%以上を相同性のある遺伝子と設定し、検索した結果、神経系において重要な機能を持つ遺伝子が進化のいつの時期に出現し、その数を変化させた場合と、維持した場合を明らかにした。進化に伴いsynaptotagminやchannel遺伝子の数を特異的に増加させたことがわかり、これらの遺伝子がシナプスの多様化や複雑な神経系の発達に関与している可能性を見出した。MEPEは卵生動物には存在せず、胎生哺乳類から出現した。また、神経疾患原因遺伝子であるSNCAは3つの遺伝子数を、HTTでは1つの遺伝子数をヒトの進化まで維持しており、脳機能の発達過程で保存された役割を持つことが考えられた。特に、



Fig. 5. Alignment of Huntingtin protein sequences from lamprey to human.

Increased length of poly Q is known to cause Huntington disease. Poly Q amino acid number was increased from lower animals to higher. In addition, poly P sequence, the region was poly A in lizard, was appeared in snakes and mammals but not alligators and birds. The poly P size is also increased from lower mammals to higher. Increased lengths of poly Q and poly P may be related to the development of brain function during evolution.

HTTタンパク質中のpoly Qおよびpoly P領域の長さの増加と進化発達が一致し、ヒトで最長の領域を持っていたので、この領域の長さや脳機能、および、神経疾患との関連性の今後の研究が待たれる。以上、進化過程での遺伝子の出現、および、遺伝子数の変化を議論することで、神経系の進化発達と遺伝子との関連を考察できる結果となった

5. 謝辞

本研究にあたり、適切な助言を賜った研究補助員の美澄幸恵さんに深く感謝申し上げます。さらに、研究成果のとりまとめにあたって、2020年山口大学工学部ゲノム生命機能工学研究室4年生の岡崎壮太さん、加藤颯晟さん、河村駿さん、竹本一貫さん、西岡優佑さん、藤原郁也さん、松田光成さん、安永智華さん、吉永早織さんにご協力いただきました。ここに感謝を申し上げます。

References

1. 小泉 修. 神経系の起源と進化：散在神経系よりの考察. 比較生理生化学. 2016, vol.33 ,no3, p.116-25. <https://doi.org/10.3330/hikakuseiriseika.33.116>.
2. 小林 修. ヒドラの散在神経系の神経生物学. 比較生理生化学. 1999, vol.16, no4, p.278-287. https://www.jstage.jst.go.jp/article/hikakuseiriseika1990/16/4/16_4_278/_pdf/-char/ja.
3. Hiroshi Watanabe. et al. Cnidarians and the Evolutionary Origin of the Nervous System. *Development Growth and Differentiation*. 2009, vol.51, no3, p.167-83. <https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.2009.01103.x>.
4. Tomas J Ryan. et al. The Origin and Evolution of Synapses. *Nature Reviews Neuroscience*. 2009, vol.10 no.10, p.701-12. <https://doi.org/10.1038/nrn2717>.
5. Hiromasa Ono. et al. RefEx, a Reference Gene Expression Dataset as a Web Tool for the Functional Analysis of Genes. *Scientific Data*. 2017. <https://doi.org/10.1038/sdata.2017.105>.
6. Lynn M. Bekris. et al. Genetics of Alzheimer's disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 2010, vol.23, no.4, p.213-227. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 171 (11-12), 2010, p.249-256. <https://doi.org/10.1177/0891988710383571>.
7. Cornelis Blauwendraat. et al. The Genetic Architecture of Parkinson's Disease. *The Lancet Neurology*. 2020, vol.19 no.2, p.170-78. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30287-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30287-X).
8. Frederic Saudou. et al. The Biology of Huntingtin. *Neuron*. 2016, vol.89 no.5, p.910-26. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.02.003>.
9. Cadieux-Dion M. et al. Recurrent Mutations in DNAJC5 Cause Autosomal Dominant Kufs Disease. *Clinical Genetics*. 2013, vol.83, no.6, p.571-75. <https://doi.org/10.1111/cge.12020>.
10. Kevin H. Strang. et al. MAPT mutations, tauopathy, and mechanisms of neurodegeneration. *Lab Invest*. 2019, vol. 99, no.7, p. 912-928. <https://doi.org/10.1038/s41374-019-0197-x>.
11. Jacqueline Burre. et al. The Synaptic Vesicle Proteome. *Journal of Neurochemistry*. 2007, vol.101 no.6, p.1448-62. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04453.x>.
12. Ohno Susumu. "Perpetuation of the Gene Line ". *Evolution by Gene Duplication*. Springer Science+Business Media, 1970, P. 1-12.
13. Tyler A. Square. et al. Evolution of the Endothelin Pathway Drove Neural Crest Cell Diversification. *Nature*.2020, vol.585, no.7826, p.563-68. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2720-z>.
14. Stephen F. Altschul. et al. Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology*.1990, vol.215,no 3, p.403-10. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2).
15. Roxanne L. Simmons. et al. Overcoming presynaptic effects of VAMP2 mutations with 4 - aminopyridine treatment. *Hum. Mutat*. 2020, vol.41, no11, p.1999-2011. <https://doi.org/10.1002/humu.24109>
16. Kate Baker. et al. SYT1-Associated Neurodevelopmental Disorder: A Case Series. *Brain*.2018, vol.141, no9, p.2576-91. <https://doi.org/10.1093/brain/awy209>.
17. Sally P. Leys. et al. Sponges. *Current Biology*. 2005, vol.15, no4,p.R114-R115.
18. Pawel Burkhardt. et al. Evolutionary Origin of Synapses and Neurons – Bridging the Gap. *BioEssays*.2017,vol.39, no10,p.1-10. <https://doi.org/10.1002/bies.201700024>.
19. 福田 光則. シナプトタグミンの分子進化. 生体の科学. 2006,vol57, no5. <https://doi.org/10.11477/mf.2425100310>.
20. Anne C Wolfes. et al. The Diversity of Synaptotagmin Isoforms. *Current Opinion in Neurobiology*.2020, vol63, p.198-209. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2020.04.006>.
21. Tobias Mittelsteadt. et al. Differential mRNA Expression Patterns of the Synaptotagmin Gene Family in the Rodent Brain. *Journal of Comparative Neurology*,2009, vol.512, no4,p.514-28. <https://doi.org/10.1002/cne.21908>.
22. Brian Christensen. et al. FAM20C-Mediated Phosphorylation of MEPE and Its Acidic Serine- and Aspartate-Rich Motif. *JBMR Plus*.2020,vol. 4, no.8, p.1-8. <https://doi.org/10.1002/jbm4.10378>.
23. Khue Vu Nguyen. The Human β -Amyloid Precursor Protein: Biomolecular and Epigenetic Aspects. *Biomolecular Concepts*.2015,vol.6, no.1,p. 11-32.

<https://doi.org/10.1515/bmc-2014-0041>.

24. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. A Novel Gene Containing a Trinucleotide Repeat That Is Expanded and Unstable on Huntington's Disease Chromosomes. *Cell*. 1993,vol.72,no.6, p.971-83.
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90585-E](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90585-E).

(2021年12月21日受理)