

脊椎動物誕生のカギを握る生物：ホヤ

佐竹 炎

1) はじめに

「私たちの属する哺乳類、ひいては、脊椎動物がどのように誕生してきたか？また、体の仕組みは、どのように出来上がってきたのか？」という疑問は、筆者のような生物の進化や多様性の解明に携わる研究者にとっての本質的な命題であるだけでなく、生き物に愛着や興味を抱く多くの人々の関心を惹く対象であろう。現在までに、化石を主な材料とした古生物学的研究、リボゾームRNA 遺伝子のような普遍的に存在する遺伝子の分子系統解析による分子進化学的研究、もしくは、複数の生物種のゲノムワイドな比較解析により、遺伝子レベルでの生き物の進化の経路や分岐点が明らかになってきた。今後は、現存する生き物が有する仕組み、すなわち、生命活動を支える分子システムの機能レベルでの進化や多様性を明らかにしていくことが主要な研究対象になる。それでは、私たちのような脊椎動物誕生のモデルになり得る生物として、読者の皆さんはどのような生き物を想像するだろうか？その代表的な例として、本稿では「ホヤ」という生き物を取り上げたい。

2) 「ホヤ」という生き物の特徴

まず、図1として提示した写真をご覧いただきたい。これは、さまざまな「ホヤ」という生物である。この生き物が、私たちと共通の祖先生物から誕生した、あるいは、きわめて高い社会性を有するアリやハチを含む昆虫や、優れた学習・記憶能力を発揮するタコなどが属する軟体動物を超えて、もっとも私たちに近縁で、共通祖先から脊椎動物と最後に分岐した無脊椎動物だと聞いて、ピンとくるだろうか？まずは、そのあたりの疑問から解消していきたい。ホヤは、系統分類学上、尾索動物亜門に属する無脊椎動物であり、脊椎動物（亜門）とともに脊索動物門を形成する。紙面の都合上、細かな分類は他紙に譲るが^{1,2)}、ホヤ綱、オタマボヤ綱、タリア綱の3綱に大きく分類され、全世界に約3000種存在することが確認されている。日本には、ホヤ綱が300種、オタマボヤ綱が30種、タリア綱が37種程度存在する。日本や韓国では、マボヤやアカボヤなどが食用として養殖されている反面、ザラボヤなどは、ホタテやカキの養殖用ロープに大量にこびりつき、その重みで、これらの海産物を養殖しているコンテナのロープを引きちぎる原因となる有害生物としての面も有する。今回の主役であるホヤの形態や体色は千差万別といった感があるが、尾索動物亜門全体に共通する特徴を有する。まず、第一にあげるべきは、現存するホヤはすべて海産性である。そして、形態学上のもっとも重要な特徴は、「脊索」の存在である。脊索は、受精卵が発生する段階で登場する器官であり、脊椎動物では発生過程で背骨に置換される。一方、尾索動物門では、幼生の段階まで明確な脊索を有し、オタマボヤ綱では終生それを維持する。当初、ホヤは軟体動物の一種とみなされていたが、1867年にロシアの科学者である Kovalevsky により、脊索の存在が認められた。すなわち、この脊索の存在が、骨の有無による分類よりも形態形成や初期発生プロセスという、より厳密な知見に基づく生物の分類を可能にし、ホヤが他の無脊椎動物と一線を画して、先述したように、脊椎動物と脊索動物門を形成することや、脊椎動物と共通の祖先を有する無



図1. さまざまなホヤ

脊椎動物といった、「境界生物」としての無二の地位を確立している。

また、もう一つの特徴として、セルロースを自身で生成する唯一の動物であることも触れておきたい。このセルロースは、共生細菌などで生成されると一時は考えられてきたが、2002年にカタユウレイボヤのゲノムが解読された際にセルロース生合成・分解酵素がゲノム中に発見されたことから³⁾、ホヤは独力でセルロースを生成することが明らかになった。ホヤのセルロースの生物学的役割は長い間不明だったが、笹倉らの研究により、カタユウレイボヤの幼生が成体へ変態する最初のステップである海底への固着に必須であることが明らかにされている⁴⁾。

なお、脊索を有する無脊椎動物には、ナメクジウオが属する頭索動物亜門も存在し、こちらの方が成体の形が魚類に似ていることから、長い間、ホヤが脊索を有した最初の無脊椎動物であり、もっとも脊椎動物に近縁な無脊椎動物はナメクジウオだと考えられてきた。しかし、ナメクジウオのゲノムが2008年に解読され、ホヤを含むさまざまな生物のゲノムと比較した結果、ナメクジウオの方が脊椎動物から遠縁であることが明らかにされた⁵⁾。これらの結果から、現在は、上述したように、ホヤが脊椎動物にもっとも近縁な無脊椎動物であると認識されている。

以上の知見から、ホヤが脊索動物門の進化や多様性、ならびに、脊椎動物のプロトタイプを明らかにするうえできわめて重要でユニークな性質を有していることがご理解いただけたのではないと思う。次の項では、ホヤの cosmopolitan species としてもっともよく研究されているカタユウレイボヤ (*Ciona intestinalis*) の実験材料としての利点を紹介していきたい。

3) 実験生物としてのカタユウレイボヤ

まず、カタユウレイボヤの生活史と生態を簡単に説明したい。カタユウレイボヤは海の浅瀬に生息しており、日本では、東海地方や東北地方の太平洋沿岸に野生種が分布している。有性生殖で繁殖する雌雄同体であるが、自家受精は通常の状態では見られない。精子と卵の放出は真夏を除けば随時行われる。受精後、すぐに卵割が開始され、一日後にはオタマジャクシ様の幼生に成長する(図2)。幼生は、海底のほか、実験室ではシャーレに固着して変態し、1週間後にはいわゆるホヤの形態を有する幼若体になる。幼若体はそのまま体長10–15 cmに成長し、2–3か月後に配偶子を放出するようになる(図2)。

以上のようなライフサイクルにおける長所は、発生や

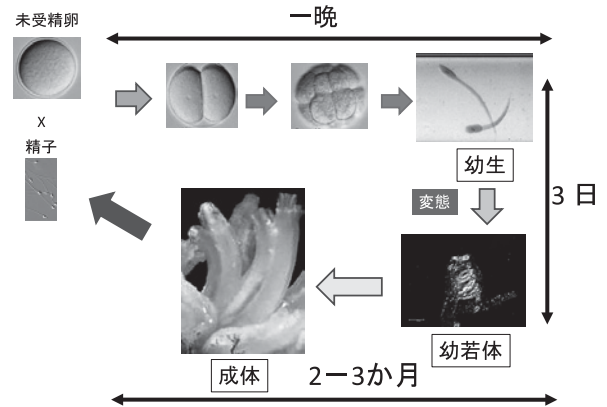


図2. カタユウレイボヤの発生・成長段階

自家不和合性の研究対象としては最適な性質であるため、これらの分野の研究では世界中で盛んに利用された。そして、その需要から、ゲノムが比較的早く解読されたという経緯がある。ここ10年における、澤田らの研究グループによる自家不和合性の仕組みの解明⁶⁾や、佐藤らの研究グループによる発生過程の転写因子制御カスケードの解明⁷⁾は、カタユウレイボヤの長所を最大限に活用して、生命機構の本質を解明した見事な研究成果であるといえよう。これらをはじめ、カタユウレイボヤの発生や受精の研究は幅広く多くの研究者が体系的な成果を出している。

実験に用いる生物では、生物学的な位置の重要性とともに、入手、飼育、および、繁殖の容易さもカギとなる。わが国では、文部科学省のプロジェクトである National BioResource Project (NBRP) の一環として、筑波大学下田臨海実験センターを代表機関としたカタユウレイボヤを供給するシステムが構築されている⁸⁾。カタユウレイボヤの受精から幼若体までの成長は実験室で完全に再現できる。一方、人工飼育下で幼若体から成体までを完全に大量に成長させるのは困難なので、幼若体までを実験室で飼育し、その後は海洋で養殖する方法が好んで採用されている。NBRPから送られてきたホヤは、水温を一定にした人工海水を循環させたシステムの水槽中で飼育し、実験時に取り出して使用する(図3)。組換え体などを使用する場合は、野生型と分けて飼育する(図3)。

現代の生命科学では、ゲノム、トランスクリプトーム(もしくはEST)、および、プロテオミクスのデータベースは必須のツールである。前述のように、カタユウレイボヤのゲノムとESTが2002年に解読され、その配列情報や発現プロファイルは一般に公開されており、随時更新されている^{9,10)}。

一般的に遺伝子のサイレンシングにはRNA interference

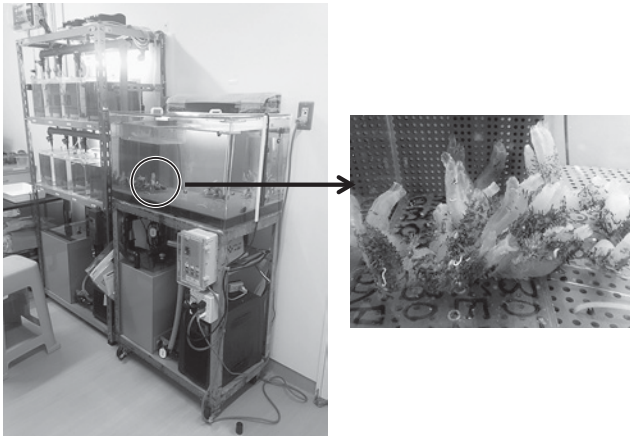


図3. 筆者の研究室のホヤの飼育設備

(RNAi) が用いられているが、ホヤではRNAiの効果が小さいことが知られている。そのため、受精から幼生までにおける遺伝子産物の生成の抑制には、morpholino DNAが好んで使用されてきた。また、minosトランスポゾンを利用したカタユウレイボヤのトランスジェニック体の作製方法はかなり前から確立されており¹¹⁾、いくつかの系統はNBRPから入手可能である¹²⁾。このトランスジェニック体の作製法を駆使して、堀江と笹倉らは、幼生時に形成された中枢神経系で、神経細胞の大部分は変態の過程で消滅するが、上衣細胞と呼ばれるグリア細胞は残り、変態から幼若体への過程でグリア細胞から神経細胞が分化するという、中枢神経系の再構築の仕組みを明らかにし、これまでの常識を覆す研究成果を報告している¹³⁾。さらに、近年発展が著しいゲノム編集技術においても、transcription activator-like effector nuclease (TALEN) 法が効果的であることが示されている¹⁴⁾。このように、他のモデル生物と比較しても遜色のないゲノムをはじめとする遺伝子情報や、それらを基にした遺伝子組換え・制御技術も充実していることも、カタユウレイボヤが優れた実験生物であることを保証している。

4) カタユウレイボヤの成体を用いた研究

3) ままでに触れた研究は、ホヤの受精卵から幼生までの過程を対象にしたものであった。現在でも、カタユウレイボヤを材料としている研究の大部分はこの過程に集中している。一方、ホヤの幼生は口から消化器官が分化していないため、自身で栄養を摂取できない。したがって、ホヤの幼生は、厳密な見方をすれば、まだ胎児の段階であり、生物としての基本的な能力を備えていないといえる。そもそも生物とは、自身で栄養を摂取し、子孫(またはコピー)を残せるということが普遍的な定義である。

この視点に立脚すると、ホヤが生物として機能するのは、変態後からである。したがって、代謝、成長、生殖といった基本的な個体の生命機構と、および、その脊索動物門における進化や多様性の研究対象には、変態後のホヤが格好の材料となると考えられる。ここで、成体のカタユウレイボヤの生態や特徴を簡単に説明したい。変態後のカタユウレイボヤは、海底に固着し、沈降してくる植物性のプランクトンをろ過摂食して栄養を吸収し、成長する。そして、幼若体からの成長の過程で、精巣と卵巣を形成し、繁殖能力を獲得する。カタユウレイボヤは、固着してろ過摂食による生活を送り、体色変化、擬態、毒性物質の生産などという特殊性を何も持たないことから、実にさまざまな機構を放棄、もしくは、大幅に簡略化している。たとえば、カタユウレイボヤの成体は遊泳することがないため、骨格筋がほとんど発達していない。また、匂い物質の受容体遺伝子は、エサを追いかける必要がないためか、他の生物と比較すると、その数は著しく少ない。さらに、摂食した食物の移動や排泄は、蠕動運動ではなく、入水口と出水口を開閉で水圧を利用して行うことから、消化管の筋肉すらも存在しない。幼生までの発生段階と比べると、行動や形態形成に面白味がないためか、ホヤの成体についての研究報告は著しく少ない。筆者も、ホヤの成体を対象とした神経系や内分泌系の研究を開始したとき、「ホヤの成体なんかやってみようか?」と、一部のホヤの研究者に問われたこともあった。しかし、見方を変えれば、ホヤは「栄養を吸収し、子孫を残す」ことに特化するために徹底的に無駄を省いた生物とみなすことができ、かつ、前述したような系統分類学的の重要性から、摂食や生殖機構の研究や脊索動物門におけるそれらの原点を探るうえで、最適な生き物だと考えられた。その一方、ホヤの成体の研究がほとんど進んでいなかったため、筆者らが研究を開始する前は、神経系や内分泌系でシグナル分子として中心的な役割を果たす神経ペプチドやペプチドホルモン、および、それらの受容体はほとんど発見されておらず、したがって、それらが制御する生理機構もまったくわかっていなかった。そこで、筆者らは、カタユウレイボヤに存在する神経ペプチドやペプチドホルモンを網羅的に同定することを試みた。その結果、これまでに34個のペプチドおよびそれらの遺伝子を同定した¹⁵⁻²³⁾。また、それらの受容体の一部も決定している。これらの結果から、カタユウレイボヤは線虫やショウジョウバエといった従来頻用されている原口動物のモデル生物よりはるかに多くの脊椎動物の神経ペプチドやペプチドホルモンの同族体を有していること、および、ホヤ特異的なペプチドも有してい

ることが判明した。さらに、筆者らは、ホヤからヒトまで保存されている神経ペプチドの一種、タキキニンのカタウレイボヤ同族体であるCi-TKが、卵黄形成期の卵細胞に時期特異的に作用し、カテプシンD、カルボキシペプチダーゼB1、キモトリプシンといった卵黄や卵細胞構成タンパクのプロセッシングに携わるプロテアーゼの遺伝子発現と活性を上昇させ、卵黄形成終了期の卵細胞へ成長させることを明らかにした(図4)^{20,24,25}。この結果は、全生物を通じて初めてのタキキニンの卵巣における生物学的役割を明らかにしたものである。また、この機構は哺乳類でも保存されていて、これまで不明だった卵胞制御機構であることを明らかにしつつある。この成果は、不妊症や若年性卵巣成熟不全機構の解明への突破口となることが期待されるだけでなく、脊椎動物の垣根を超えて、脊索動物門全体で保存されている卵胞成長制御機構、すなわち、普遍的な命の継承の仕組みを突き止めつつあると考えている。

上記の研究の開始時は、ホヤの卵細胞や卵胞を単離・培養する仕組みやこれらの成長・成熟を検出する実験系すらなかったが、筆者らの取組みにより、現在はこれらを確認できている。さらに、現在では、各卵胞の成長段階ごとに生きたまま分離して実験に供する手法や、卵巣を摘出して*in vitro*で排卵現象を観察する手法も確立しており、生殖機構の研究の基盤はますます充実しつつある。これらの技術を基盤とし、タキキニン以外のペプチドの

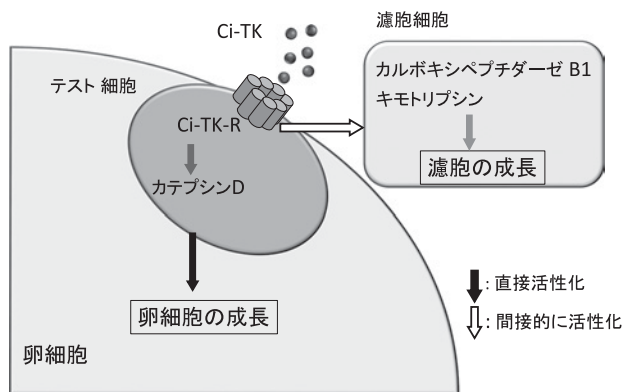


図4. カタウレイボヤのタキキニン、Ci-TKによる卵黄形成期卵胞の成長促進

卵巣における生物学的役割を解明しているところである。これらの成果が得られることで、線虫やショウジョウバエ、およびマウスなどでは不可能な脊椎動物の神経系や内分泌系の新規制御機構、および、それらの進化・多様化の本質をシステムとして理解することが期待される。すなわち、私たち人類の成り立ちを明らかにするうえで不可欠な新しいモデル生物としてカタウレイボヤを確立でき、その応用性はまだまだ大きいと考えている。もし、カタウレイボヤの研究にご関心をお寄せになられた方がおられましたら、是非、ご一報をお願い致します。

末筆ながら、本稿の執筆の機会を与えてくださった、大阪府立大学・岡澤敦司先生にお礼申し上げます。

文 献

- 1) 佐藤矩行ら：ホヤの生物学，東京大学出版(1998).
- 2) 岩槻邦男ら：無脊椎動物の多様性と系統，裳華房(2000).
- 3) Dehal, P. *et al.*: *Science*, **298**, 2157 (2002).
- 4) Sasakura, Y. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 15134 (2005).
- 5) Putnam, N. H. *et al.*: *Nature*, **453**, 1064 (2008).
- 6) Harada, Y. *et al.*: *Science*, **320**, 548 (2008).
- 7) Imai, K. S. *et al.*: *Science*, **312**, 1183 (2006).
- 8) NBRP カタウレイボヤ : <http://marinebio.nbrp.jp/> (2016/7/22).
- 9) Ghost Database: <http://ghost.zool.kyoto-u.ac.jp/cgi-bin/gb2/gbrowse/kh/> (2016/7/22).
- 10) CIPRO, *Ciona intestinalis* Protein database: <http://cipro.ibio.jp/current/> (2016/7/22).
- 11) Sasakura, Y. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 7726 (2003).
- 12) CITRES: <http://marinebio.nbrp.jp/ciona/> (2016/7/22).
- 13) Horie, T. *et al.*: *Nature*, **469**, 525 (2011).
- 14) Treen, N. *et al.*: *Development*, **141**, 481 (2014).
- 15) Satake, H. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **279**, 53798 (2004).
- 16) Kawada, T. *et al.*: *Peptides*, **29**, 1672 (2008).
- 17) Sekiguchi, T. *et al.*: *FEBS J.*, **276**, 4437 (2009).
- 18) Kawada, T. *et al.*: *Endocrinology*, **152**, 2416 (2011).
- 19) Hamada, M. *et al.*: *Dev. Biol.*, **352**, 202 (2011).
- 20) Matsubara, S. *et al.*: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **227**, 101 (2016).
- 21) Sakai, T. *et al.*: *Mol. Biol. Evol.*, **27**, 1097 (2010).
- 22) Sakai, T. *et al.*: *Endocrinology*, **153**, 1841 (2012).
- 23) Sekiguchi, T. *et al.*: *J. Endocrinol.*, **213**, 99 (2012).
- 24) Aoyama, M. *et al.*: *Endocrinology*, **149**, 4346 (2008).
- 25) Aoyama, M. *et al.*: *Peptides*, **34**, 186 (2012).