解禁時間（ﾃﾚﾋﾞ、ﾗｼﾞｵ、WEB）：令和４年３月11日（金）午後５時（日本時間）
（新聞）　　：令和４年３月12日（土）付朝刊

情報提供

鳥取大学
Tottori University

報道関係者 各位

鳥取大学医学部
令和４年３月８日

高い再生能力を持つイモリによる研究で指形成に必須の遺伝子機能が種を超えてまた、再生現象で保存されていることを発見

日頃より、鳥取大学医学部の教育・研究活動へのご理解・ご協力をいただき、誠にありがとうございます。

このたび、本学の生命科学科・発生生物学分野の竹内隆教授が、高い再生能力を持つイモリを用いた研究で、指形成に必須の遺伝子機能が種を超えて、また、四肢の再生現象で保存されていることを発見しましたのでお知らせします。

つきましては、取材についてご理解とご協力を賜りますようよろしくお願い申し上げます。

【概　要】

ヒトを含めた哺乳類の再生能力は極めて限られており、再生における機能はほとんど解析できていません。そのため、高い再生能力を持つイベリアトゲイモリを用いて体の形つくりに必須の遺伝子（Hox13 遺伝子群）の解析を進めてきました。

Hox13 遺伝子群は、哺乳類の指を発生過程で形成するのに必要不可欠な遺伝子です。しかし、哺乳類以外でも、また、四肢の再生過程でも同じ機能を持つかどうか解明されていませんでした。

今回、高い再生能力を持つイベリアトゲイモリとゲノム編集技術を用いて、この遺伝子群を欠損する変異体を作製したことにより、発生でも再生でも全ての指が欠損することを発見しました。これらの発見により、発生に重要な遺伝子が再生でも同様に働いていることを脊椎動物で初めて示したこととなりました。

研究の詳細については別紙をご覧ください。

【研究について】	【取材について】
鳥取大学 医学部 生命科学科 生体情報機能学講座 発生生物学 教授 竹内 隆 TEL：0859-38-6231 E-mail：takeuchi@tottori-u.ac.jp	鳥取大学米子地区事務部総務課広報係 TEL：0859-38-7037 FAX：0859-38-7029 E-mail: me-kouhou@adm.tottori-u.ac.jp

【別紙】

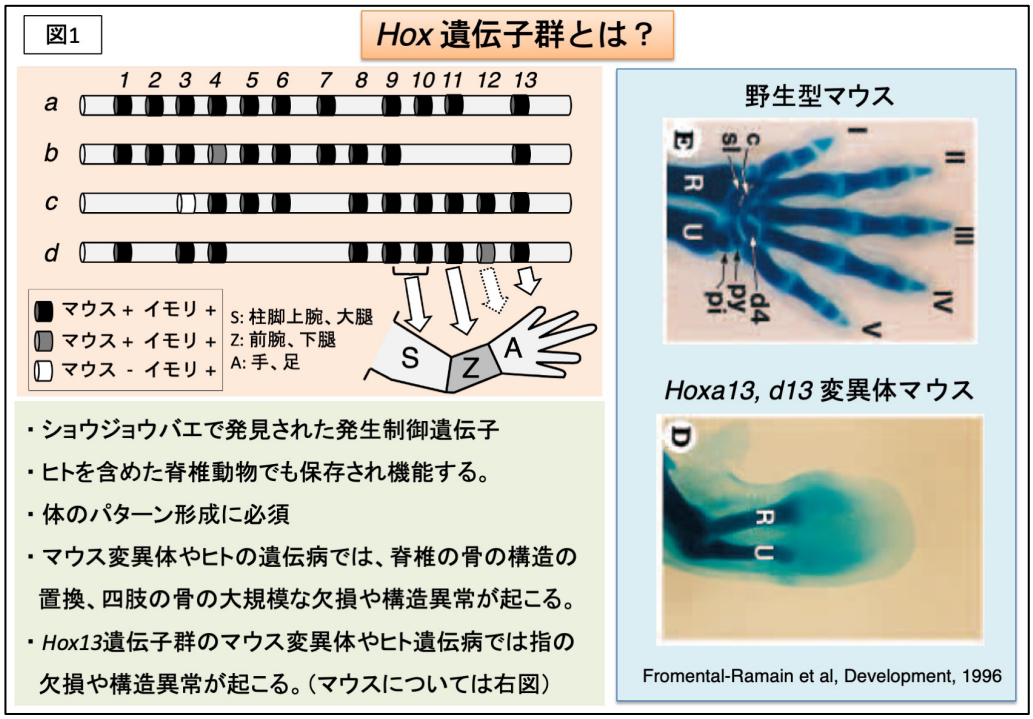
イモリの *Hox13* 遺伝子は指形成に必須であり、この機能は発生と再生、および種を越えて保存されている

【概要】

Hox 遺伝子群は私たちヒトを含めて哺乳類の手足を形作るのに必要不可欠な遺伝子です。その中の *Hox13* 遺伝子群（*a* から *d* まで４つある）の変異は先天性の指形成異常を起こします。しかし、哺乳類以外の四肢動物の手足の発生で、また、手足の再生でこの *Hox13* 遺伝子群が同じ機能を持つかどうかはわかっていませんでした。私たちは高い再生能力を持つイベリアトゲイモリとゲノム編集技術を用いてこの遺伝子群を単独、もしくは、多重に欠損する変異体を作製しました。その結果、四肢の発生でも再生でも全ての指が欠損しました。さらにマウスとは異なり、*Hox13* 遺伝子群のうち、たった一つの遺伝子 *a13* の変異でも指が全欠損することを発見しました。これらの発見は、*Hox* 遺伝子を含めて発生に重要な遺伝子が再生でも同様に働いていることを脊椎動物で初めて示しました。また、魚類から両生類の進化の過程でどのようにして四肢を獲得したかについて新しいモデルを提供します。本研究は科学誌「Development」に掲載予定です。また、傑出した論文として同誌の”Research Highlight”で紹介される予定です。

【背景】

Hox 遺伝子群はショウジョウバエの研究で発見された発生制御遺伝子です。



この遺伝子はヒトを含めた脊椎動物でも保存され、発生過程での体の骨などのパターンの形成に必須です。マウスの変異体では大規模な椎骨の置換や四肢の構造の欠損が起こります。哺乳類では 4 本の染色体にそれぞれ 1 から 13 番の番号がついた遺伝子があります（図 1 左上）。この中で 9 番から 13 番の遺伝子は四肢の形成に強く関わります。特に 13 番は指の形成に必須で、マウスの変異体では指が全欠損します（図 1 右）。また、ヒトの遺伝病でも指の形成異常が起こります。

このような *Hox* 遺伝子群の四肢における機能は 13 番の遺伝子も含めて主にマウスの変異体とヒトの遺伝病での解析（遺伝学的解析）で示されてきました。しかし、他の四肢動物での遺伝学を用いて遺伝子の機能を明確に示した結果は一切ありません。さらに四肢の再生でも発生と同様に四肢の形成に必要であるか否かも示されていませんでした。その理由は、ほぼマウス以外で自在に遺伝子に変異を導入できる技術がなかったからです。しかし、ゲノム編集がそれを可能にしました。一方、私たちは様々な組織を再生できるイモリにおいてゲノム編集を含めて遺伝子操作を可能とする実験システムを樹立しました。そこでイモリを用いて *Hox13* 遺伝子の変異体を作製し、その機能を調べました（図 2）。

図2

イモリ*Hox13* 遺伝子解析の目的

***Hox13* 遺伝子の指形成の機能は主にマウスとヒトの遺伝学的解析で示された。**

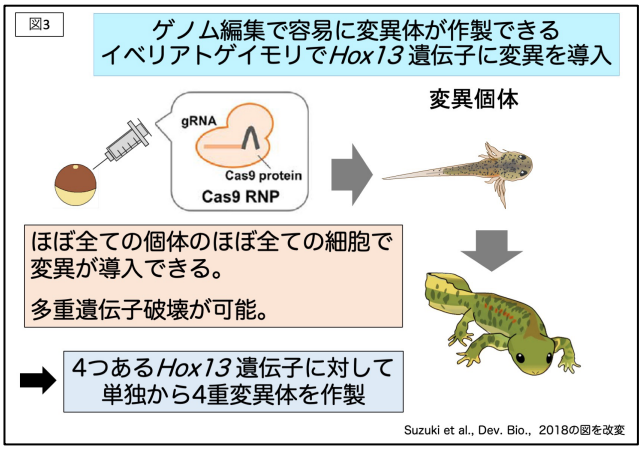
しかし、他の四肢動物の肢発生での機能、また、肢再生での機能は不明である。

遺伝学的解析がこれまで不可能だったが、ゲノム編集で可能になった。

そこで再生能力が著しく高く、遺伝子操作が可能になったイベリアトゲイモリで解析

【研究成果】

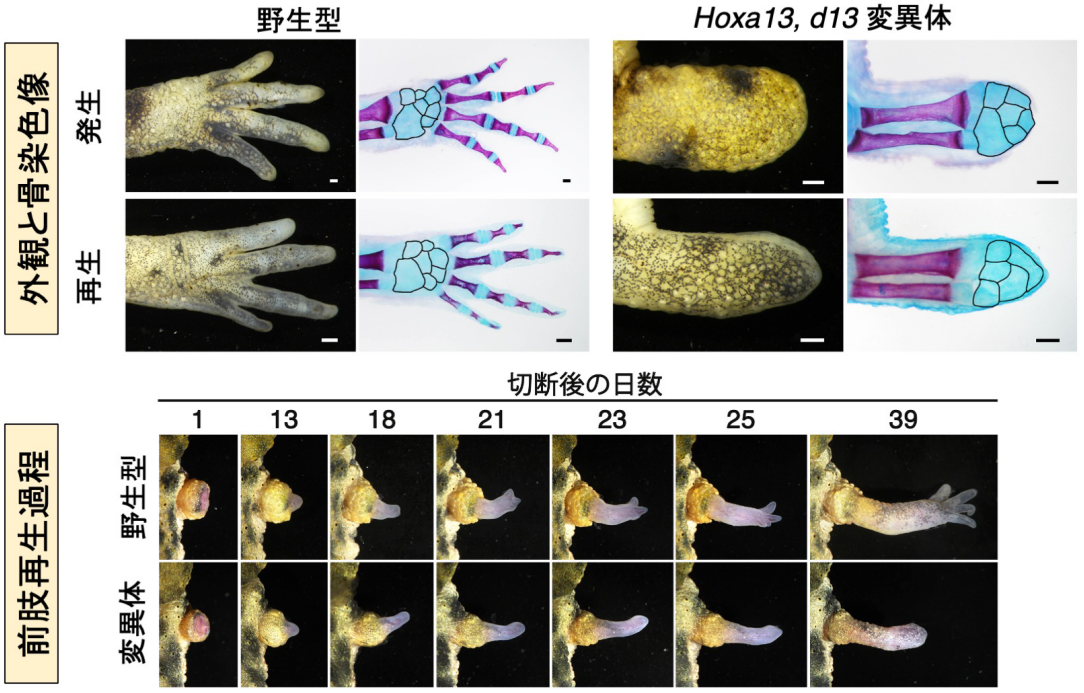
イモリではゲノム編集の効率が非常に高く、受精卵へのインジェクションでいきなり変異体を得ることができます（図 3）。この技術を用いてイモリの *Hox13* 遺伝子の変異体を作製しました。



その結果、マウス同様に *Hox13* 遺伝子のうち、*a13* と *d13* が機能しなくなると指が全欠損することがわかりました。また、それは四肢の再生でも同様でした（図 4）。これは**発生に必要な遺伝子が再生にでも必要であることを初めて明確に示した結果**です。

図4

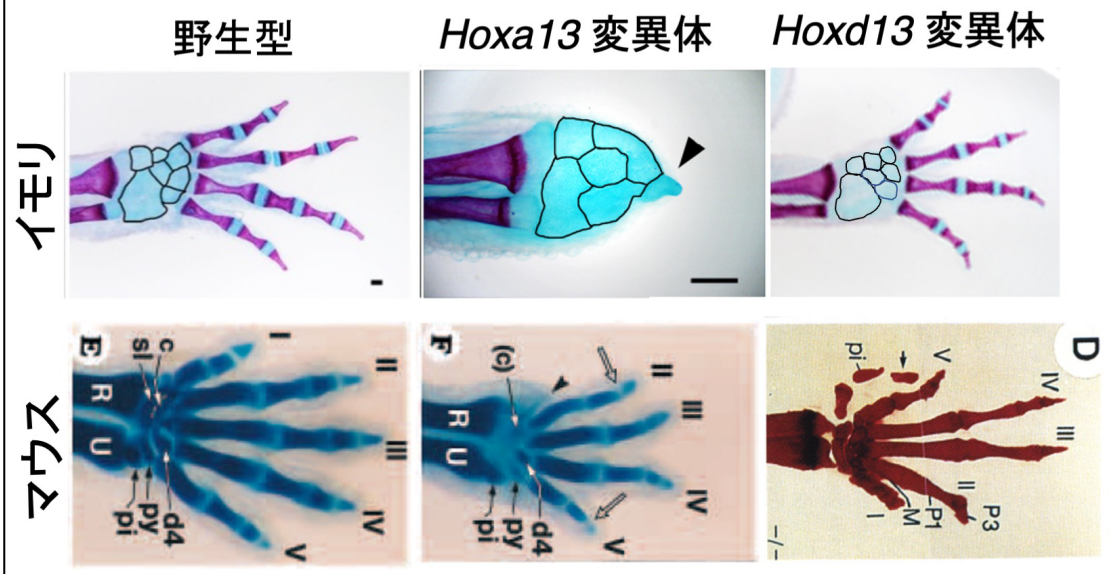
Hox13 遺伝子の指形成の機能は種を超えて、また、再生でも保存されていた



さらに予想外の重要な発見がありました。マウスでは *a13* も *d13* もほぼ同等の機能を持ち、一方の変異だけでは指 1 本の欠損や指骨の融合などはありますが、指の全欠損は起こりません(図 5)。両方とも変異があってはじめて全欠損が起こります(図 1 右)。

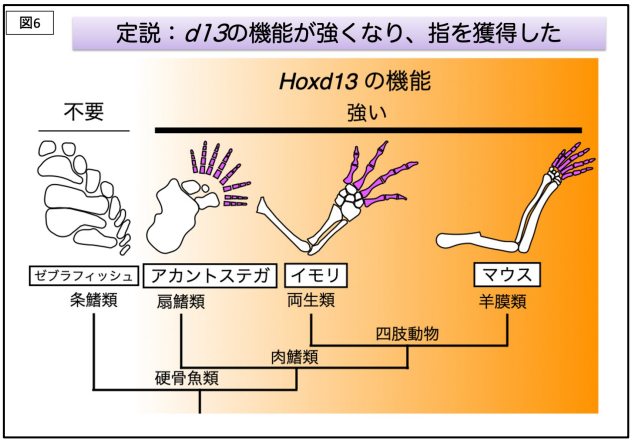
図5

イモリでは*a13* が指形成に主要な機能をもち、*d13*の機能は弱い

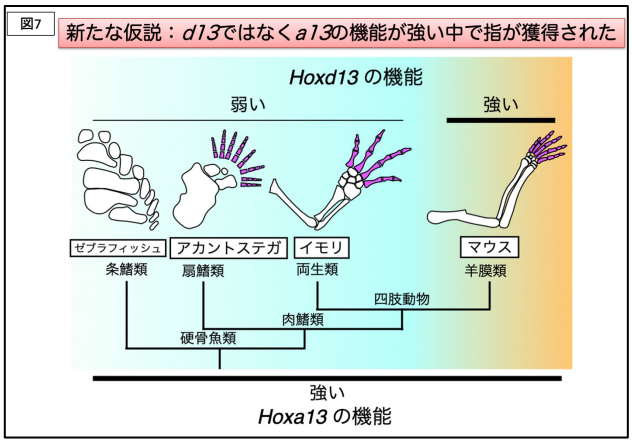


マウスについてはFromental-Ramain et al, Development, 1996

ところが、イモリでは、*a13* の変異だけで指が全欠損しました。一方、*d13* の変異では異常は全く認められませんでした（図 5）。このことは、**マウスとは異なり、イモリでは *d13* の機能は非常に弱く、主に *a13* のみで指を形成している**ことを示しています。このことは動物種によって遺伝子群の中の個々の遺伝子の使われ方が異なっていることを示します。また、進化の中でどのようにして四肢が獲得されたのかの問題に深く関わります。



脊椎動物は、魚類から両生類に進化した際に四肢を獲得しました。このとき、指も同時に獲得されました。これまでの定説では、*d13* の機能が強くなることで指が獲得されたと考えられてきました（図 6）。しかし、これは残念ながら主に魚類と哺乳類での比較で得られた説でした。



今回の私たちの研究は、まさに哺乳類と魚類の間の大きなギャップを埋めるものです。また、初めて四肢を獲得した両生類での結果です。その結果は *d13* の機能が弱い状態でも *a13* の機能が強ければ指を形成、すなわち、獲得できたことを示しています。これは魚類での研究や古代の多指をもつアカントステガと同様の形態を示すマウスでの研究の結果と一致します。おそらく、*a13* は魚類の鰭の先端の構造（鰭条）を作るのに使用されていて、その後、先端部のサイズ拡大が起きた際に指形成へと用途が変わったのではないかと思われます。イモリでは現在でもその状態が残されており、その後の四肢動物では *d13* の機能が強くなり、その結果、指の 5 本体制の獲得、安定化に関わったのではないかと考えられます。

【まとめ】

以上のことをまとめますと、以下が示されました（図 8）。

1. *Hox13* 遺伝子は指形成に必須であり、この機能は発生と再生、および種を越えて保存されています。
2. イモリ *Hoxa13* 遺伝子は指形成において主要な機能をもちます。この結果は進化

における指獲得機構に新たなモデルを提供します。

イモリという私たちからはとても遠く考えられる動物での遺伝子の機能の研究はどのような意義があるのでしょうか。今回の研究は以下の重要性を示しています。

1. 脊椎動物の遺伝子の機能解析のほとんどがマウスでの結果です。様々な動物での遺伝子の機能がどれだけ同じなのか（保存性）、どれだけ異なっているのか（多様性）を知るためには、様々な動物での解析が重要です。
2. 進化の研究、特に四肢進化では、これまで魚とマウスとの比較になりがちでした。その大きなギャップを埋めるために最初に四肢を獲得した両生類での研究はとても重要です。

図8

結論

Hox13 遺伝子は指形成に必須であり、この機能は発生と再生、および種を越えて保存されている。

イモリ *Hoxa13* 遺伝子は指形成において主要な機能をもつ。

イモリでの遺伝子機能解析の意義

1. 脊椎動物の遺伝子の機能解析のほとんどがマウスでの結果。保存性、多様性を知るためには、様々な動物での解析が重要。
2. 進化の研究、特に四肢進化では魚とマウスとの比較になりがち。そのギャップを埋めるために最初に四肢を獲得した両生類での研究は重要。

【今後の展望】

今回の研究から、哺乳類だけで遺伝子の機能を調べていても種を超えた保存性や多様性はわからないことがよくわかります。また、哺乳類の再生能力はきわめて限られているので、再生における機能はほとんど解析できません。そこで、他の *Hox* 遺伝子についてイモリでの解析を現在進めています。また、これらの成果を通じて四肢進化について考察を深めていきます。

【論文情報】

題名：Newt *Hoxa13* has an essential and predominant role in digit formation during development and regeneration. （イモリ *Hoxa13* 遺伝子は発生および再生における指形成において必須かつ主要な機能を担う）

著者：Takeuchi, T.*, Matsubara, H.*, Minamitani, F., Satoh, Y., Tozawa, S., Moriyama, T., Maruyama, K., Suzuki, K. T., Shigenobu, S., Inoue, T., Tamura, K., Agata, K., and Hayashi, T.（竹内隆*、松原遼*、その他 11 名、*同等貢献）

掲載予定誌：Development

【研究支援】

本研究は JSPS 科研費 （26650082, 16H04794, 20K06656, 18K06257, 16K08467）と基礎生物学研究所 共同利用研究 (18–204)による支援を受けて行われました。