

ニューロンにおけるゲノム DNA の倍数化

Polyploidy in neuron

(日本動物学会推薦)

代表研究者 福岡女子大学 松尾 亮太 Fukuoka Women's University Ryota MATSUO

Neuronal polyploidization is one of the conspicuous characteristics of gastropod mollusks. Many brain neurons in gastropods contain large amount of genomic DNAs in their nuclei as a result of repeated whole genome replication without cell division. The polyploidization is thought to occur to meet the increasing demand for macromolecules during the body growth of an animal. That is, by increasing their sizes, neurons will enhance the efficiency to innervate and regulate peripheral organs. However, it has been unknown how the neurons sense the requirement for enhancing macromolecule synthesis. Here I demonstrated using the “whole brain transplantation technique” that the brain neuron replicates its genomic DNAs in response to some retrograde signals derived from the peripheral organs that are innervated by that neuron. Nerve dissection experiment further supported this idea. I also recently obtained a preliminary observation that polyploidization does not necessarily enhance the amount of all of the transcripts evenly, but rather the level of transcripts increases differentially, indicating some additional regulatory mechanisms are imposed on the macromolecular synthesis following DNA polyploidization.

研究目的

ヒトを含め、ほとんどの動物は父母由来ゲノムを一对持ち、二倍体の体細胞から成る。また、ヒトにおいて脳を構成するニューロンは、そのほとんどが分裂能を持たず、その核には終生同じ量の DNA が格納された状態である。

しかしながら、ナメクジやカタツムリ、アメフラシといった軟体動物門腹側綱に属する動物は、その脳の中に巨大なニューロンを多く持ち、その核 DNA は二倍体から大幅に増えていることが知られている。これは、コムギやある種の両生類のように、全身の細胞が一様に倍数化しているという訳ではない。DNA を増幅しているのが脳のニューロンのみであるかどうかは、今後の詳細な解析を待たねばならないが、少なくとも腹足類の脳には様々な程度に DNA を増幅させたニューロンが混在しているのである。

イリノイ大学の Gillette (1991) は、こういった軟体動物腹足類の脳の特異性について、「体が大きく成長し続ける腹足類において、運動ニューロン等は、巨大化する末梢臓器をうまく支配できるよう、核ゲ

ノムを増幅し、物質合成能を高めて巨大化することで、対応している」といった解釈を与えている¹。

私は、この解釈の妥当性を実験的に裏付けるべく、ナメクジを用い、①体を大きく成長させると脳のニューロンが大きくなること、②DNA の増幅頻度が亢進すること、③DNA の増幅は転写産物の増加も伴うこと、そして④DNA の増幅はゲノム全体の一様な増幅（つまり倍数化）であること、の4点を明らかにしてきた^{2,4}。さらに、ニューロンによっては一万倍体（おそらく $16,384 = 2^{14}$ 倍体）に及ぶ倍数化を示すものもいた⁴。つまり、Gillette が提唱するように、脳のニューロンは自身の体の成長、巨大化に応じて、支配領域の拡大を可能にすべく、DNA を繰り返し倍数化させることで対応している、との説が実験的、定量的に裏付けられた。

しかしながら、脳のニューロンが、自身の体が成長、巨大化していることを如何にして知り、ゲノム DNA の倍数化に結び付けているのか、依然として不明であった。また、ゲノム DNA の一様な増幅（倍数化）が、そこにコードされている全ての転写産物

の量も一様に増加させるのか、といったことが不明であった。そこで本研究では、この2点の問題を明らかにすることを目的とした。

研究経過

ニューロンは、自身の体が成長、巨大化していることをどのように感知しているのか？

ニューロンが自身の体が大きくなりつつあることを感知する機構として、筆者らは次の2つの可能性を想定した。

- ① 人為的に太らされているナメクジは、常時体液中に含まれる血糖などの栄養分子の濃度が高い状態にある。そのため、脳のニューロンは、体液中に含まれる栄養（グルコースやアミノ酸等）や栄養状態を反映する因子（インシュリン様分子など）に直接反応してゲノムの倍数化に結び付けている。
- ② 腹側類の脳には、末梢臓器と直接シナプス結合する運動ニューロンや感覚ニューロンが多く含まれている。これらのニューロンが投射先の臓器から何らかのフィードバックシグナルを受けることで、その臓器の成長が促進されていることを感知し、倍数化へとつながる。

という2つのモデルである。

これら2つの可能性を検証するため、筆者らはまず、『脳まるごと移植』技術を用い、①の可能性の是非を検討した。この『脳まるごと移植』技術は、摘出した他個体の脳を、他の個体の体腔内へと移植する、というシンプルな移植を意味する。すなわち、ホスト（レシピエント）のナメクジには、体内に脳が2つある状態になる。ナメクジの体液循環システムは、人間などと異なり、体液が心臓ポンプによってゆっくりと循環し、その中にあらゆる臓器が存在している、という単純な開放血管システムである。従って、移植された脳も、ホストの脳も、同じ体液環境に曝されることになる。それ故、もし①の仮説のように、栄養状態を反映する体液中の因子によりニューロンがDNA増幅を起こすのであれば、栄養状態の良いホスト脳のニューロンと、移植脳のニューロンは、ともにDNA増幅が亢進することが予想される。しかし、もし②の可能性が正しいのであれば、移植脳はホストの臓器に対する神経支配を欠くため、DNA増幅の亢進が見られないことが予想される。果たして結果は、移植脳ではDNA増幅の亢進

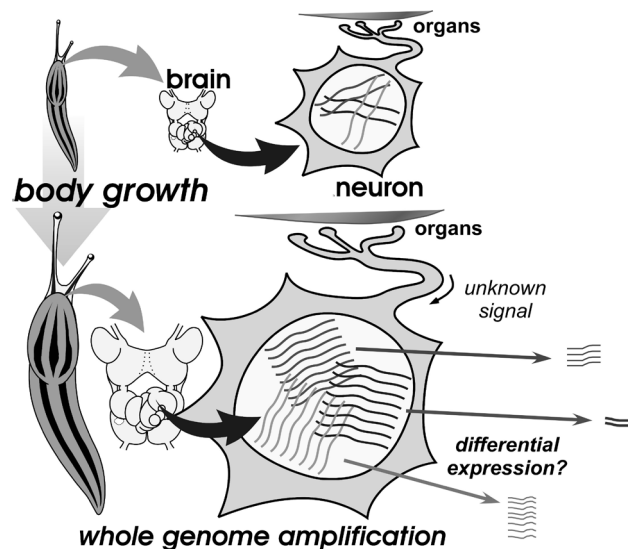
が見られない、というものであった。つまり、ニューロンがDNA増幅を亢進するためには末梢臓器への神経支配が必要である、という仮説②が示唆された。

そこでこの仮説②を検証するため、ナメクジの内在性の脳から出力する主要な神経束を片側だけ切断した際、切断を受けた側の神経節に存在するニューロンでDNA増幅頻度が低下するか否かを調べた。その結果、予想通り切断を受けた側の神経節におけるDNA増幅の頻度が有意に低下したことが明らかになった。すなわち、末梢臓器との神経連絡がニューロンのDNA増幅に重要な役割を果たしていることが示された。

DNA倍数化に伴い、転写産物も等しく増加するのか？

ニューロンでのDNA増幅が、ゲノムの局所的な増幅（=polytenyやpolysomyなど）ではなく、全体が一様に増幅する倍数化（polyploidy）であることは、筆者らが既に示している⁴。しかしながら、倍数化した結果、全ての転写産物が等しく増加するのかどうかは不明であった。

筆者らは、人為的に太らせたナメクジの脳でどのような遺伝子の発現が変化しているかを調べている過程で、偶然にも、倍数化した同一のニューロン群で発現しているにもかかわらず、ひとつの遺伝子は発現量が増え、他方の遺伝子は発現量が減少する、と



図：投射先の臓器が大きくなることで何らかのシグナルを受けたニューロンは、ゲノムを倍数化させる。しかし、そこから転写されてできる産物は、一様に増えている訳ではなさそうである。

いう現象を見出した。両方ともニューロペプチドをコードする遺伝子なのであるが、体の成長によりニューロンが倍数化したことに伴う量的変化の方向が、真逆なのである。つまりこのことは、倍数化に伴って発現量が増える遺伝子ばかりでなく、減少する遺伝子も存在する、ということの意味している。従ってニューロンは、体が大きくなることに伴って、ゲノムを倍数化させて転写産物量を増やすだけでなく、遺伝子の転写レベルを個別に制御しているか、あるいは転写後調節などの機構により、mRNA 種ごとの量を巧みに調節しているということが推察された(前頁の図)。

現在、同じ単一の巨大ニューロンで発現しているのに、倍数化が進んだ際に、あるものは増え、あるものは減る、といった事例をさらに集めるため、RNAseq を利用した網羅的なスクリーニングを実施しているところである。

考察

本研究によりまず、腹足類のニューロンでは、それらが支配している末梢臓器から来る何らかのシグナルにตอบสนองしてゲノム DNA を倍数化させていることが示された。しかし、そのシグナルの実体が何であるのかはまだ分からない。筆者らは哺乳類で言うところの BDNF のような神経栄養因子様の分子を、今のところイメージしているのであるが、ひょっとしたら物質的な実体を伴わない信号(例えば臓器からアンチドロミックに伝わる膜電位変化の信号のようなもの?)である可能性も否定できない。いずれにせよ、ニューロンが倍数化の必要性を感じるためには、それが支配する臓器に起こる変化(巨大化)が必要であることが強く推察される。今後、そのシグナルの実体を明らかにしていくことが必要である。

また、ニューロンが周囲の液性環境の状態ではなく、実際に神経支配している臓器等の状態をモニターしているらしいことについては、ある意味非常に理にかなった戦略であると言える。投射先の臓器が大きくなって初めて、運動ニューロンは自身を大きくする必要が生じるからである。何も栄養状態だけに敏感に反応して、体の成長に先んじてニューロンを大きくする必要は、確かに無さそうである。

さらに、後半で述べた転写産物の個別的な制御については、その精緻な物質合成制御機構に驚かざるを得ない。鋳型の DNA を 2 倍にしたから RNA、タ

ンパクも同じように 2 倍になる、という単純なものではないらしい。倍数化に伴って、DNA 上のエピジェネティックな痕跡(シトシンメチル化やヒストン修飾の状態等)が果たして正確に継承されるのかどうかも含め、転写活性、転写後制御の変化をつぶさに調べていくという作業が、今後求められる。

参考文献

1. Gillette R. On the significance of neuronal gigantism in gastropods. *Biol Bull* 180, 234-240 (1991).
2. Yamagishi M, Ito E, and Matsuo R. DNA endoreplication in the brain neurons during body growth of an adult slug. *J Neurosci* 31, 5596-5604 (2011).
3. Matsuo R, Yamagishi M, and Ito E. Analysis of DNA endoreplication in the brain neurons in the terrestrial slug *Limax valentianus*. *Acta Biol Hung* 63 (suppl 2), 171-178 (2012).
4. Yamagishi M, Ito E, and Matsuo R. Whole genome amplification in large neurons of the terrestrial slug *Limax*. *J Neurochem* 122, 727-737 (2012).

研究の発表

口頭発表

1. *[松尾亮太](#).「ナメクジの脳におけるニューロンのゲノム DNA 増幅」(日本動物学会第 84 回大会、2013 年 9 月、岡山、招待講演)
2. *[松尾亮太](#)、[魚住奈々](#)、[松尾優子](#).「ナメクジ大脳神経節の交連部を介した光情報の左右比較」(第 4 回九州地区動物談話会、島原市、2014 年 8 月 22 日)
3. *[Matsuo R](#). “Photo-tropotaxis based on projection through the cerebral commissure in the terrestrial slug *Limax*.” International Workshop -*Neuronal principles of learning and memory and its perspectives for designing autonomic distributed systems-*, Honolulu, October 3, 2014.

誌上発表

1. *[Matsuo R](#), Yamagishi M, Wakiya K, Tanaka Y, and Ito E. Target innervation is necessary for neuronal polyploidization in the terrestrial slug *Limax*. *Dev*

- Neurobiol* 73, 609-620 (2013).
2. *松尾亮太 「ニューロンにおける DNA の増幅」
ブレインサイエンス・レビュー 2014 pp. 251-266
(2014).
 3. *Matsuo R, Kobayashi S, Wakiya K, Yamagishi M,
Fukuoka M, and Ito E. The cholinergic system in the
olfactory center of the terrestrial slug *Limax*. *J Comp
Neurol* 522, 2951-2966 (2014).
 4. Matsuo Y, Uozumi N, and *Matsuo R.
Photo-tropotaxis based on projection through the
cerebral commissure in the terrestrial slug *Limax*. *J
Comp Physiol A* 200, 1023-1032 (2014).