

生物の寒冷適応をもたらした遺伝的基盤について

野村 真¹、末永大夢²

1 京都府立医科大学大学院神経発生生物学 2 京都府立医科大学医学部医学科

要旨

寒冷な環境は生物の進化の方向性に大きな影響を与えてきた。近年の網羅的なゲノム解析の研究成果により、寒冷環境への適応に貢献した遺伝的变化に関する知見が蓄積されつつある。本稿ではこうした寒冷適応と遺伝的变化に関する興味深い事例について幾つかとりあげるとともに、我々が現在取り組んでいる温度依存的な発現現象とその進化に関する研究を紹介し、ゲノムの変化と表現型との因果関係を証明する研究戦略について議論する。

序

地球に生息する生物はすべて固有の温度環境に適応しながら進化を遂げてきた。生命活動を維持するための生体構造や代謝反応は細胞内外の温度に依存しているにもかかわらず、一般的な生化学反応の至適温度を大幅に超えた高温や低温環境下でも様々な生物が生存している¹。こうした生物では、過酷な温度においても生命活動を維持できるような特殊な体内機構が進化している。熱水孔に生息する好熱細菌が持つ熱耐性 DNA ポリメラーゼ²や、南極海に生息するコオリウオ科の魚類の不凍血液³ (多量の糖タンパクを含有することで凝固点が降下する)、冬眠する地リスの神経細胞における活性酸素の抑制による微小管保護機構⁴などはこうした寒冷適応の分子メカニズムの例である。こうした特殊な生命機能をもたらした遺伝的变化は、過酷な温度環境における適応進化の産物と考えられる。

歴史を振り返ってみれば、地球の平均気温は周期的な変動を繰り返してきた。中世の小氷期と呼ばれる期間では北半球における平均気温が継続的に低下し、寒冷な気候と天候不順は当時の未熟な農業技術とともに農民に苦役を強いていた⁵。さらに地質学的年代で生物史を遡れば、地球は何度も大規模な氷河期を経験してきた。特に、新

生代第4期の氷河期は恒温動物である哺乳類の進化に大きな影響を与えたことが推測されている。また極地に移住したヒト集団は特異的な遺伝的变化により寒冷な風土に適応してきた⁶。本稿では、生物の寒冷地適応と遺伝的变化に焦点を当て、まず特定の遺伝的变化が哺乳類の寒冷適応に及ぼした影響について紹介する。また、極北に適応したヒト集団に特異的に見られる遺伝的多型についての報告を紹介する。最後に我々が現在取り組んでいる温度依存的な Notch シグナル活性の種間差異に関する研究について紹介し、特定の生物集団に見られる遺伝的变化と表現型との因果関係を証明する研究戦略について議論する。

哺乳類系統における UCP1 遺伝子の進化と温度環境への適応

哺乳類にとって体温をどのようにして維持するか、という問題は生死に関わる生理学的課題である。多くの小型哺乳類は気温の低下により筋肉を収縮させること（いわゆる震え）により熱を産生し体温を維持しようとする。一方、ミトコンドリアを介した熱産生機構も体温維持には不可欠である。褐色脂肪細胞のミトコンドリア内に存在する UCP1（脱共役タンパク質: uncoupling protein 1）は、非震え熱産生（Non-shivering thermogenesis: NST）と呼ばれる体温維持機構に不可欠な役割を担っている⁷。興味深いことに、体重が 10kg を超える大型の哺乳類では NST がほとんど見られない⁸。体表面からの熱の放散を防ぐ一つの方法は、体のサイズ（体積）を増大させることである。これは、ドイツの生物学者ベルクマンが提唱した「恒温動物では同じ種でも寒冷な地域に生息するものほど体積（体のサイズ）が大きい」という法則と合致する⁹。従って、体の大型化は、NST に頼らず体温を保持するための適応進化と言えるだろう。しかしながら、多様な哺乳類系統における体温維持機構の進化に特定の遺伝子がどのように関わってきたのかについては、これまで少数の哺乳類の種を対象とした限定的なデータしか報告されていなかった。

2017年に Science Advanced に発表された論文では、哺乳類 133 種を対象に UCP1 遺伝子を含むゲノム領域を比較検討し、寒冷適応との相関を解析した結果が報告されている¹⁰。研究の結果、真獣類（胎盤を持つ哺乳類）における主要 18 系統のうち 8 つの系統において、UCP1 遺伝子の欠失や ORF（Open Reading Frame）内の変異による機能喪失が確認された。興味深いことに、これらの哺乳類系統には特異的な体温調節機構や代謝機構を備えている種が含まれている。例えば、UCP1 の機能

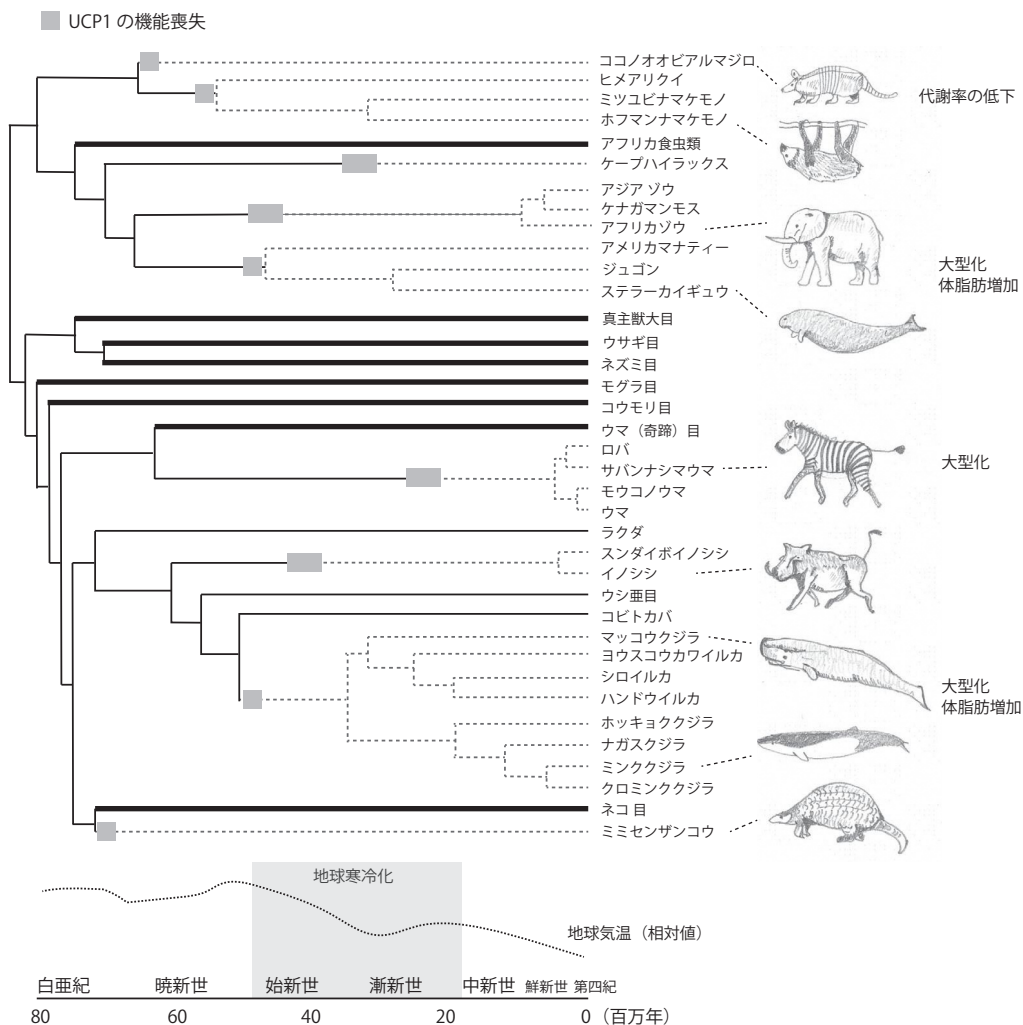


図1 哺乳類の進化過程におけるUCP1の機能喪失。UCP1の機能喪失が生じた系統の子孫では、地球寒冷化に伴い体のサイズ的大型化など特殊な寒冷適応を果たしたと推測される。文献^{10,11}より改変。

喪失が見られた異節上目（ナマケモノを含む）とセンザンコウ目は、非常に低い代謝率を持つ動物として知られており、異節上目の体温は他の真獣類よりも低い。一方、UCP1の機能が喪失した他の哺乳類系統では、その後起こった地球規模での長期寒冷化に伴って、体のサイズを増大させることで寒冷環境に適応したことが古生物学的知見から推測されている。またUCP1の機能喪失はクジラ目、ウマ、絶滅したケナガマンモスやステラーカイギュウなどに見られる体脂肪の顕著な増加など、特殊な体温

調節機構の進化につながったと考えられる (図 1)。実際、現在のクジラ目は暖かいテチス海に生息していた祖先種 (ムカシクジラ) とは異なり、寒冷な水温に適応した動物群である。さらに、現在生存している哺乳類の中で UCP1 の機能喪失が見られる系統は、UCP1 の機能を維持している系統と比較して種の多様性が低いことも明らかとなった。生物の進化において、一般的に体のサイズの大型化は環境変化に対して脆弱となるため絶滅のリスクを高めることが示唆されている。すなわち、UCP1 の機能喪失は哺乳類進化の方向性を制約した遺伝的な背景の一つとなったことが推測される¹¹。

ヒト集団における北極地域での適応

アラスカやカナダ、グリーンランドで暮らしているエスキモーと呼ばれる先住民族は、極度の低温や短い日照時間といった北極地域特有の環境に適応してきた^{12,13}。こうした極北地方の生活環境は、エスキモーのゲノム DNA にどのような影響を与えてきたのだろうか？特に 2015 年に報告された論文では、グリーンランドに住むエスキモー集団の 1 つであるイヌイットを対象に次世代シーケンサーを用いた大規模な GWAS (Genome Wide Association Study) の結果が示されている。イヌイットにおける多型と欧州人、中国人のゲノムに見られる多型とを比較解析することによって、極北地域におけるヒト集団の適応進化に関する興味深い事実が明らかとなった¹⁴。

エスキモー集団は長鎖脂肪酸の一つであるオメガ-3 不飽和脂肪酸が豊富に含まれているアザラシやクジラ肉を主食としている生活を長きにわたり営んでいる。長鎖脂肪酸の代謝にはいくつもの酵素が関わっているが、その中でも脂肪酸不飽和化酵素 (Fatty Acid Desaturase: FADS) は、不飽和脂肪酸の合成と代謝に重要な役割を果たす。グリーンランドのイヌイット集団における一塩基多型 (SNP) の解析の結果、FADS1、FADS2、FADS3 の三つの遺伝子を含むゲノム領域においてイヌイットに特徴的な SNP が同定された¹⁴。特に、FADS2 は脂肪酸 (リノール酸、 α -リノレン酸) を生物活性のある脂肪酸 (EPA や DHA、アラキドン酸) に変換する酵素をコードしている。極地に住むイヌイット集団は EPA を豊富に含む海生哺乳類を主食としているため、これらの脂肪酸を体内で合成する必要がない。実際、イヌイット集団から採取された赤血球における脂肪酸代謝経路の中間産物の量を測定すると、これらの酵素の代謝産物である EPA の量が他集団と比較して顕著に減少しており、イヌイット集団における上記酵素の多型は酵素活性を減少させるような機能的変化をもたらしたと

推測される。

また、グリーンランドのイヌイットでは、**TBX15** という遺伝子が存在するゲノム領域にも多型が存在することが明らかとなっている¹⁴。**TBX15** は **T-box** ファミリーに属する転写因子をコードする遺伝子の 1 つであるが、注目すべきはこの遺伝子が褐色脂肪細胞や白色脂肪細胞の分化に関与している点である。これらの脂肪細胞は寒冷刺激によって熱産生を行うことが知られており、**TBX15** の変異は、脂肪細胞による効率的な熱産生に関与している可能性がある。

さらに、グリーンランドのイヌイット集団ではフルクトサミン 3 キナーゼ関連タンパク (**FN3KRP**) をコードする遺伝子を含む領域に特異的な多型が同定されている¹⁴。**FN3KRP** はフルクトースアミン、ピシコースアミン、そしてリブローズアミンの代謝を行う酵素であり、糖化と呼ばれる酸化過程の一つを抑制する。過剰な不飽和脂肪酸の摂取は酸化による細胞へのストレスを増強することが知られているが、**FN3KRP** の変異はこの酸化ストレスを軽減している可能性がある。**PUFA** (多価不飽和脂肪酸) の酸化によるストレスは細胞や個体の老化の原因となりうるが、イヌイットにおけるこの酵素の変異は **PUFA** が多く含まれている極北での食生活に適応進化の一つであると考えられる。

イヌイットのゲノムにおけるこれらの多型は特異的な表現型の基盤となることで、極北の厳しい環境下での自然選択を受けてきたと推測される。あるいは、集団遺伝学的な観点から考えると、遺伝的浮動の一つである創始者効果による影響も考えられるだろう^{6,15}。元々、極地は人の住んでいない (住めない) 土地であった。そこに、特異的な変異を持った少数の祖先集団がアジアからベーリング海峡を經由し、グリーンランドに移住した後に世代交代を繰り返した結果、祖先集団の変異が子孫集団に急速に拡散していったことも考えられる。

遺伝子変異と表現型との因果関係の証明

上記で紹介した報告は、特定の生物集団における遺伝的変異と寒冷地適応との相関を示した点で大変画期的である。こうした研究が可能となったのも、近年飛躍的に進歩した次世代シーケンサーによるゲノム解析技術によるところが極めて大きいだろう (余談であるが、スティーブン・スピルバーグ監督の「ジュラシック・パーク」の第 1 作では、生物工学のインジェン社によって琥珀に閉じ込められた蚊から採取した恐

竜のゲノム DNA を再構築する手順が紹介されている。採取された恐竜の DNA は無数に断片化しているが、それらは「画期的なコンピュータープログラム」によってつなぎ合わされる。映画公開から 20 数年経過した現在、恐竜復元のプロトコルは未だサイエンス・フィクションであるにもかかわらず、高速ゲノムシーケンシングと *de novo* アセンブルの技術が唯一現実となった点は興味深い。しかしながら、ある集団において特異的な遺伝子変異が実際にどのような表現型をもたらしているのか、すなわち遺伝的変化と表現型との因果関係を実際に証明した報告は非常に少ない。例えば前述のイヌイット集団における脂肪酸不飽和化酵素の多型の場合、報告されている多型はすべて遺伝子内のイントロン領域に存在している (図 2)¹⁴。遺伝子の転写・翻訳の過程で除去されるイントロンに当然ながら酵素タンパク質を構成するアミノ酸情報は無い。遺伝子の発現を調節する配列がイントロン内に存在する¹⁶、あるいはイントロンのスプライシングの過程が発生現象の時間的な制御を行っている例¹⁷も報告されているが、イヌイットの *FADS2* 遺伝子のイントロン内変異が果たして脂肪酸不飽和化酵素の機能にどのような影響を与えるのか、培養細胞や実験動物を用いた機能検証実験は報告されていない。また、ある遺伝子が特定の表現型の創出に必須であったとしても、別の種ではまったく異なる遺伝子を介して同じ表現型を創出している場合もある¹⁸。自然選択は常に表現型に対して作用するのであり、DNA の塩基配列を直接選別するわけではない。種を超えたゲノム配列の変化が表現型にどのように影響を与えたのかを検証するためには、我々が以前報告したように様々な生物種を対象とした遺伝子操作・改変実験が不可欠である¹⁹。

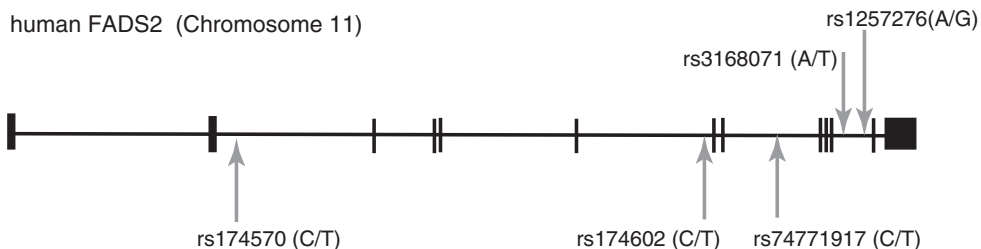


図 2 イヌイット集団に見られる *FADS2* 遺伝子の特異的多型。() 内は祖先型/派生型の塩基を示す。縦線はエクソン、横線はイントロン領域を示す。文献¹⁴とヒトゲノム dsSNP データ (dbVar: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar>) をもとに再構築。

羊膜類における温度依存的な Notch シグナル活性の変化

我々は恒温動物と変温動物の脳の発生と進化の研究の一環として、胚体外の温度変化が胚発生にどのような影響を及ぼすのかを解析している。哺乳類、爬虫類、鳥類はすべて「羊膜類」と呼ばれる動物群（胚が羊膜によって包まれた形で発生する）に含まれる²⁰。羊膜類は古生代に生息していた共通祖先から分岐したと推測されているおり、哺乳類と鳥類の「恒温性」は羊膜類の中でそれぞれ独立に進化したと考えられている²¹。こうした動物群の胚を様々な温度で培養すると、特に神経細胞やグリア細胞の産生に重要な役割を担う神経前駆細胞の増殖と分化スピードが大きく変化することがわかった。この温度依存的な神経前駆細胞の動態変化の鍵となるのが Notch シグナルである。Notch シグナルは細胞膜貫通型の Notch 受容体とそのリガンドを介したシグナル伝達経路であり、神経前駆細胞から神経細胞への分化運命決定に極めて重要な役割を果たす。興味深いことに、ニワトリ神経前駆細胞を通常の胚発生温度(37°C)よりも低温である 30°C で培養すると、Notch シグナルの活性が有意に上昇することが明らかとなった²²。Notch シグナルの活性に不可欠な酵素の一つである γ -セクレターゼの至適温度は多くの代謝酵素と同様に 37°C 前後であるため、低温での Notch シグナルの活性の上昇は大変奇妙な現象である。こうした温度依存的な Notch シグナル活性の変化は爬虫類(カメ)の神経前駆細胞でも検出される。一方、哺乳類(マウス)の神経前駆細胞における Notch シグナル活性は培養温度を変化させても一定であることから、哺乳類細胞では温度変化に対して Notch シグナルを安定に保つ補償機構が働いていることが推測される。種に特異的な Notch シグナルの温度依存性を司る分子基盤について現在解析を進めているが、ニワトリ神経前駆細胞で見られる低温でのシグナル活性上昇はエンドサイトーシス阻害剤で抑制されるため、少なくともリガンドあるいは受容体のエンドサイトーシス経路が関わっている可能性が高い。またこうした温度依存的な Notch シグナル活性制御の進化適応的意義を探るため、羊膜類の胚発生過程で Notch シグナルを人為的に操作し、得られた表現型を種間で比較する実験を現在行っている。興味深いことに、Notch シグナルを胚発生の段階で一過的に上昇させた場合の表現型が、哺乳類と鳥類で異なる可能性を示す知見を得ている(野村、末永、未発表)。このような実験室で得られたエビデンスが実際の野外環境で生息する生物にとってどのような適応的意味があるのか、行動学的、生態学的な知見と照らし合わせることも必要だろう。実際、親鳥が巣から離れることによって孵

卵が一時的に中断された場合、胚は死亡することなく孵化するが、孵化までの日数が延長されることが報告されている²³。温度依存的な Notch シグナル活性の制御は、胚発生が胚体外温度に依存している生物で獲得された生存戦略の一つなのかもしれない。こうした羊膜類における温度依存的・非依存的な発生現象は、遺伝的变化と表現型との因果関係を証明する良いモデルとなり、温度変化に対する生物の進化適応を解明する上での重要な手掛かりを与えることが期待される。

おわりに

生物の寒冷適応は古くから知られている現象であるが、その遺伝学的基盤は未解明の部分が多い。大規模ゲノム解析によって得られた集団特異的な変異や多型が実際に寒冷適応の表現型の基盤となっているのか、細胞や個体レベルでの検証が必要である。ゲノム編集技術や初期化のプロセスを多様な動物種の細胞に応用することが可能になった今、生命科学の階層を超えた研究デザインを構築することによってこの問題に取り組むことが肝要である。

謝辞

本稿で紹介した研究の一部は科学研究費補助金・新学術領域「温度生物学」(18H04701)の研究費により遂行されている。また本稿に適切な助言を頂いた京都府立医科大学・生物学教室の小野勝彦教授、後藤仁志講師に感謝する。

開示すべき利益相反は無い。

文献

- 1 クヌート・シュミット・ニールセン (著), 沼田英治, 中嶋康裕 (監訳). 動物生理学 第5版, 東京大学出版会 (1997).
- 2 Chien, A., Edgar, D. B. & Trela, J. M. Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile *Thermus aquaticus*. *J Bacteriol* **127**, 1550-1557 (1976).
- 3 DeVries, A. L. Role of glycopeptides and pepddes in inhibition of crystallization of water in polar fishes. *Phil Trans R Soc Lond B* **304**, 575-588.

- 4 Ou, J. *et al.* iPSCs from a Hibernator Provide a Platform for Studying Cold Adaptation and Its Potential Medical Applications. *Cell* **173**, 851-863 e816, doi:10.1016/j.cell.2018.03.010 (2018).
- 5 ブライアン・フェイガン (著), 東郷えりか (訳). 歴史を変えた気候大変動 河出文庫 (2009).
- 6 Fan, S., Hansen, M. E., Lo, Y. & Tishkoff, S. A. Going global by adapting local: A review of recent human adaptation. *Science* **354**, 54-59, doi:10.1126/science.aaf5098 (2016).
- 7 Nicholls, D. G. & Locke, R. M. Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiol Rev* **64**, 1-64, doi:10.1152/physrev.1984.64.1.1 (1984).
- 8 Oelkrug, R., Polymeropoulos, E. T. & Jastroch, M. Brown adipose tissue: physiological function and evolutionary significance. *J Comp Physiol B* **185**, 587-606, doi:10.1007/s00360-015-0907-7 (2015).
- 9 C., B. Über die Verhältnisse der wärmeökonomie der Thiere zu ihrer Grösse. *Göttinger Studien* **3**, 595-708 (1847).
- 10 Gaudry, M. J. *et al.* Inactivation of thermogenic UCP1 as a historical contingency in multiple placental mammal clades. *Sci Adv* **3**, e1602878, doi:10.1126/sciadv.1602878 (2017).
- 11 野村真 失った遺伝子による進化的代償 温度生物学トピックス doi:http://www.nips.ac.jp/thermalbio/report/report2017_02.html (2017).
- 12 綾部恒夫, 富田虎夫 & スチュアート・ヘンリ 北米 (講座世界の先住民族 フェースト・ピープルズの現在) 明石書店 (2005).
- 13 Moltke, I. *et al.* Uncovering the genetic history of the present-day Greenlandic population. *Am J Hum Genet* **96**, 54-69, doi:10.1016/j.ajhg.2014.11.012 (2015).
- 14 Fumagalli, M. *et al.* Greenlandic Inuit show genetic signatures of diet and climate adaptation. *Science* **349**, 1343-1347, doi:10.1126/science.aab2319 (2015).
- 15 カール・ジンマー, ダグラス・J・エムレン (著), 更科功, 石川牧子, 国友良樹 (訳). カラー図解進化の教科書 第2巻 進化の理論 講談社 (2017).

- 16 Johansson, C. B., Lothian, C., Molin, M., Okano, H. & Lendahl, U. Nestin enhancer requirements for expression in normal and injured adult CNS. *J Neurosci Res* **69**, 784-794, doi:10.1002/jnr.10376 (2002).
- 17 Takashima, Y., Ohtsuka, T., Gonzalez, A., Miyachi, H. & Kageyama, R. Intronic delay is essential for oscillatory expression in the segmentation clock. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**, 3300-3305, doi:10.1073/pnas.1014418108 (2011).
- 18 倉谷滋 分節幻想—動物のボディプランの起源をめぐる科学思想史 工作社 (2016).
- 19 野村真 胚操作による実験進化派生学：非モデル動物を用いたフェノコピー創出実験. *Studia Humana et Naturalia* **45**, 53-64 (2011).
- 20 Nomura, T., Murakami, Y., Gotoh, H. & Ono, K. Reconstruction of ancestral brains: exploring the evolutionary process of encephalization in amniotes. *Neurosci Res* **86**, 25-36, doi:10.1016/j.neures.2014.03.004 (2014).
- 21 Nomura, T. & Izawa, E. I. Avian brains: Insights from development, behaviors and evolution. *Dev Growth Differ* **59**, 244-257, doi:10.1111/dgd.12362 (2017).
- 22 Nomura, T., Shirai, R., Yamashita, W., Gotoh, H. & Ono, K. Temperature-sensitive and -insensitive controls of Notch signaling in amniote brain development and evolution. *The 41st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society*, July 26-29 (2018).
- 23 Zhao, J.-M., Han, Z.-M. & Sun, Y.-H. Is embryonic hypothermia tolerance common in birds? *Biol Lett* **3**, doi:doi.org/10.1098/rsbl.2016.0967 (2017).