

1. 胎盤と内在性レトロウイルス

今川 和彦¹⁾, 中川 草²⁾, 草間 和哉¹⁾

1) 東京大学大学院農学生命科学研究科・高等動物教育研究センター

2) 東海大学医学部・基礎医学系分子生命科学

生命の進化上, 哺乳類の胎盤は比較的新規に獲得された器官である. 本稿では, 哺乳類が獲得した胎盤の形態や構成細胞に多くの違いがあることやその違いが今まで考えられていた哺乳動物種の一連の進化と異なることを示した. そして, 生体や他の器官や細胞群とは異なり, 胎盤を構成する胚トロホプラスト細胞では, 内在性レトロウイルスやLTR型レトロトランスポゾンに由来する遺伝子の高い発現が見られる. 特に, Peg10, Peg11, さらに胚トロホプラストの融合や胎盤の形態の違いに寄与した *env* 遺伝子に由来する Syncytin について紹介する. 最後に, 同一種において同様の機能を発揮するレトロウイルスの内在化が複数回起こっていること, 新しく内在化したレトロウイルスが転写因子など以前に使用されていた発現制御機構を取り入れている事実から, 既存の遺伝子から新規の内在性レトロウイルスに由来する遺伝子への機能の譲渡 (バトンパス) が起こっていることを紹介したい.

I. 胎盤の形態・構造的な多様性

生命の進化上, 胎盤は比較的新規に獲得された器官で, その機能として胎児発育のための物質 (栄養・ガス) 交換機能, 妊娠を維持するための内分泌機能, 母親と胎児の代謝調節を司る代謝調節機構, さらに母親と異なった遺伝子をもつ胎児を免疫系から守る免疫調節機能など, 多様な機能を有している. 胎盤は胎児の発育 (胎生) にとって必須の器官であるが, 動物種によって由来は異なる. たとえば,

サメなどの軟骨魚類の一部, 単孔類やほとんどの有袋類は, 卵黄嚢から発達してきた卵黄嚢胎盤をもつ¹⁾. その他の哺乳類 (真獣類) がもつ胎盤は漿尿膜胎盤である. ところが, 食虫目の一部に卵黄嚢胎盤と漿尿膜胎盤を同時にもつものがあることや, マウスやラットでは漿尿膜胎盤の発達前に卵黄嚢が胎児と母体の栄養・ガス交換の場となることから²⁾, 多数の種が分岐する以前の「初期の哺乳類」は卵黄嚢胎盤を有しており, 「進化」した結果, 同じような機能を担う漿尿膜胎盤に取って代わったのだと考えられている. ここでは, 漿尿膜胎盤についての形態・構造的な多様性を見ることにする.

連絡先

〒319-0206

茨城県笠間市安居 3145

東京大学大学院農学生命科学研究科・高等動物教育研究センター

TEL: 0299-45-2606

FAX: 0299-45-5950

E-mail: akaz@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

〒259-1193

神奈川県伊勢原市下糟屋 143

東海大学医学部・基礎医学系分子生命科学

TEL: 0463-93-1121 内線 2661

FAX: 0463-93-5418

E-mail: so@tokai.ac.jp

1. 胎盤の分類

胎盤は妊娠を維持するための哺乳類共通の器官でありながら, その構造や構成細胞も動物種間で著しく異なる. 基本的に胎盤は, その形状から霊長類や齧歯類に見られる盤状胎盤, イヌやネコなどの帯状胎盤, ウシやヒツジなどの反芻類の多数の子宮小丘に胎盤を形成する散在性胎盤, ウマやブタの漿尿膜のほぼ全体が機能する叢毛性胎盤の四種類に大別される (図1). また, 胎児側胎盤とくに胚トロホプラスト細胞の子宮への浸潤性の差異による分類も行われている. 胎盤・胚トロホプラスト細胞の浸潤性の高い順から, 血絨毛性胎盤 (hemochorial placenta), 内皮絨毛性胎盤 (endotheliochorial placenta), 結合絨毛性胎盤 (syndesmochorial placenta), 上皮絨毛性胎盤

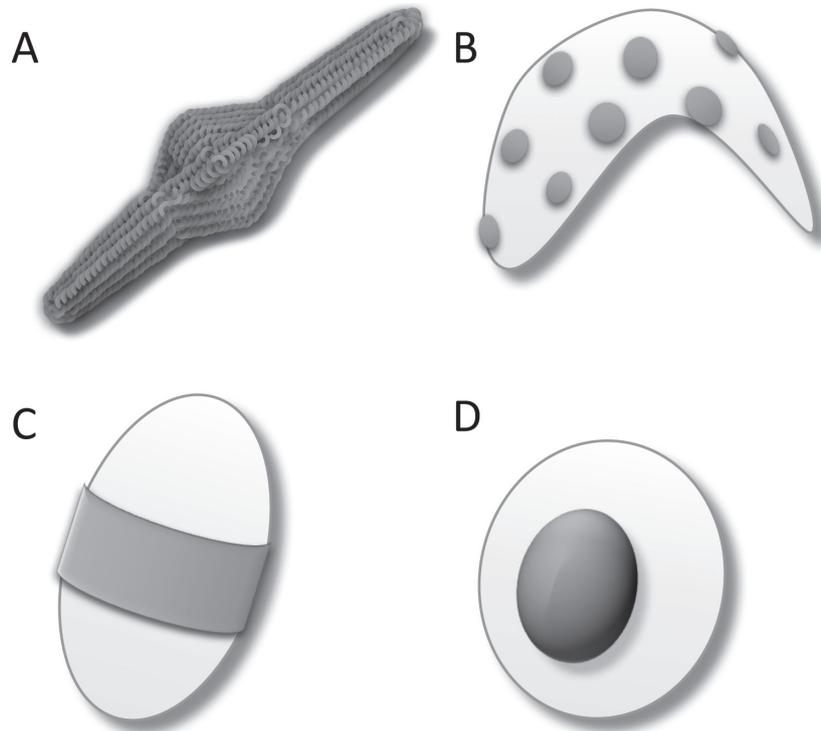


図1 絨毛の分布様式からの胎盤の分類

哺乳動物種の胎盤は四種類に大別され、胎児側の母親の子宮内膜に接する一番外側の絨毛・胚トロホプラスト細胞の浸潤性の低いものから高い順に、叢毛性胎盤、散在性胎盤、帯状胎盤、盤状胎盤がある。A) 叢毛性胎盤：胚側の絨毛が子宮全体に分布し、胎盤として機能する。B) 散在性胎盤：子宮内膜に存在する数十～百数十の子宮小丘に付着するように胎盤が形成される。C) 帯状胎盤：胎児を一周するように帯状の胎盤が形成される。D) 盤状胎盤：一つないしは二つの盤状の胎盤が形成され、へその緒が胎児と連結する。

(epitheliochorial placenta) の四種に分類される³⁾。血絨毛性胎盤の胚トロホプラスト細胞はもっとも浸潤性が高く、胎児の細胞は子宮内膜に深く入り込み子宮内膜は脱落膜を形成する。そのため、胎盤形成には複雑で正確な制御機構が必要とされるが、胎児側の絨毛上皮が母体血液に直に接するため、物質交換の効率が良く、母親の持つIgG抗体の胎児への移行も行われる。一方、浸潤性の最も低い上皮絨毛性胎盤では、胎児側胎盤の最前線である絨毛上皮は母体の子宮内膜上皮と接するのみであり、ガスおよび栄養交換などは多数の細胞層を経由する必要があるため、それらの効率は良くないとされてきた。ところが、これらの細胞群は物質などの輸送系のシステムが発達し、結果として物質交換の効率を高めているが、血絨毛性胎盤に見られるIgGの移行はない。この浸潤性が低いために胎児が母体の免疫反応による攻撃を受ける危険性は低く、分娩時の母体・子宮へのストレスも少ない。

かつて、胎盤は浸潤性の低いものから高いものへと進化したという考え方もあった。しかし、これらの分類は哺乳類の進化系統樹とは一致していないものが多い。たとえば、ハイエナは同じ食肉類であるイヌやネコとは異なり血絨毛

性胎盤を持っている⁴⁾(表)。また、大動物の多くが叢毛性胎盤、散在性胎盤や帯状胎盤を持つことから、胎盤の目的は効率的な物質交換だけではなく、子宮内での胎児の支持・固定もまた胎盤にとって重要な機能であることがうかがえる。このように胎盤は、それぞれの種において基本的な機能を同じにしながらも多様な構造をとるように進化してきたことから、平行・収斂進化 (convergent evolution) をしてきたのではないかと考えられている。

2. 融合 (syncytiotrophoblast) 細胞からの比較

系統の異なる哺乳動物種が胎盤の形態を独立に進化させる平行・収斂進化は胚トロホプラスト細胞の融合 (syncytiotrophoblast cells) からも見ることができる。Syncytiotrophoblast cells は胎児胎盤側の最も外側に位置し、トロホプラスト細胞同士が融合し多核化することによって形成される。この細胞群の機能として、母体血液との物質交換、胎盤性ラクタゲン (placental lactogen) や絨毛性ゴナドトロピン (chorionic gonadotropin) の分泌が知られており、免疫寛容にも関わっている^{5,6)}。

血絨毛性胎盤は syncytiotrophoblast の構造によって三

表

		上皮絨毛性			結合絨毛性	内皮絨毛性		血絨毛性			
絨毛性	単核	単核/二核	多核								
	ブタ、クジラ、イルカ	ウマ	ガラゴ								
散在性				単核/二核/多核							
				ウシ、ヒツジ							
帯状	トウブモグラ				単核	多核	単核	多核			
					ゾウ、カンガルー、ネズミ	イヌ、ネコ、アザラシ	ハイラックス	ハイエナ			
盤状	双					多核		多核			
						ツパイ		アカゲザル、ニホンサル			
	単					ホシバナモグラ		一層 単核	一層 多核	二層 単核-多核	三層 単核-多核-多核
								テンレック、トビネズミ	モルモット、ヒト(霊長類)	ビーバー、ウサギ、ヒナコウモリ	マウス、ラット、ハムスター

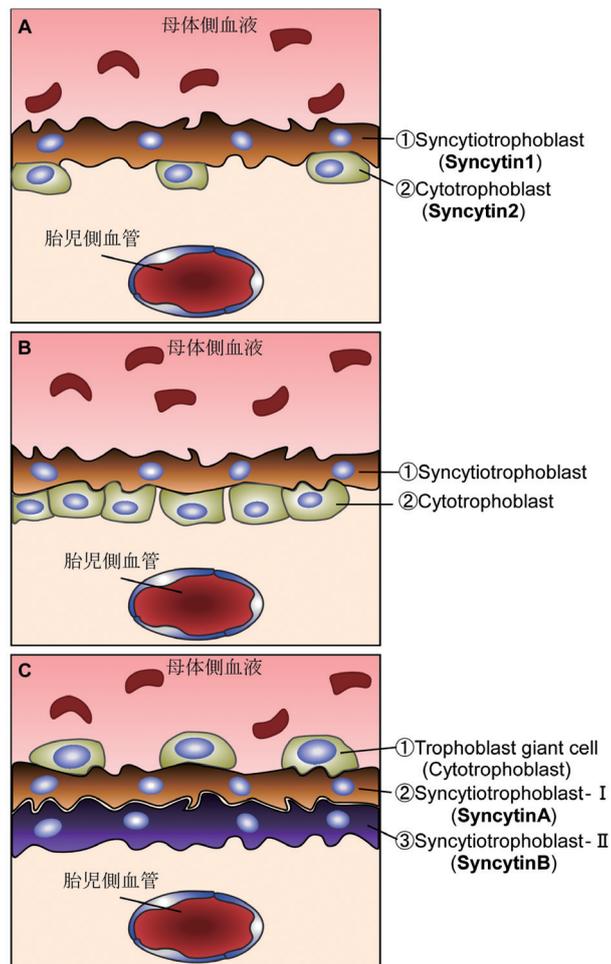


図2 血絨毛性胎盤の syncytiotrophoblast 細胞の比較

血絨毛性胎盤では、絨毛上皮の syncytiotrophoblast layer の構成の違いにより三種類に大別される。A) monochorial：一層の syncytiotrophoblast からなる。B) dichorial：一層の cytotrophoblast と一層の syncytiotrophoblast からなる。C) trichorial：一層の cytotrophoblast と二層の syncytiotrophoblast からなる

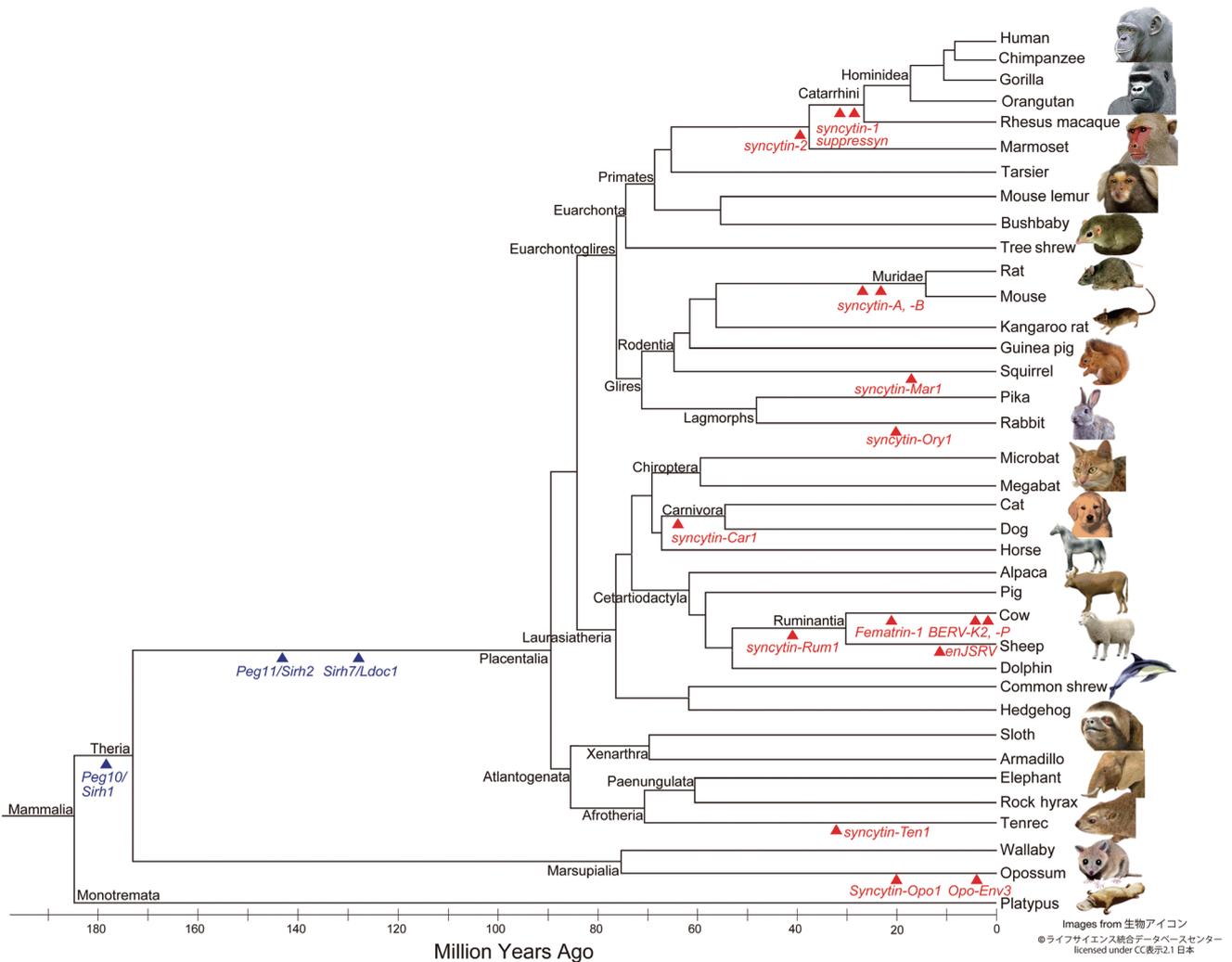


図3 内在性レトロウイルス由来の胎盤で機能する遺伝子の獲得と哺乳類の系統関係

この哺乳類の系統関係は dos Reis et al. 2012⁵²⁾ による。それぞれ内在化したと推定されるおおよその位置に矢印を置いた。LTR レトロトランスポゾン由来の遺伝子の挿入は青色，その他内在性レトロウイルス由来の挿入は赤色で表記した。

種類に分類される(図2)。マウス、ラットやハムスターなど、齧歯類のうちでもネズミ科やキヌゲネズミ科に属する種では三層のトロホプラスト細胞層をもつ trichorial placenta に分類される。母体側に最も近い第一層は、単核のトロホプラスト細胞(細胞性栄養膜細胞, cytotrophoblast cells)からなり、第二層や第三層は syncytiotrophoblast cells によって構成されている。ビーバー、ウサギやコウモリなどは二層構造を持つため dichorial placenta に分類され、第一層は syncytiotrophoblast cells で、第二層は cytotrophoblast cells によって構成されている⁷⁾。一方、ヒトの胎盤は齧歯類とは異なり迷路構造を取らないなどの特徴を持つが、一層の syncytiotrophoblast によって被われているため monochorial placenta に分類される(図2, 表)。

イヌやネコの食肉類の内皮絨毛性胎盤の絨毛上皮は、第一層の cytotrophoblast cells と第二層の syncytiotropho-

blast cells の二層からなる⁸⁾。ウシやヒツジなどの結合絨毛性胎盤をもつ反芻類では、syncytiotrophoblast cells は形成されないが、トロホプラスト細胞が細胞融合または核内倍加(endoreduplication)によって生じた二核細胞(binucleate cells, BNCs)やBNCが子宮上皮と融合した三核細胞、および三核細胞がさらにBNCsと融合して生じた多核細胞が子宮内膜に存在する⁹⁾(表)。これらの細胞が syncytiotrophoblast cells と同等の機能を担っていると考えられている。通常、トロホプラスト細胞の融合はトロホプラスト細胞同士に限られている。ところが、哺乳類の中でも反芻類だけはトロホプラスト細胞と母親の子宮上皮細胞が融合する。一方、ブタ等の上皮絨毛性胎盤では syncytiotrophoblast の形成は確認されていない。

以上のように、胎盤の絨毛上皮の細胞構成は種によって様々な違いが見られる。ところが、動物種によっては妊娠

期間にトロホプラスト細胞や胎盤の形状に変化する種も存在する。たとえばヒトは monochorial placenta に分類されているが、妊娠の初期から中期にかけて syncytiotrophoblast layer の下層に未分化の trophoblast stem cells が層状に分布する二層構造を呈する。ナマケモノは妊娠初期に散在性胎盤をもつが、その後に盤状胎盤に変化する³⁾。さらに、ブタと同じ上皮絨毛性胎盤をもつウマでは二核、ガラゴでは多核細胞が確認されている¹⁰⁾ (表)。一方、イヌやネコなどが分類される内皮絨毛性胎盤を持つゾウやカンガルーラット、血絨毛性胎盤をもつハイラックス、テンレックやトビネズミなどでは syncytiotrophoblast は形成されない。これらのことから、種の系統分類、胎盤の形態や syncytiotrophoblast の有無や構成は無関係のようにも見える (表)。

3. トロホプラスト細胞の多核化の意義

トロホプラスト細胞は胎児側細胞の最前線として子宮内膜への浸潤性を持ち合わせている必要がある。しかし子宮内膜への過度な侵襲は子宮にストレスを与え、母体の免疫反応や分娩時の出血などを引き起こす危険性がある。トロホプラスト細胞の子宮内膜への浸潤性を制御するメカニズムの一つとして、細胞周期の停止による増殖能の抑制があげられる。細胞分裂が阻害された細胞は、核内倍加により多核細胞や齧歯類に特有の巨核細胞となり、細胞数は増加しなくなる。ヒトやマウスなどの syncytiotrophoblast cells では細胞質分裂の阻害ではなく細胞融合によって形成されるが、この時、細胞質分裂の阻害と同様に細胞周期が停止し、細胞分裂をしなくなると考えられている¹¹⁾。

トロホプラスト細胞の多核化以外にも浸潤性を制御するメカニズムが存在する。ここでトロホプラスト細胞の多核化がそれぞれの種によって独自に獲得されたという前提に立てば、多核化を行わない動物種では別のメカニズムが独自に獲得されたと考えることができる。さらに哺乳動物が異なる形態の胎盤を獲得したことや、多くの種で胎盤を構成するトロホプラスト細胞の多核化を選んだのか、その明快な理論は未だに提示されていない。そこで、次章では胎盤の獲得や細胞融合により多核化を引き起こす遺伝子に注目しながら、この二点について考察したい。

II. 内在性レトロウイルスと胎盤の獲得

ヒトのゲノムは約 30 億塩基対からなるが、その半分以上の領域はトランスポゾン (転移因子)、もしくはそれに由来した配列である。トランスポゾンはゲノムの中を転移していくことのできる DNA 配列のことで、DNA そのものが位置を変えることができる DNA 型トランスポゾンと、一度 RNA に転写された後に逆転写によって複製された DNA 断片がゲノム中に挿入されるレトロトランスポゾンの二つに大別される。レトロトランスポゾンは逆転写酵素

(reverse transcriptase, RT) をコードするものと、しないものに分類され、RT をコードするものの中でも端末くり返し配列 (long terminal repeat, LTR) を持つ転移因子は LTR レトロトランスポゾンと呼ばれる。LTR 型レトロトランスポゾンの中でもレトロウイルスに起源を持つものは内在性レトロウイルス (endogenous retrovirus, ERV) と呼ばれる。LTR 型レトロトランスポゾンは RT 以外にも *gag* や *integrase* などの遺伝子をコードしているが、内在性レトロウイルスは膜タンパク質 (エンベロープ *env*) もコードしている。LTR 型レトロトランスポゾンの遺伝子は、その性質がレトロウイルスと非常に近いために、本稿では LTR 型レトロトランスポゾンも広義に捉えて、内在性レトロウイルスと表記することにする。生物の進化において、レトロウイルスの内在化がどの段階で始まったのかは定かではない。脊椎動物以外の生物種においても、ショウジョウバエやシロイヌナズナがレトロウイルス様の LTR 型レトロトランスポゾンを有することから¹²⁾、真核生物で広範囲にわたってレトロウイルスの内在化あるいは内在化に近い現象が起きていることは否定できない。

漿尿膜胎盤は有胎盤哺乳類を特徴づける器官であり、今から 1 億 5000 万年以上に獲得したといわれている。胎盤の獲得において、まず *Peg10* (paternally expressed gene 10; *Sirh1*) や *Peg11/Sirh2* (*Rtl1*) といわれる sushi-ichi レトロトランスポゾンに由来する遺伝子を考えなければならない (図 3)。有袋類と真獣類のゲノム上において、父親性発現の *Peg10/Sirh1* はまったく同じ位置に存在し、そのアミノ酸配列も保存されているだけではなく、その周辺遺伝子も保存されていることから、共通祖先での挿入によって生み出された遺伝子だと考えられる^{13,14)}。 *Peg10/Sirh1* 遺伝子がノックアウトされたマウスは胎盤形成ができず、胎仔と母体の間に存在する胎盤の栄養・ガス交換に必要な迷路層 (ラビリンス) と、それを支える構造である海綿状栄養膜細胞層 (スポンジオトロホプラスト) が形成されず、初期胚致死となる¹⁵⁾。 *Peg10/Sirh1* 遺伝子ノックアウトと正常卵のキメラマウスを作製して正常な胎盤を形成できるようにすると、 *Peg10/Sirh1* 遺伝子ノックアウトマウスの仔は小さいながらも生まれ、正常に成熟して仔を産んだ¹⁵⁾。

Peg10/Sirh1 と同様に父親性発現の *Peg11/Sirh2* 遺伝子は、真獣類のみに保存されており、有袋類では遺伝子として使われずレトロトランスポゾンの残骸となっている¹⁶⁾。 *Peg11/Sirh2* 遺伝子のノックアウトでは、胎盤の迷路層において母体血液と胎児血液とのあいだで栄養交換・ガス交換を行う場である胎仔毛細血管に目詰まりが生じ、血液の一部が止まるため、胎仔期後期致死と新生仔致死が半々に見られる¹⁷⁾。 *Sirh7/Ldoc* も sushi-ichi レトロトランスポゾンに由来する遺伝子で、この遺伝子のノックアウトマウ

スではトロホプラスト細胞の分化や成熟に異常が見られ、トロホプラスト巨核細胞からのプロジェステロンや胎盤性ラクトゲンなどの産生が異常に亢進する¹⁸⁾ (図3)。この遺伝子の内在化も後述する Syncytin 様レトロウイルスよりもはるか以前に起きている^{14,16,18)}。

Peg10/Sirh1 は有袋類・真獣類に *Peg11/Sirh2* は真獣類のみに入っていることと、*Peg10/Sirh1* 遺伝子は胎盤形成初期のトロホプラスト細胞の成長、*Peg11/Sirh2* 遺伝子は胎仔期後期の胎仔毛細血管の内皮細胞の維持に関わっていることから、真獣類の *Peg10/Sirh1* と *Peg11/Sirh2* 遺伝子の内在化とその遺伝子の機能の発現によって胎生を確立したと考えることができる。しかしながら、この2つの遺伝子だけでは胎盤形態などの多様性は説明できない。そこで次章では、多くの動物種が母親の血液や組織に接する胎仔胎盤の一番外側の部分(絨毛上皮)を融合細胞で被うことを選んだのか、細胞融合を引き起こす遺伝子に注目しながら考察していく。

III. 内在レトロウイルス、融合細胞と胎盤の多様性の獲得

1. Syncytin-1,2

Syncytin-1 は HERV-W ファミリーに属する *env* 由来のタンパク質である。一般的なレトロウイルスの *env* と同様に、タンパク質分解酵素 furin によって surface (SU) subunit と transmembrane (TM) subunit に分解される。2000年、ヒト胎盤の絨毛上皮を構成する syncytiotrophoblast で発現し、細胞融合能をもつことが示された¹⁹⁾。この融合に関しては TM subunit の2つのリピート配列、HRA と HRB の相互作用が重要である²⁰⁾。また、*Syncytin-2* は HERV-FRD ファミリーに属する *env* 由来するタンパク質であり、*Syncytin-1* とは起源も挿入された時期も異なるが同じアミノ酸長で、様々な細胞での強制発現により細胞融合をもつことが確認されている²¹⁾。また、*Syncytin-1,2* 遺伝子発現には転写因子 GCM1 (glial cell missing factor homolog 1) が関与している²²⁾。さらに、GCM1 の制御機構として、がん細胞の浸潤性、受精における精子・卵子の融合や筋形成時の筋原細胞の融合に関与する細胞膜タンパク質の CD9 が関わっていることも明らかにされた²³⁾。

Syncytin-1 mRNA は syncytiotrophoblast で発現し、その発現は妊娠期間を通じて一定に保たれている。また、*Syncytin-2* mRNA は cytotrophoblast のみに存在し、その発現は妊娠後期に向かって徐々に減少する²⁴⁾。*Syncytin-1* の受容体は ASCT2 (ASC amino-acid transporter 2) であり、syncytiotrophoblast だけではなく cytotrophoblast 細胞膜表面にも分布している²⁵⁾。*Syncytin-2* の受容体は MFSD2 (Major Facilitator Superfamily Domain Containing 2) である²⁶⁾。この遺伝子も GCM1 の制御下にあり、cytotro-

phoblast のみに発現している²⁷⁾。さらに、*Syncytin-1* の組み換えタンパク質は免疫抑制能を持たないが *Syncytin-2* のそれは免疫抑制能を持つことが示されている²⁸⁾。このことから、この2つの *env* 遺伝子が生体内で異なる機能を担っていることが推察される。

動物種間を比較すると、*Syncytin-2* 遺伝子は広鼻猿類からヒトに至るまで配列が高度に保存されており(>87.9%)、これまで解析されたすべてが融合能を示すことから、少なくとも4000万年以上に獲得され、今日に至るまでその機能が維持されてきた²⁰⁾。一方、霊長類が *Syncytin-1* を獲得したのは狭鼻猿類と広鼻猿類が分岐した4000万年以降であると考えられる(図3)。また、狭鼻猿類の中でも旧世界ザルに分類されるグループでは停止コドンやフレームシフト変異による不活性化が見られることから、*Syncytin-1* の機能の獲得は類人猿と旧世界ザルが分岐した2500万年以前であると考えられる。一方で、旧世界ザルが *Syncytin-1* を利用しない方向に進化していったのか、類人猿が不活性化した ERV を利用する方向に進化していったのか定かではない。仮説として、まず真猿類が *Syncytin-2* を獲得し、免疫抑制と cytotrophoblast 細胞同士の融合による初期の syncytiotrophoblast の形成に働くようになった。次に、狭鼻猿類が *Syncytin-1* を獲得し、類人猿では syncytiotrophoblast と cytotrophoblast の融合に働くようになった。ヒトでは着床期である妊娠7~11日の間に cytotrophoblast 同士の融合が起こり、その後は妊娠満期まで syncytiotrophoblast と cytotrophoblast の融合が続く²⁹⁾。この時 syncytiotrophoblast は増殖能を有しておらず、cytotrophoblast と融合し続けることで細胞活性を維持し続けている。このことは長期の胎盤機能の維持には *Syncytin-1* の機能が重要であることを示唆している。実際、*Syncytin-1* を持たない広鼻猿類や旧世界ザルの胎児が大型化していない点も、この考えを支持している。

胚トロホプラスト細胞の融合は胎盤の形成になくてはならない現象であるが、通常の生体内では骨格筋や骨髄細胞に限られている。前述したように、胎盤では *Syncytin-1,2* などが働きトロホプラスト細胞の融合が行われているが、これに拮抗する *suppressyn* と呼ばれる遺伝子が発見された³⁰⁾。これは *HERV-fb1* に由来する内在性レトロウイルス遺伝子で、狭鼻猿類の共通祖先のゲノムに挿入され、その発現は胎盤細胞のみである。*Suppressyn* は *Syncytin-1* 受容体 (ASCT2) に結合し、*Syncytin-1* と拮抗する。このことより、胚トロホプラスト細胞での細胞融合を考える時には *Syncytin-1,2* 遺伝子と *suppressyn* 遺伝子両者の発現動態を検証しなければならない。

2. Syncytin-A, Syncytin-B

マウスのゲノムの解析により、2004年、マウス内在性レトロウイルスの *env* 由来タンパク質のうち2つが融合能を持つことが示され、Syncytin-A, -Bと名付けられた³¹⁾。Syncytin-Aは絨毛の三層構造の二層目である syncytiotrophoblast layer-Iで発現し、*Syncytin-B* mRNAは三層目 syncytiotrophoblast layer-IIに発現が確認された³²⁾ (図2)。Syncytin-Aノックアウトマウスは、syncytiotrophoblast layer-Iを形成できず、胎児は妊娠11.5日から13.5日の間に死亡する³¹⁾。ヒト *Syncytin-1, 2*と同様に、転写因子 GCM1が *Syncytin-A*の転写を制御していることが明らかにされた³³⁾。これはGCM1ノックアウトマウスが胎盤の迷路部を形成できないという実験データとも符合する³⁴⁾。Syncytin-Aは様々な細胞で融合能が見られたが、Syncytin-BはイヌのMDCK細胞のみに融合能が見られた²⁸⁾。

齧歯類における *Syncytin-A, -B*の獲得は共に約2000万年前と考えられている (図3)。その根拠として、齧歯類のうち Syncytin-A, -Bを持つものはネズミ上科 (マウス、ラット、スナネズミ、野ネズミ、ハムスター)のみであり、これらはtrichorial placentaを持つ。その他の齧歯類 (リス、ウッドチャックやモルモット)は Syncytin-A, -Bを持っておらず、これらの胎盤の絨毛上皮はmonochorial placentaを呈している³¹⁾。

3. Syncytin-Rum1, Fematrin-1

有胎盤哺乳類の胚トロホプラスト細胞の融合はトロホプラスト細胞同士に限られている。ところが、反芻類だけは胚トロホプラスト細胞と母親の子宮上皮細胞での融合が起こる。ウシでは、胚トロホプラスト2核細胞が子宮上皮細胞と融合し、3核や多核細胞となって子宮内膜に存在する。一方、ヒツジやヤギでは、同様の細胞融合の結果、多核細胞 (syncytial plaque) となって子宮内膜に現れる。

近年、ウシにおいても数々の内在性レトロウイルスの配列とその転写産物が見つかってきた。それらは *BERV-K1, -K2*³⁵⁾, *bERVE-A*³⁶⁾, *BERV-P*³⁷⁾ や *Syncytin-Rum1*³⁸⁾ である (図3)。ここでは細胞融合能をもつ *BERV-K1* と *Syncytin-Rum1* の2つの遺伝子についての解説にとどめたい。*Syncytin-Rum1*はウシやヒツジに存在するが、*BERV-K1*の *env*はウシ上科のみに存在する。機能配列領域の強制発現では、どちらも細胞融合能を持つが、ウシ細胞での生理的な条件下では *BERV-K1 env*のみが細胞融合能を発揮する。そのため *BERV-K1 env*は *Fematrin-1* (*Fetomaternal trinucleate cell inducer 1*)と名付けられた³⁹⁾。*Syncytin-Rum1*は約3000万年前に、*Fematrin-1*は約2000万年前に内在化したと考えられている⁴⁰⁾。

4. 様々な哺乳動物種での Syncytin 様遺伝子の発見

以上に加えて、様々な動物種で Syncytin 様の配列が近年発見された。それらはウサギ *Syncytin-Ory*⁴¹⁾、イヌ・ネコ *Syncytin-Car1*⁴²⁾、ジリス *Syncytin-Mar1*⁴³⁾、テンレック *Syncytin-Ten1*⁴⁴⁾ やオポッサム *Syncytin-Opo1*⁴⁵⁾ であり、これらも異なったレトロウイルスが、異なった動物種のゲノムに独立に挿入されている事実を示している (図3)。

5. ERVsの転写制御機構・既存遺伝子の転写制御・バトンパスなど

Peg10/Sirh1 など「哺乳類共通」の遺伝子によって獲得された胎盤は、その基本的な機能を保ちつつ、更なる適応を求めていくつかの機能が「種特異的」な ERVs によって置き換えられていき、結果として胎盤の多様性が生まれたと考えることはできないだろうか。

ヒトの *Syncytin-1, 2* では共に GCM1 が転写因子として働いており、その上流には CD9 が関与している。同様に、マウス *Syncytin-A* でも GCM1 が転写因子として存在し、CD9 との関わりも示唆されている。また、ウシでは先に *Syncytin-Rum1* が内在化し、約1000万年後に *Fematrin-1* が内在化した。これは *Syncytin-2* と後の *Syncytin-1* の内在化に似ている。異なる種の異なる遺伝子が類似した機能、発現制御機構と発現動態を示す場合、かつてはそこに種の隔たりを越えた「共通の遺伝子」が存在していた可能性を考える必要があるだろう。それは *Peg10/Peg11* かもしれないし、精子-卵子の融合に関わる卵子側 CD9 と精子側の *ADAM1, 2* (a disintegrin and metalloproteinase domain 1, 2; fetilin α, β) や *ADAM1, 2* の受容体である *ITGA6, B1* (integrin $\alpha 6, \beta 1$) とも考えられる^{46, 47, 48)}。これらの遺伝子、とくに *ADAM1, 2* や *ITGA6, B1* は現在知られている内在性レトロウイルスより遙か以前から生命体を持っていた遺伝子群である。これとは別に、まだ明らかにされていない遺伝子、あるいはすでに消失してしまった遺伝子である可能性も否定できない。それぞれの動物種において新たに獲得された遺伝子は、同じシグナル経路を使い、類似した機能を発揮しているという事実をベースに、著者らは以前「バトンパス」仮説を提唱した^{49, 50)}。そこでは ERVs は、既存の遺伝子が働いていた経路に入り込み、生体にとってより有利な機能を示すことでごく初期の ERVs を含む既存の機能遺伝子が担っていた機能を引き継いでいったと考えた。この引継ぎでは最小限の変更で「機能を譲渡」するために、短期間での進化と多様性を可能にしたと考えることもできる。

この ERVs の「バトンパス」仮説は、胎盤の発生以外にも、interferon gamma (IFNG) で誘導される遺伝子群の調節でも当てはまる可能性が出てきた⁵¹⁾。内在性レトロ

ウイルス *MER41* は約 4500 ~ 6000 万年前に真猿類の祖先のゲノムに入り込んだガンマレトロウイルスに由来して、ヒトゲノムでは 6 種類 (MER41A, B, C, D, E and G) 存在する⁵¹⁾。この MER41 の LTR 領域には IFNG が結合する GAS モチーフ配列を持ち、実際にこの因子が挿入された周辺遺伝子の IFNG の刺激で発現が誘導されていることが分かった。MER41 領域を CRISPER-Cas9 で削除するとその発現が有意に減少したことから、MER41 が IFNG 誘導因子の発現に関わっていると考えられる。加えて、MER41 とは起源が異なるが、似た機能を持つ ERVs が原猿類、コウモリ、イヌ・ネコ、反芻類の祖先で内在化したため、IFNG に誘導されて発現する遺伝子は種ごとに大きく異なっている。これはまさに胎盤の発生と同様に、種ごとに異なる ERV 由来の配列が宿主内で同じシグナル経路を使い、類似した機能を発揮する「バトンパス」の一例であると考えられる。

IV. まとめ

動物が胎生になるときは、胎盤の獲得が必要だったはずである。しかしながら、胎盤という組織の構築と共に必須だったものは母親の免疫からの防御であったはずである。内在性レトロウイルスが胎盤の獲得や構造の多様性だけではなく、自然免疫の進化にも関わっていた事実は、動物種としての成立、維持や進化とともに歩んできたことを意味している。哺乳動物種の半分以上にもおよぶ内在性レトロウイルスを含むトランスポゾン、この他にも多様な機能を持っていることが推察できる。そしてそれは、次世代のための胎盤だけではなく、様々な生命機能にも関わっているはずである。この一連の研究は既存の遺伝子群では説明できなかったダイナミックな生命進化を説明する新しいステップになるはずである。

本稿に関連し、開示すべき利益相反状態にある企業などはありません。

引用文献

- 1) Hamlett WC, Wourms JP, Hudson JS.: Ultrastructure of the full-term shark yolk sac placenta. I. Morphology and cellular transport at the fetal attachment site. *J Ultrastruct Res.* 91:192-206, 1985.
- 2) Welsh AO, Enders AC.: Trophoblast-decidual cell interactions and establishment of maternal blood circulation in the parietal yolk sac placenta of the rat. *Anat. Rec.* 217: 203-219, 1987.
- 3) Carter AM, Enders AC.: Comparative aspects of trophoblast development and placentation. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2:46, 2004.
- 4) Enders AC, Blankenship TN, Conley AJ, Jones CJ.: Structure of the midterm placenta of the spotted hyena, *Crocuta crocuta*, with emphasis on the diverse hemophagous regions. *Cells Tissues Organs.* 183:141-155, 2006.
- 5) Bischof P, Irminger-Finger I.: The human cytotrophoblastic cell, a mononuclear chameleon. *Int J Biochem Cell Biol.* 37:1-16, 2005.
- 6) Moffett A, Loke C.: Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nat Rev Immunol.* 6:584-594, 2006.
- 7) Bhiwgade DA, Singh AB, Manekar AP, Menon SN.: Ultrastructural development of chorioallantoic placenta in the Indian *Miniopterus* bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus* (Hodgson). *Acta Anat (Basel).* 145:248-264, 1992.
- 8) Pfarrer C, Winther H, Leiser R, Dantzer V.: The development of the endotheliochorial mink placenta: light microscopy and scanning electron microscopical morphometry of maternal vascular casts. *Anat Embryol (Berl).* 199:63-74, 1999.
- 9) Wooding FB.: Role of binucleate cells in fetomaternal cell fusion at implantation in the sheep. *Am J Anat.* 170:233-250, 1984.
- 10) Butler H.: An early blastocyst of the lesser bush baby (*Galago senegalensis senegalensis*); a preliminary account. *J Anat.* 93: 257-261, 1059.
- 11) Huppertz B, Kaufmann P, Kingdom J.: Trophoblast turnover in health and disease. *Fetal. Matern. Med. Rev.* 13: 103-118, 2002.
- 12) Song SU, Gerasimova T, Kurkulos M, Boeke JD, Corces VG.: An env-like protein encoded by a *Drosophila* retroelement: evidence that gypsy is an infectious retrovirus. *Genes Dev.* 8:2046-2057, 1994.
- 13) Ono R, Kobayashi S, Wagatsuma H, Aisaka K, Kohda T, Kaneko-Ishino T, Ishino F.: A retrotransposon-derived gene, PEG10, is a novel imprinted gene located on human chromosome 7q21. *Genomics* 73:232-237, 2001.
- 14) Suzuki S, Ono R, Narita T, Pask AJ, Shaw G, Wang C, Kohda T, Alsop AE, Marshall Graves JA, Kohara Y, Ishino F, Renfree MB, Kaneko-Ishino T.: Retrotransposon silencing by DNA methylation can drive mammalian genomic imprinting. *PLoS Genet.* 3:e55, 2007.
- 15) Ono R, Nakamura K, Inoue K, Naruse M, Usami T, Wakisaka-Saito N, Hino T, Suzuki-Migishima R, Ogonuki N, Miki H, Kohda T, Ogura A, Yokoyama M, Kaneko-Ishino T, Ishino F.: Deletion of Peg10, an imprinted gene acquired from a retrotransposon, causes early embryonic lethality. *Nat Genet.* 38:101-106, 2006.
- 16) Edwards CA, Mungall AJ, Matthews L, Ryder E, Gray DJ, Pask AJ, Shaw G, Graves JA, Rogers J; SAVOIR consortium, Dunham I, Renfree MB, Ferguson-Smith AC.: The evolution of the DLK1-DIO3 imprinted domain in mammals. *PLoS Biol.* 6:e135, 2008.
- 17) Sekita Y, Wagatsuma H, Nakamura K, Ono R, Kagami M, Wakisaka N, Hino T, Suzuki-Migishima R, Kohda T, Ogura A, Ogata T, Yokoyama M, Kaneko-Ishino T, Ishino F.: Role of retrotransposon-derived imprinted gene, *Rtl1*, in the feto-maternal interface of mouse placenta. *Nat Genet.* 40:243-248, 2008.

- 18) Naruse M, Ono R, Irie M, Nakamura K, Furuse T, Hino T, Oda K, Kashimura M, Yamada I, Wakana S, Yokoyama M, Ishino F, Kaneko-Ishino T.: Sirh7/Ldoc1 knockout mice exhibit placental P4 overproduction and delayed parturition. *Development* 141:4763-4771, 2014.
- 19) Mi S, Lee X, Li X, Veldman GM, Finnerty H, Racie L, LaVallie E, Tang XY, Edouard P, Howes S, Keith JC Jr, McCoy JM.: Syncytin is a captive envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature* 403:785-789, 2000.
- 20) Chang C, Chen PT, Chang GD, Huang CJ, Chen H.: Functional characterization of the placental fusogenic membrane protein syncytin. *Biol Reprod.* 71: 1956-1962, 2004.
- 21) Blaise S, de Parseval N, Bénit L, Heidmann T.: Genomewide screening for fusogenic human endogenous retrovirus envelopes identifies syncytin 2, a gene conserved on primate evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100: 13013-13018, 2003.
- 22) Yu C, Shen K, Lin M, Chen P, Lin C, Chang GD, Chen H.: GCMa regulates the syncytin-mediated trophoblastic fusion. *J Biol Chem.* 277:50062-50068, 2002.
- 23) Muroi Y, Sakurai T, Hanashi A, Kubota K, Nagaoka K, Imakawa K.: CD9 regulates transcription factor GCM1 and ERVWE1 expression through the cAMP/protein kinase A signaling pathway. *Reproduction* 138:945-951, 2009.
- 24) Kudaka W, Oda T, Jinno Y, Yoshimi N, Aoki Y.: Cellular localization of placenta-specific human endogenous retrovirus (HERV) transcripts and their possible implication in pregnancy-induced hypertension. *Placenta* 29:282-289, 2008.
- 25) Blond JL, Lavillette D, Cheynet V, Bouton O, Oriol G, Chapel-Fernandes S, Mandrand B, Mallet F, Cosset FL.: An envelope glycoprotein of the human endogenous retrovirus HERV-W is expressed in the human placenta and fuses cells expressing the type D mammalian retrovirus receptor. *J Virol.* 74: 3321-3329, 2000.
- 26) Esnault C, Priet S, Ribet D, Vernochet C, Bruls T, Lavialle C, Weissenbach J, Heidmann T.: A placenta-specific receptor for the fusogenic, endogenous retrovirus-derived, human syncytin-2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105: 17532-17537, 2008.
- 27) Liang CY, Wang LJ, Chen CP, Chen LF, Chen YH, Chen H.: GCM1 regulation of the expression of syncytin 2 and its cognate receptor MFSD2A in human placenta. *Biol Reprod.* 83:387-395, 2010.
- 28) Mangeny M, Renard M, Schlecht-Louf G, Bouallaga I, Heidmann O, Letzelter C, Richaud A, Ducos B, Heidmann T.: Placental syncytins: Genetic disjunction between the fusogenic and immunosuppressive activity of retroviral envelope proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104:20534-20539, 2007.
- 29) Pötgens AJ, Schmitz U, Bose P, Versmold A, Kaufmann P, Frank HG.: Mechanisms of syncytial fusion: a review. *Placenta* 23 Suppl A:S107-113, 2002.
- 30) Sugimoto J, Sugimoto M, Bernstein H, Jinno Y, Schust D.: A novel human endogenous retroviral protein inhibits cell-cell fusion. *Sci Rep.* 3:1462, 2013.
- 31) Dupressoir A, Marceau G, Vernochet C, Bénit L, Kanellopoulos C, Sapin V, Heidmann T.: Syncytin-A and syncytin-B, two fusogenic placenta-specific murine envelope genes of retroviral origin conserved in Muridae. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102:725-730, 2005.
- 32) Rawn SM, Cross JC.: The evolution, regulation, and function of placenta-specific genes. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 24:159-181, 2008.
- 33) Schubert SW, Lamoureux N, Kilian K, Klein-Hitpass L, Hashemolhosseini S.: Identification of integrin-alpha4, Rb1, and syncytin a as murine placental target genes of the transcription factor GCMa/Gcm1. *J Biol Chem.* 283:5460-5465, 2008.
- 34) Schreiber J, Riethmacher-Sonnenberg E, Riethmacher D, Tuerk EE, Enderich J, Bösl MR, Wegner M.: Placental failure in mice lacking the mammalian homolog of glial cells missing, GCMa. *Mol Cell Biol.* 20:2466-2474, 2000.
- 35) Baba K, Nakaya Y, Shojima T, Muroi Y, Kizaki K, Hashizume K, Imakawa K, Miyazawa T.: Identification of novel endogenous betaretroviruses which are transcribed in the bovine placenta. *J Virol.* 85: 1237-1245, 2011.
- 36) Koshi K, Ushizawa K, Kizaki K, Takahashi T, Hashizume K.: Expression of endogenous retrovirus-like transcripts in bovine trophoblastic cells. *Placenta* 32:493-499, 2011.
- 37) Nakagawa S, Bai H, Sakurai T, Nakaya Y, Konno T, Miyazawa T, Gojobori T, Imakawa K.: Dynamic evolution of endogenous retrovirus-derived genes expressed in bovine conceptuses during the period of placentation. *Genome Biol Evol.* 5: 296-306, 2013.
- 38) Cornelis G, Heidmann O, Degrelle SA, Vernochet C, Lavialle C, Letzelter C, Bernard-Stoeklin S, Hassanin A, Mulot B, Guillomot M, Hue I, Heidmann T, Dupressoir A.: Captured retroviral envelope syncytin gene associated with the unique placental structure of higher ruminants. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110:E828-837, 2013.
- 39) Nakaya Y, Koshi K, Nakagawa S, Hashizume K, Miyazawa T.: Fematrin-1 is involved in fetomaternal cell-to-cell fusion in Bovinae placenta and has contributed to diversity of ruminant placentation. *J Virol.* 87:10563-10572, 2013.
- 40) Carter AM.: Evolution of placental structure and function in ruminants. In: eds JL Juengel, A Miyamoto, C Price, LP Reynolds, MF Smith & R Webb), pp. 387-398, Leicestershire, UK: Context Products Ltd.
- 41) Heidmann O, Vernochet C, Dupressoir A, Heidmann T.: Identification of an endogenous retroviral envelope gene with fusogenic activity and placenta-specific expression in the rabbit: a new "syncytin" in a third order of mammals. *Retrovirology* 6:107, 2009.
- 42) Cornelis G, Heidmann O, Bernard-Stoeklin S, Reynaud K, Véron G, Mulot B, Dupressoir A, Heidmann T.: Ancestral capture of syncytin-Car1, a fusogenic

- endogenous retroviral envelope gene involved in placentation and conserved in Carnivora. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 109:E432-441, 2012.
- 43) Redelsperger F, Cornelis G, Vernochet C, Tennant BC, Catzeflis F, Mulot B, Heidmann O, Heidmann T, Dupressoir A.: Capture of syncytin-Mar1, a fusogenic endogenous retroviral envelope gene involved in placentation in the Rodentia squirrel-related clade. *J Virol.* 88:7915-7928, 2014.
- 44) Cornelis G, Vernochet C, Malicorne S, Souquere S, Tzika AC, Goodman SM, Catzeflis F, Robinson TJ, Milinkovitch MC, Pierron G, Heidmann O, Dupressoir A, Heidmann T.: Retroviral envelope syncytin capture in an ancestrally diverged mammalian clade for placentation in the primitive Afrotherian tenrecs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 111:E4332-E4341, 2014.
- 45) Cornelis G, Vernochet C, Carradec Q, Souquere S, Mulot B, Catzeflis F, Nilsson MA, Menzies BR, Renfree MB, Pierron G, Zeller U, Heidmann O, Dupressoir A, Heidmann T.: Retroviral envelope gene captures and syncytin exaptation for placentation in marsupials. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 112:E487-E496, 2015.
- 46) Blobel CP, Wolfsberg TG, Turck CW, Myles DG, Primakoff P, White JM.: A potential fusion peptide and an integrin ligand domain in a protein active in sperm-egg fusion. *Nature* 356:248-252, 1992.
- 47) Waters SI, White JM.: Biochemical and molecular characterization of bovine fertilin alpha and beta (ADAM 1 and ADAM 2): a candidate sperm-egg binding/fusion complex. *Biol Reprod.* 56:1245-1254, 1997.
- 48) Le Naour F, Rubinstein E, Jasmin C, Prenant M, Boucheix C.: Severely reduced female fertility in CD9-deficient mice. *Science* 287:319-321, 2000.
- 49) Nakamura Y, Imakawa K.: Retroviral endogenization and its role in the genital tract during mammalian evolution. *J Mamm. Ova Res.* 28: 203-218, 2011.
- 50) Imakawa K, Nakagawa S, Miyazawa T.: Baton pass hypothesis: successive incorporation of unconserved endogenous retroviral genes for placentation during mammalian evolution. *Genes Cells* 20:771-788, 2015.
- 51) Chuong EB, Elde NC, Feschotte C.: Regulatory evolution of innate immunity through co-option of endogenous retroviruses. *Science* 351:1083-1087, 2016.
- 52) dos Reis MJ, Inoue M, Hasegawa R, Asher PC, Donoghue, Yang Z.: Phylogenomic data sets provide both precision and accuracy in estimating the timescale of placental mammal evolution. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 279:3491-3500, 2012.

Placental Development and Endogenous Retroviruses

Kazuhiko IMAKAWA¹), So NAKAGAWA²), Kazuya KUSAMA¹)

1) Animal Resource Science Center, The University of Tokyo

2) Department of Molecular Life Science, Tokai University School of Medicine

A placenta as we know now is a relatively new invention in mammals. Data accumulated indicates that a major cell type of the placenta is trophoblast, in which elevated expression of genes derived from various endogenous retroviruses (ERVs) as well as LTR retrotransposons is seen. However, evolutionary significance of ERV expression in placental development has not been well characterized or sorted out. In this review, we describe diversity of placental structures among mammalian species, of which morphological and cells types are far more diverse than those expected from the lines of mammalian orders. We then describe paternally expressed gene 10 (*Peg10/Sirh1*) and *Peg11/Sirh2* as ERVs associated with ancient placenta development, followed by env-related genes such as *Syncytin-1, -2, -A, -B, -Rum1*, and *Fematin-1* responsible for trophoblast cells fusion, resulting in multinucleate syncytiotrophoblast formation. Because the endogenization of retroviral infections has occurred multiple times in different mammalian lineages, and some of them use similar molecules in their transcriptional activation, we speculate that ERV gene variants integrated into mammalian genomes in a locus specific manner have replaced the genes previously responsible for cell fusion. The role of cell fusion achieved by multiple successive ERV integrations is now called “baton pass” hypothesis, possibly resulting in increased trophoblast cell fusion, morphological diversity in placental structures, and survivability of fetuses and/or reproductive advantage in placental mammals.