

血液細胞の先祖が判明：それはアメーバ様単細胞生物だった

概要

京都大学医生物学研究所の長畑洋佑 特定研究員、河本宏 同教授らの研究グループは、血液細胞の進化的起源がアメーバ様単細胞生物であることを解明しました。

赤血球や血小板、好中球、マクロファージ（食細胞）、リンパ球など、体内には様々な血液の細胞が存在しますが、その進化的起源については不明な部分が多く、マクロファージはほぼ全ての動物にも存在することから、「マクロファージが起源であろう」と漠然と推測されてきただけでした。本研究では、マウスから単細胞生物にまで渡る広範な生物種の遺伝子発現状態を包括的に比較し、血液細胞の起源がマクロファージであること、その遺伝学的特徴が単細胞生物から保存されていることを突き止めました。（図1）。本研究の成果は、血液細胞の進化の理解を深めるとともに、異生物種間の遺伝子発現パターンの包括的な比較という新たな手法を開発し、生物進化の更なる解明に貢献すると考えられます。

本成果は、現地時間（米国東部）2022年12月15日0時（日本時間2022年12月15日14時）に国際学術誌「Blood」に掲載されました。

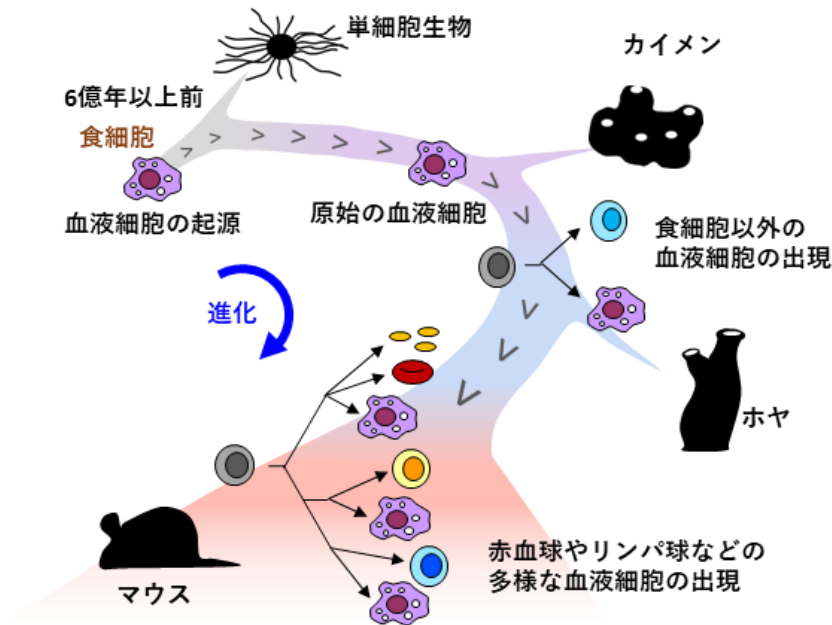


図1 今回の研究成果の概要

動物の血液細胞の起源は食細胞であり、その基本的な性質は、まだ単細胞生物であったころの祖先から6億年以上に渡って継承されてきた。その後、動物の進化とともに、食細胞を血液細胞の原型として、赤血球やリンパ球などの多様な血液細胞が出現した。

研究のポイント

- 血液細胞の起源は、マクロファージ様の食細胞であることを証明しました。
- 原始の血液細胞は、単細胞生物に類似していることを発見しました。
- ヒトなどの脊椎動物において、多様な血液細胞が進化したメカニズムを明らかにしました。
- 血液細胞の進化を巻き戻すと、白血病様の細胞に変化することを発見しました。

1. 背景

ヒトやマウス（ハツカネズミ）を含む脊椎動物^{※1}の体内には様々な種類の血液細胞が存在します。酸素を運搬する赤血球や、凝固により止血に働く血小板、細胞の死骸や病原体を貪食^{※2}して処理するマクロファージや好中球、抗体を産生するB細胞、ウイルスに感染した細胞や腫瘍細胞を排除するキラーT細胞、これらの免疫システムを活性化させるヘルパーT細胞などです。これらのうち、赤血球やB細胞、T細胞などは脊椎動物に固有の細胞であり、無脊椎動物^{※3}には存在しませんが、一方で、マクロファージは無脊椎動物にも広く存在することが知られています（臨床血液 2021;62:412-520）（図2）。血液細胞としてマクロファージしか有しない生物種も多いことから、マクロファージが血液細胞の起源であり、赤血球やT細胞はマクロファージを原型として進化してきたと推測されてきました。しかし、血液細胞の起源がマクロファージであるという遺伝学的な証拠は乏しく、異なる起源の細胞が収斂進化^{※4}を遂げて、各々にマクロファージ様の細胞になった可能性も残されていました。そこで、本研究では、様々な動物のマクロファージの起源が同一であるかどうか、言い換えれば、血液細胞の起源がマクロファージであるかどうかを、異なる生物種間において、マクロファージを含む様々な細胞の遺伝子発現状態^{※5}を比較することによって検証しました。さらに、マクロファージが血液細胞の起源であった場合、その起源を単細胞生物にまで遡れるかも探求しました。

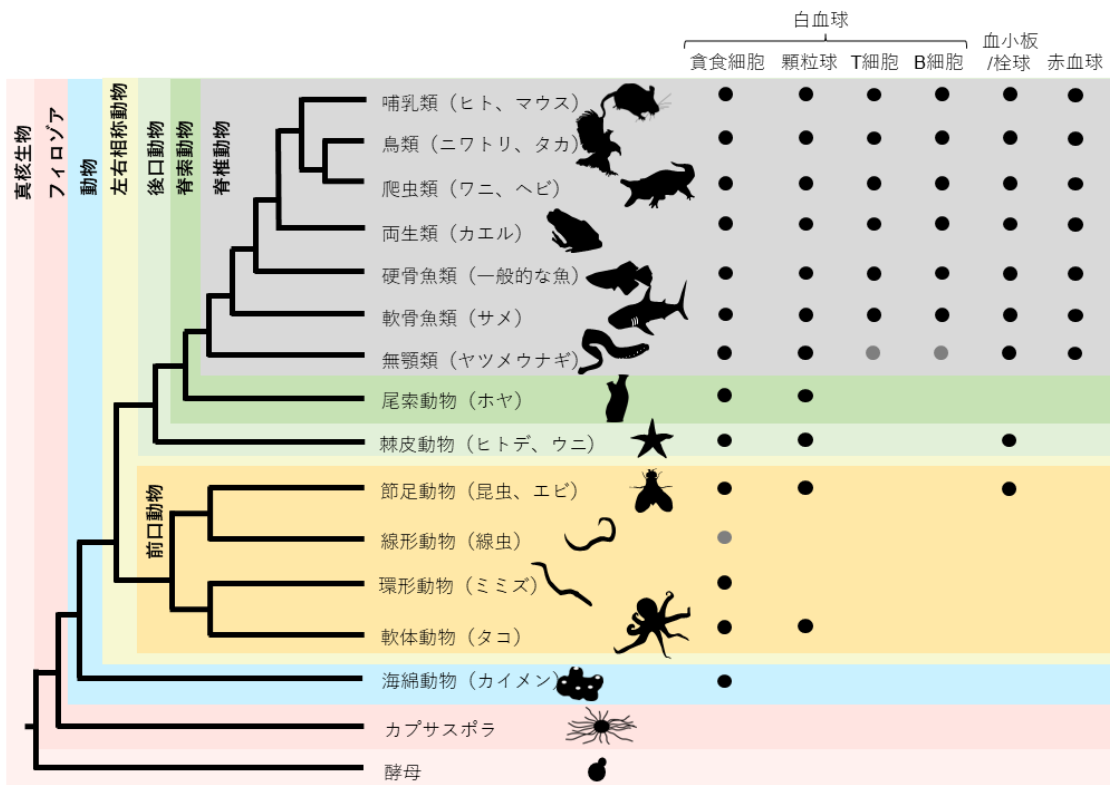


図2 いろいろな動物の血液細胞

脊椎動物は、赤血球や、血小板、貪食細胞（マクロファージ、好中球など）、リンパ球など、様々な種類の血液細胞を有している。これらの多様な血液細胞のうち、貪食細胞はほとんどの動物が有していることから、多様な血液細胞は貪食細胞を起源として進化したと考えられてきた（臨床血液 2021;62:512-520 一部改変）。

2. 研究手法・成果

マウス、ホヤ^{※6}、カイメン^{※7}、カプサスポラ^{※8}の遺伝子のうち、翻訳^{※9}されるタンパク質のアミノ酸配列が互いに類似しているホモログ^{※10}を検索し、3237個のホモログ群を同定しました。これら3237個のホモログ群の発現プロファイルを、マウス、ホヤ、カイメンの様々な種類の細胞とカプサスポラとで比較しました。今までは、1遺伝子同士で対になっているホモログに基づいて比較することが主流でしたが、本研究では、複数の遺伝子を含むホモログ群も含めて比較することで、異生物種間での遺伝子発現の包括的な比較が可能となりました。マウスではマクロファージ、好中球、T細胞、B細胞、赤血球などの血液細胞に加えて、ES細胞、神経細胞、腸上皮細胞、肝細胞、脂肪細胞などの多様な細胞を用いて比較しました。すると、マウス、ホヤ、カイメンのマクロファージなどの貪食細胞が互いに類似しており、また、カプサスポラにも類似していることが明らかとなりました(図3)。

次に、マクロファージとカプサスポラの類似性を規定している遺伝子を調べるために、両者に共通して高発現している遺伝子を検索したところ、11個の遺伝子が同定されました。多くはリソソーム^{※11}に関連する遺伝子でしたが、細胞の性質や分化の運命決定において重要な転写因子^{※12}に絞って検索するとCEBP α が唯一、同定されました(図4)。

ホヤの血液細胞には、貪食細胞以外に、顆粒が豊富なMorula細胞や小型の芽球が存在することが知られています。今回の研究では、カタユウレイボヤの血液細胞を採集し、ビーズの貪食や自家蛍光^{※13}に基づいて、フローサイトメトリー^{※14}という手法で、貪食細胞、Morula細胞、芽球などの分画別に収集し、各分画別の遺伝子発現量を調べました。すると、貪食細胞が他の血液細胞に比較してCEBP α を高発現していることがわかりました(図5)。

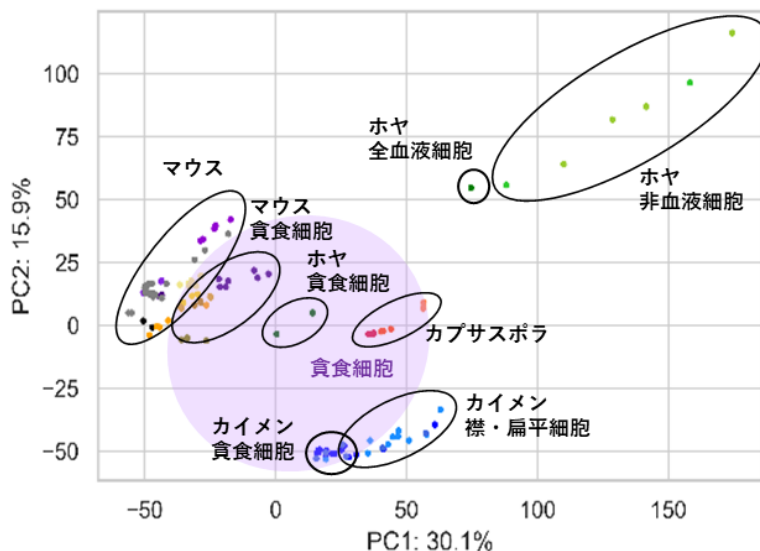


図3 マウス、ホヤ、カイメン、カプサスポラの細胞の遺伝子発現状態の比較
4生物種間で保存された3237個のホモログに基づいて遺伝子発現状態を比較し、主成分分析を用いて二次元図面に投影した。マウス、ホヤ、カイメンについては、貪食細胞や上皮細胞など、様々な種類の細胞を比較している。マウス、ホヤ、カイメンの貪食細胞とカプサスポラは互いに類似していることが示された。

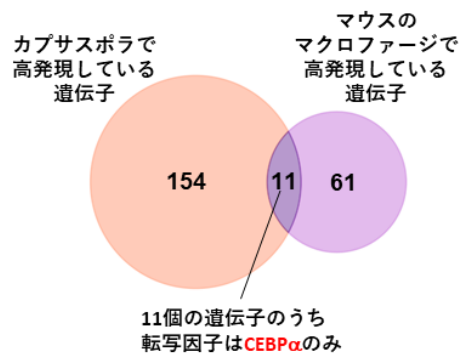


図4 CEBP α はマウスのマクロファージとカプサスポラで共通して高発現している
マウスのマクロファージとカプサスポラで高発現している遺伝子を調べると、11個の遺伝子が共通していた。そのうち、転写因子はCEBP α だけであった。

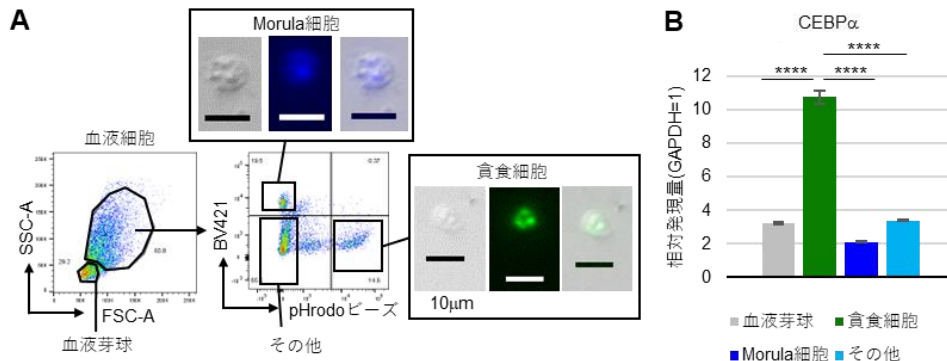


図5 ホヤの血液細胞においても、CEBP α は貪食細胞で高発現している

(A) カタユウレイボヤの血液細胞を採集し、蛍光ビーズを貪食させ、貪食したビーズの蛍光と顆粒の自家蛍光、サイズに基づいて、フローサイトメトリーで貪食細胞、Morula細胞、芽球、それ以外の血液細胞の4分画に分離した。(B) 各分画の血液細胞よりRNAを抽出してCEBP α の発現量を比較したところ、貪食細胞でのみ高発現していることが観察された。

次に、マウスやホヤ、カイメン、カブサスポラの CEBP α が機能的にも類似しているかを検証するために、マウスの B 細胞や巨核球^{*15}などの前駆細胞^{*16}に、4 生物種の CEBP α を発現させて細胞の変化を観察しました。すると、マウスと同様に、ホヤやカイメンの CEBP α も B 前駆細胞をマクロファージに転換させました。さらに 4 生物種の CEBP α のいずれもが巨核球前駆細胞をマクロファージに転換させました (図 6)。これらのことから、CEBP α の機能が単細胞生物から脊椎動物に至るまで保存されていることが明らかとなりました。

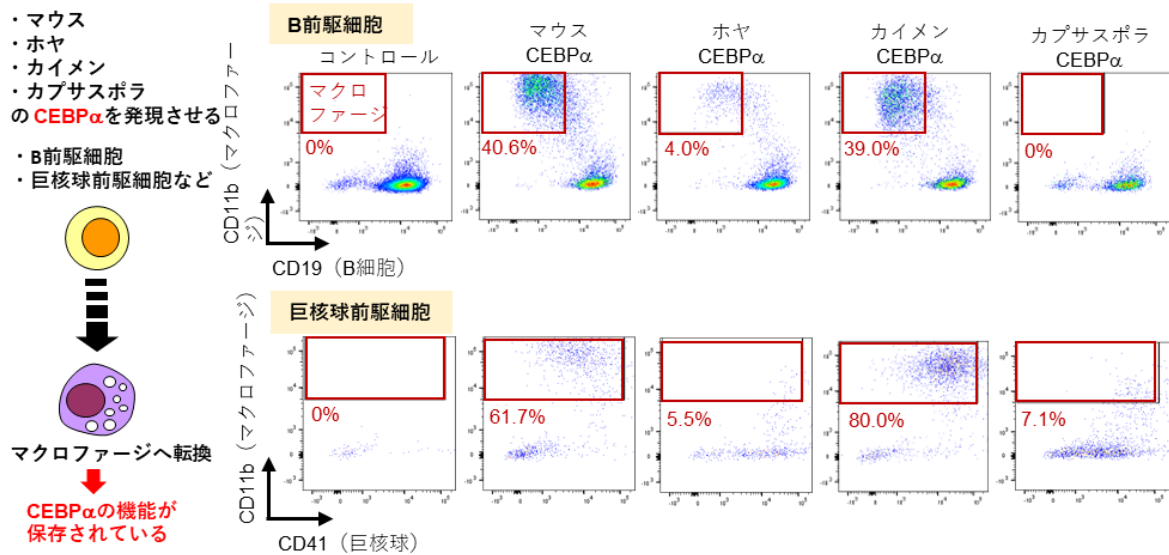


図6 マウス、ホヤ、カイメン、カブサスポラのCEBP α の機能は保存されている
マウス、ホヤ、カイメン、カブサスポラのCEBP α をマウスのB前駆細胞や巨核球前駆細胞に発現させたところ、マクロファージへと転換した。貪食細胞 (マクロファージ) プログラムを誘導するというCEBP α の機能が単細胞生物の時代から保存されてきたことを示している。

最後に、脊椎動物において、赤血球や T 細胞などの多様な血液細胞がいかんして出現したのかの解明に挑みました。赤血球や、巨核球、T 細胞、B 細胞では、CEBP α が発現すると、もとの状態を失ってマクロファージへと転換してしまいます。したがって、これらの血液細胞では、CEBP α は抑制され続けなければなりません。どうやって CEBP α が抑制されているのかをマウスを用いて調べたところ、赤血球や、巨核球、T 細胞、B 細胞

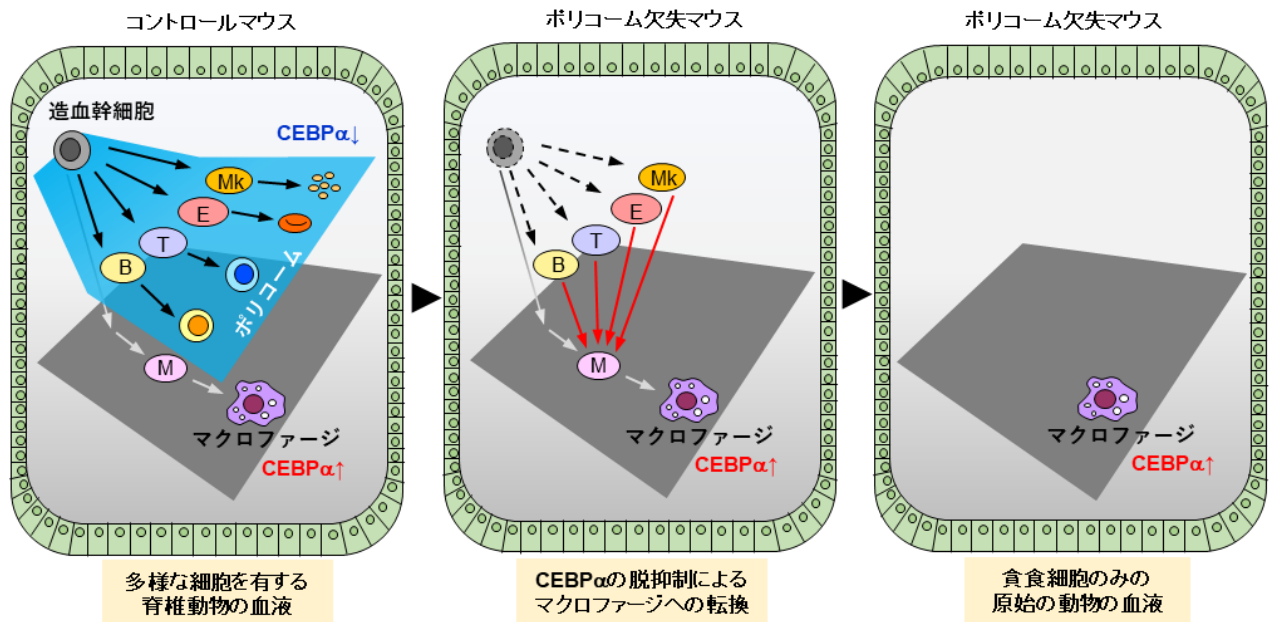


図7 ポリコームを欠失させると、血液細胞が貪食細胞のみになる
マウスの血液細胞でポリコーム蛋白であるRing1A/Bを欠失させると、赤血球、巨核球、T細胞、B細胞がマクロファージへと転換し、原始的な動物の血液に類似した状態となった。進化的に巻き戻ったともいえる。

に共通して、ポリコム複合体^{*17} が抑制していることが明らかとなりました。マウスの血液細胞で、ポリコム複合体の構成蛋白である Ring1A と Ring1B を欠失させてポリコム複合体の機能を失わせると、赤血球、巨核球、T 細胞、B 細胞において CEBP α の発現が上昇し、マクロファージへと転換してしまうことがわかりました。その結果、マウスの骨髄^{*18} や血液はマクロファージに占拠されてしまい、また、造血幹細胞^{*19} も著減して、原始的な動物の血液のような状態に戻ってしまうことを発見しました (図7)。さらに、Ring1A/B を欠失させることで生じたマクロファージは白血病細胞様に変化することも発見し、この白血病様のマクロファージは、正常な細胞よりカプサスポラへの類似性が高いことも確認されました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究により、血液細胞の進化の足跡が明らかになっただけでなく、「マクロファージ全ての血液細胞の原型」という、多様な血液細胞の中でのマクロファージの特殊性も明らかとなり、血液疾患の病態の解明や新規治療法の開発へとつながることが期待されます。我々の研究室では、造血幹細胞が赤血球や T 細胞、B 細胞へと分化していく際に、マクロファージへ分化する能力が長く保持されているというモデルを 20 年以上前に提唱しており (Int. Rev. Immunol, 20: 1-20, 2001)、その後、実際に T 前駆細胞がマクロファージ分化能を保持していることを証明しました (Nature, 452: 768-772, 2008)。この長く保持されるマクロファージ分化能についても、血液細胞の進化的起源がマクロファージであることの名残を現存する脊椎動物において観察しているということが、本研究により明らかとなりました (図8)。

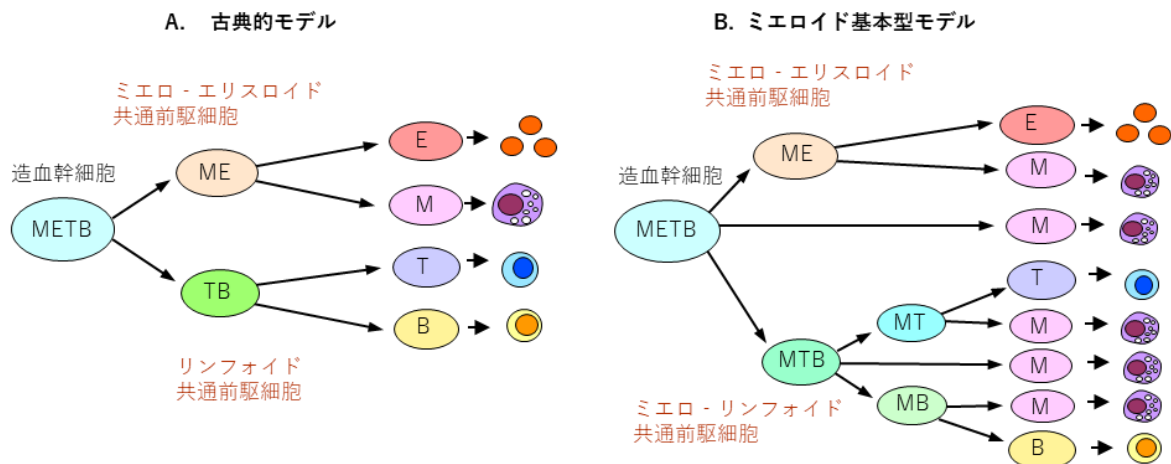


図8 ミエロイド基本型モデル

基本的に、あらゆる血液細胞は造血幹細胞から分化して形成されるが、古典的モデル (A) では、造血幹細胞は、赤血球とミエロイド細胞 (マクロファージ・好中球) になる前駆細胞 (CMP; common myeloid progenitor) と、T細胞やB細胞などのリンパ球だけになる前駆細胞 (CLP; common lymphoid progenitor) にまず分化すると提唱されていた。これに対して、我々は、単一細胞培養による分化能の検証によって、ミエロイド細胞分化能は、赤血球、T細胞、B細胞になる直前まで保持されていることと、CLPが存在しないことを発見し、ミエロイド基本型モデル (B) を提唱してきた。図では、便宜上、血小板や好酸球、NK細胞などの分化能については省略している。マクロファージ分化能が長く保持されているのは、マクロファージが原始的な細胞であることの名残であることが、今回の研究により証明された。

また、Ring1A/B を欠失させることで、血液細胞の進化を巻き戻したことから、白血病様の細胞に変化したことから、白血病細胞・腫瘍細胞は進化的に原始的な状態にあるという可能性を示唆しており、疾患の研究への応用も期待されます。さらに、血液細胞の起源を単細胞生物にまで遡れたことにより、血液細胞の進化の足跡の傍らに眠っている他の足跡も辿れることが見込まれます。例えば、単細胞生物から多細胞生物への進化という生物進化の一大事象の足跡も解き明かすことができるかもしれません。本研究で用いた、異生物種間の遺伝子発現パターンを全組織にわたって包括的に比較する手法は、T細胞や赤血球などのマクロファージ以外の血液細胞におけるより精細な進化過程の解明や、血液細胞以外の各種組織の進化過程の解明にも応用できることから、多岐にわたる生物学分野への貢献が期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は京都大学医生物学研究所再生免疫学分野、京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科学、京都大学大学院医学研究科腫瘍生物学、京都大学理学研究科動物発生学、県立広島大学、東京理科大学との共同研究として行われました。本研究は JSPS 科研費(JP15H04743、JP19H05747)、京都大学医生物学研究所 Director's Research Grants 2022 (No. 6)より資金的支援を受けて実施されました。また、ナショナルバイオリソースプロジェクトのカタユウレイボヤを使用しました。

5. 研究者のコメント

「私は、血液内科医として、白血病やリンパ腫などの血液疾患の患者さんを診療して参りましたが、有効な治療法が乏しく、治せない疾患・患者さんは少なくありません。これは、血液疾患、さらに言えば、血液細胞そのものの正体についてわからないことが多いためです。そこで、血液細胞の正体を明らかにしようと研究を開始し、その進化の過程と起源を探ることで、正解に近づけるのではないかと考えました。本研究を基に、血液細胞や血液疾患の正体を明らかにできれば本望です。」

<用語解説>

※1 **脊椎動物**：背骨を有する動物で、哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、硬骨魚類、軟骨魚類（サメなど）、無顎類（ヤツメウナギなど）が含まれる。

※2 **貪食**：細菌や死細胞などの細胞外の物質を数百 nm～数 μ m 以上の大きさのまま取り込んで、リソソームなどと融合させて、細胞内で分解・消化すること。

※3 **無脊椎動物**：背骨を有しない動物で、尾索動物（ホヤなど）、棘皮動物（ヒトデなど）、節足動物（昆虫類、甲殻類など）、軟体動物（タコ、貝類など）、刺胞動物（クラゲなど）、海綿動物などが含まれる。

※4 **収斂進化**：ある環境下である形質を備えることが生物種にとって有利である場合などにおいて、異なる起源の細胞系列・器官が類似の形態・機能を持つ細胞系列・器官に進化すること。昆虫と鳥類の翅翼など。

※5 **遺伝子発現状態**：DNA から転写された RNA の種類と量に基づいて測定された細胞の状態。DNA から RNA が転写されることあるいは、そこからアミノ酸へ翻訳されてタンパク質が合成されることを遺伝子の発現という。RNA の測定方法として RT-qPCR やマイクロアレイ、RNA シーケンスなどの手法がある。本研究ではタンパク質に翻訳される遺伝子のみを対象とした。

※6 **ホヤ**：無脊椎動物に含まれるが、脊索を有して尾索動物に属し、脊椎動物に比較的近縁とされる。開放血管系で、無色透明の血液が流れている。

※7 **カイメン**：現存する動物の中で、脊椎動物から最も遠縁の動物とされており、胚葉を形成しない。体腔中のアーキオサイトが貪食細胞として振舞うことが知られている。

※8 **カプサスポラ**：真核単細胞生物であるが、動物に比較的近縁とされている。アメーバ状態、孢子状態、凝集状態を遷移し、単細胞生物から多細胞生物への進化の痕跡を呈しているとされる。

※9 **翻訳**：ここでは、DNA から転写された RNA の配列情報を基に、リボソームがアミノ酸配列へと変換していくことを指す。

※10 **ホモログ**：相同遺伝子。塩基配列やアミノ酸配列が類似しており、同一の起源を持つと推測される。

※11 **リソソーム**：貪食やエンドサイトーシスによって細胞外から細胞内に取り込まれた物質や、オートファジーにおける自己のタンパク質などを、加水分解する細胞内小器官。

※12 **転写因子**：DNA に結合して、遺伝子の転写を促進するタンパク質。遺伝子の発現の調節において重要な

役割を担っており、細胞の性質や分化運命を決定する。

※13 **自家蛍光**：細胞自身が発する蛍光のこと。細胞は、ヒトの目では検出できないような弱い蛍光を発しているが、細胞の種類によっては、自家蛍光が中程度あり、他の細胞との違いを機器で検出できることがある。

※14 **フローサイトメトリー**：細胞を含んだ液に細かな振動を与えることで、細胞1個を含んだ液滴を形成し、細胞1個ごとに、大きさや内部構造、蛍光の強さなどを測定する測定手法。任意の大きさや蛍光強度の細胞を選別して収集することもできる。

※15 **巨核球**：血小板を産生する血液細胞。大型で複数の核を有する。

※16 **前駆細胞**：幹細胞からある細胞へと分化していく過程において、中途段階にある細胞。B前駆細胞とは、B細胞になる前段階のB細胞より未熟な細胞を指す。

※17 **ポリコーム**：ヒストン修飾により、クロマチンを凝集させ、遺伝子発現を抑制するタンパク質。複数のタンパク質が協調して機能することから、ポリコーム複合体 (PRC; polycomb repressive complex) と呼ばれ、PRC1 と PRC2 に分類される。

※18 **骨髄**：骨の内部にあり、血液が造られている臓器。

※19 **造血幹細胞**：マクロファージや好中球、赤血球、血小板、T細胞、B細胞など全ての系列の血液細胞へと分化することができ、また、自己複製することができる細胞で、血液における幹細胞である。成体期では骨髄、胎生期には肝臓などに存在する。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Tracing the evolutionary history of blood cells to the unicellular ancestor of animals

(血液細胞の進化の足跡を単細胞生物にまで遡る)

著者：Yosuke Nagahata^{1,2}, Kyoko Masuda¹, Yuji Nishimura¹, Tomokatsu Ikawa³, Shinpei Kawaoka⁴, Toshio Kitawaki², Yasuhito Nannya⁵, Seishi Ogawa⁵, Hiroshi Suga⁶, Yutaka Satou⁷, Akifumi Takaori-Kondo², Hiroshi Kawamoto¹

1. Laboratory of Immunology, Institute for Life and Medical Sciences, Kyoto University

2. Department of Hematology and Oncology, Graduate School of Medicine, Kyoto University

3. Division of Immunology and Allergy, Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science

4. Inter-Organ Communication Research Team, Institute for Life and Medical Sciences, Kyoto University

5. Department of Pathology and Tumor Biology, Graduate School of Medicine, Kyoto University

6. Department of Life and Environmental Sciences, Prefectural University of Hiroshima

7. Department of Zoology, Graduate School of Science, Kyoto University

長畑洋佑^{1,2}、増田喬子¹、西村有史¹、伊川友活³、河岡慎平⁴、北脇年雄²、南谷泰仁⁵、小川誠司⁵、菅裕⁶、佐藤ゆたか⁷、高折晃史²、河本宏¹

1. 京都大学医生物学研究所 再生免疫学分野

2. 京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学

3. 東京理科大学生命医科学研究所 免疫アレルギー部門

4. 京都大学医生物学研究所 細胞社会学

5. 京都大学大学院医学研究科 腫瘍生物学

6. 県立広島大学生物資源科学部生命環境学科

7. 京都大学大学院理学研究科 動物発生学

掲載誌：Blood 2022;140(24) DOI：<https://doi.org/10.1182/blood.2022016286>