

## 総説

# 空間パターン形成の遺伝子ネットワーク進化理論 —ネットワーク構造と機能の対応づけ

藤本仰一<sup>1,2</sup>, 石原秀至<sup>3,4</sup>, 金子邦彦<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>科学技術振興機構ERATO複雑系生命プロジェクト

<sup>2</sup>大阪大学理学研究科生物科学専攻

<sup>3</sup>東京大学総合文化研究科

<sup>4</sup>科学技術振興機構PRESTO

One of the major goals in evolutionary developmental biology is to elucidate the relationship between gene regulatory networks and the diverse morphologies. Segmentation in arthropod embryogenesis represents a well-known example of body plan diversity. Striped patterns of gene expression that lead to the future body segments appear simultaneously or sequentially, respectively. To reveal the basic differences in the network structure, we have numerically evolved hundreds of gene regulatory networks. By analyzing the topologies of the generated networks, we show that the characteristics of striped pattern are determined by Feed-Forward Loops (FFLs) and negative Feed-Back Loops (nFBLs).

gene regulatory network / evolutionary developmental biology / pattern formation / mathematical modeling / segmentation / arthropod

## 1. はじめに—発生進化とネットワーク

生体内の遺伝子群は、転写因子を介して互いに発現を調節しあう転写ネットワークとして発生過程を制御している。ゲノム上の変異によるネットワーク構造の変化は生物の形態形成をどのように変容させてきたのだろうか？ 進化発生学では異なる種間で保存されている多くの遺伝子に関して、形態形成を誘導する空間的な発現パターンや発現阻害による表現型欠損の種間比較を進めており、転写ネットワークの構造の違いが各種に固有な発生様式を生み出すことが示唆されている<sup>1)</sup>。本稿では、発生過程の進化に関する実験的知見が豊富な節足動物の体節形成に注目し、数値計算を用いた進化実験から得られたネットワーク構造と発生様式の関係、および、その背後にある進化過程に対する知見を報告する。

節足動物の胚発生では、ストライプ状の遺伝子発現パターンが前後（頭尾）軸方向に沿って現れ、体節形成を誘導する。この過程でムカデなどの祖先種では短胚型、ハエなどの派生種では長胚型という発生様

式を示す。短胚型では細胞分裂を通じた胚の伸長とともに尾側に「1つずつ（逐次的）」ストライプが現れるが、長胚型ではすべてのストライプが1回の核分裂周期の間にはほぼ「同時に」できあがる（図 1a, b）<sup>2)</sup>。短胚型を示すヤスデでは兄弟間でも体節数が異なる種がいるが<sup>3)</sup>、長胚型に属する種では体節数は固定されている。

体節形成に関与する調節遺伝子群は発生様式にかかわらず種間でよく保存されており、特定の遺伝子の存在ではなくネットワーク構造の違いが両者の発生を特徴づけると考えられる<sup>4)</sup>。そこで、私たちは以下の2つの問題を立てた。①ストライプをつくるためのネットワークの基本的な構造特性は？ ②ネットワークの特性は、遺伝子発現の空間パターン形成へいかに反映されるのか？

## 2. 計算機でネットワークを探索する

発生過程の進化的多様化を知るためには、膨大な数の生物種について転写ネットワーク構造と発生過程の

### Network Evolution of Spatial Pattern Formation

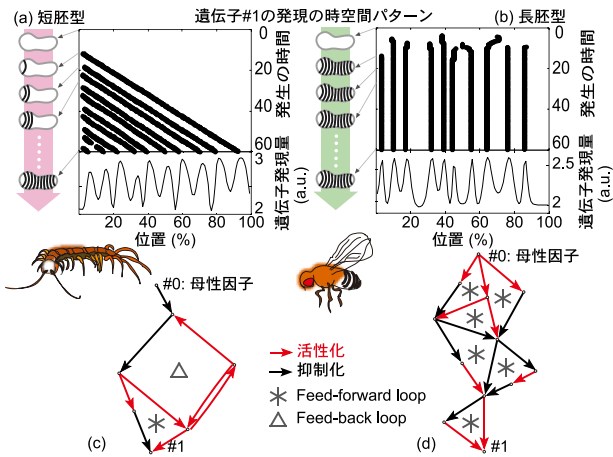
Koichi FUJIMOTO<sup>1,2</sup>, Shuji ISHIHARA<sup>3,4</sup> and Kunihiko KANEKO<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ERATO Complex Systems Biology Project, Japan Science and Technology Agency

<sup>2</sup>Department of Biological Sciences, Osaka University

<sup>3</sup>Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo

<sup>4</sup>PRESTO, Japan Science and Technology Agency

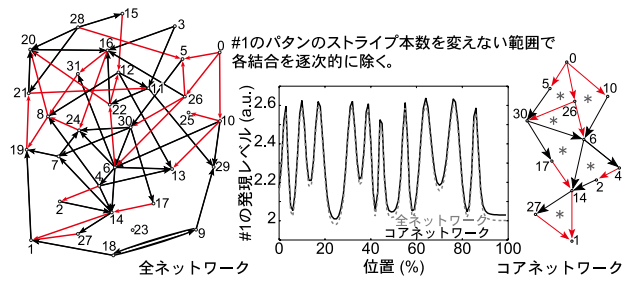


**図 1** (a), (b) 節足動物の胚発生と人工進化で現れる 2 種の時空間パターン。#1 の濃度が高い領域を黒で示す。位置は前後軸の座標を表し、0% は胚の前端、100% は後端。(c), (d) 人工進化で見いだされた長/短胚型のパターン形成を特徴付ける代表的なネットワーク。矢印は転写因子間の発現制御を表す。(電子ジャーナルではカラー)

対応を調べる必要がある。ネットワーク構造が詳細にわかっている種はまれであり、一旦現実から離れて計算機を用いてストライプ状空間パタンの生成が可能なネットワークを探索した。多数の転写因子の濃度が胚の前後軸方向の空間 1 次元にパターン形成をする発生過程を、合成・分解反応と拡散による各因子の濃度変化を記述する**反応拡散方程式**でモデル化した。ここで、各因子の合成速度は活性・抑制化因子の濃度に依存し、#0 は母性因子\*1 としてどの因子からも発現制御を受けずに空間的に濃度勾配を作るとした(図 3a 挿入図)。さらに、遺伝アルゴリズムとよばれる手法で転写制御のネットワークを計算機上で進化させた<sup>3), 4)</sup>: 変異過程として結合(矢印)のつなぎ換えを導入し、発生過程として反応拡散方程式を計算する。発生の結果現れるある因子(#1)の濃度の空間パターンを求め、現れるストライプ本数があらかじめ決めた本数に近いほど適応度が高いとした選択を各世代で行い、約千世代繰り返す。

こうした人工進化で出現したパターン形成過程を、数百の独立な進化系列について調べた結果、ストライプの出現は「逐次的」と「同時的」の 2 つに大きく分けられた(図 1a, b)。図 1a ではストライプの本数が 1 つずつ増加するのにに対し、図 1b ではほぼ同時に全ストライプが完成する。それぞれ節足動物の短胚

\*1 *D. melanogaster* では、母親由来の mRNA が局所的に翻訳され、拡散によりタンパク質の濃度勾配を作る。多くの種で濃度勾配をもつ因子が存在し、体節形成にも必須である。



**図 2** コアネットワークの抽出方法。(電子ジャーナルではカラー)

型、長胚型発生に見られる遺伝子発現の時空間パターンに類似している。

### 3. コアネットワークを抽出して比較する

それぞれの発生様式を生み出すネットワーク構造を明らかにするため、ストライプパターン生成に必要な部分を抜き出した(図 2)。たとえば、結合  $\#i \rightarrow \#j$  を除いたネットワークの反応拡散方程式を計算し、#1 に現れるストライプの本数が変わるならその結合を元に戻し、不変ならば除去する。この手続きを他の結合にも順次適用し、ストライプ形成に必要な最小の部分ネットワーク、すなわちコアネットワークを抽出する<sup>\*2</sup>。

それぞれの発生様式を示す数百個のコアネットワークを比較し、共通する構造を探した。その結果、逐次的ストライプ形成を示すネットワークでは negative Feed-Back Loop (nFBL)、同時的な形成を示すネットワークでは Feed-Forward Loop (FFL) という部品が必須であることを見いだした(図 1c, d)<sup>7)</sup>。FBL は  $\#i \rightarrow \#j \rightarrow \#k \rightarrow \#i$  のような自分に戻ってくる制御ループで、特に一周を通して抑制がかかる場合は negative FBL とよばれる。FFL とは  $\#i \rightarrow \#j \rightarrow \#k$  と  $\#i \rightarrow \#k$  のように前向きの矢印(feed-forward)の経路が複数ある部位を指す。これらの部品はバクテリアから動植物にいたる転写ネットワークで有意に多く存在し、機能的な意義が示唆されている<sup>8)</sup>。

### 4. ネットワークの部品の機能

nFBL と FFL はどんな働きをするのだろうか？ nFBL 中の活性化と抑制化は発現レベルの時間的な増減、すなわち振動を生み出す。この振動は拡散を介し

\*2 結合を切る順序に応じて複数のコアネットワークを抽出し得るが、そのような場合はまれであった。

て空間的な繰り返し構造を生成する。短胚型と同様に1つずつ体節が形成される脊椎動物では振動が観測され、関与する nFBL が同定されている<sup>9)</sup>。短胚型の発生でも遺伝子発現の振動が示唆されている<sup>10)</sup>。われわれの計算機実験では、逐次的形成を示すすべてのネットワークで nFBL による振動を確認した。

一方、活性・抑制の経路を組み合わせた1つの FFL は、1本のストライプを生成する。図3aに示したように、上流の遺伝子 #0 の活性が小さすぎると下流の遺伝子 #30 は活性化されず、#0 の活性が大きすぎても抑制される。したがって、#30 の発現量は #0 の活性に一山型に依存する。上流遺伝子が空間的に勾配をもつ場合、下流遺伝子は1つのストライプを形成する<sup>11), 12)</sup>。FFL が複数含まれると、その数に応じてストライプの数を増やすことができる。並列に結合した場合にはストライプの数が相加的に増し (図3b, c)、直列に結合した場合<sup>\*3</sup>には倍加する (図3d)。実際に、ショウジョウバエ (*D. melanogaster*) の初期発生の転写ネットワークには FFL のクロストークが多く含まれている<sup>11)</sup>。

これら2つの機構は定性的に異なる。少数因子からなる nFBL が生成するストライプパターンは各因子の拡散定数で特徴づけられる波長をもち、胚の長さの変動に対してストライプ数も変動するので、ストライプ数を制御する機構が別に必要になる<sup>13)</sup>。他方 FFL を用いた場合には、コアネットワークのサイズ (遺伝子数) が大きくなってしまいが、決められた数のストライプを同時に発現させることができる。

### 5. ネットワークの安定性

ネットワークへの摂動に対する表現型の不変性はロバストネスとして知られている<sup>14), 15)</sup>。短胚型のようにコアネットワークの構成要素が少なければ、ネットワーク全体のどこかに突然変異が入る確率は低く、ストライプ形成の変化は起こりにくいだろう。これに比べて、多数の FFL が必要な長胚型は、大きなコアネットワークのどこかに変異が入る確率は高く、ネットワークの脆弱性につながる。一方で、環境変動などに対しては FFL が正確なストライプの本数決定を可能にし、より安定だと考えられる。また、短時間で速やかに発生をすませることもできる。

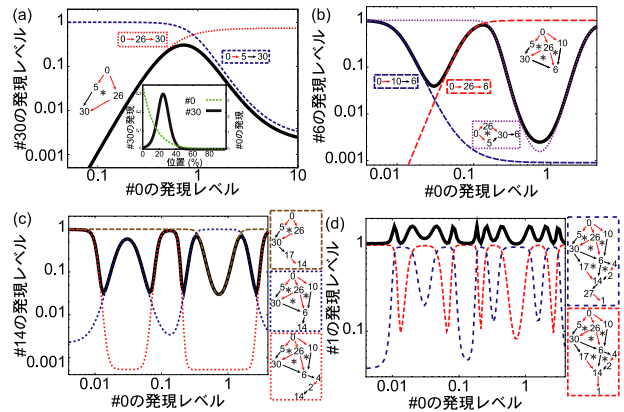


図3 FFLの入力応答。(a) 単一の FFL (b), (c) 並列結合 FFL (d) 直列結合 FFL。実線は注目する FFL 全体、点線や破線は各 FFL を構成する部分ネットワークの #0 の濃度に対する応答を示す。(電子ジャーナルではカラー)

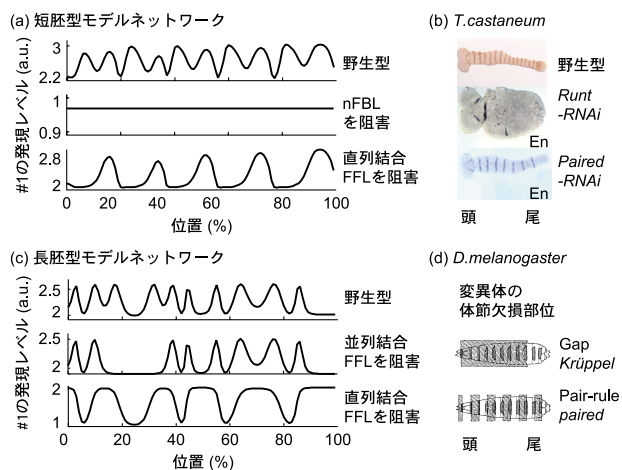
### 6. 実験的知見との整合性

上で述べた計算機上で見いだした知見を、実験事実と比較した。まず計算機上の進化では、2種のストライプ形成様式の折衷、すなわち、頭部側では同時的、尾部側では逐次的にストライプが生成されるネットワークも頻繁に出現する。節足動物ではこの様式は中胚型発生として知られており、コオロギなどでみられる<sup>2)</sup>。コアネットワークを抽出して中胚型の必要条件を調べると、ネットワーク構造も折衷的で FFL と nFBL が並列的に共存している。

計算機上の進化で得たネットワークは、節足動物の遺伝子発現阻害による体節欠損の実験結果を説明する (図4)<sup>7)</sup>。たとえば短胚型を示す甲虫 (*Tribolium castaneum*) では、primary pair-rule 遺伝子群と secondary pair-rule 遺伝子群に含まれる遺伝子はともにストライプ状の発現パターンを示すが、それぞれの遺伝子の活性を RNA 干渉で阻害すると、前者ではストライプの全消失、後者では1本おきに半数の消失が見られる (図4b)<sup>16)</sup>。これらと同様な発現パターンとストライプ欠損を示す遺伝子が逐次的形成を示す人工ネットワーク (図1c) にも見いだされる (図4a)。ストライプの全消失は nFBL に含まれる遺伝子を阻害した場合に生じ、半数のストライプが1本おきに消失するのは直列結合した FFL を阻害した場合である。

長胚型を示す *D. melanogaster* の場合、pair-rule 遺伝子群に含まれる遺伝子は、体節数の半数のストライプパターンを示し、遺伝子ノックアウトで体節数が半減する。一方で gap 遺伝子は領域特異的な発現を示し、

\*3 ある FFL の出力が他の FFL の入力になる場合を直列結合、それ以外を並列結合とよぶ。



**図 4** nFBL と FFL は節足動物の体節欠損も説明する。(a) 図 1c のネットワーク内部の nFBL, 直列結合 FFL が含む遺伝子の発現を阻害した場合のストライプ欠損。(b) Primary / secondary pair-rule 遺伝子 (それぞれ *runt*, *paired*) の発現阻害に対する転写因子 *engrailed* の発現パターン。 *runt*-RNAi では胚全体にわたり発現がほとんどない。(c) 図 1d のネットワーク内の FFL が含む遺伝子を阻害。直接結合 FFL の阻害では、隣あう 2 つのストライプが融合して 1 つとなり結果として数が半減。(d) 各遺伝子の発現阻害に対する体節欠損部を斜線で示す。 *Krüppel* は gap 遺伝子。 a, c が計算結果, b, d が実験結果。 b は文献 16, d は文献 17 より許可を受け図の一部を転載。(電子ジャーナルではカラー)

ノックアウトにより発現領域近傍で局所的な体節欠損を示す (図 4d)<sup>17)</sup>。同時的形成を示す人工ネットワーク (図 1d) でも、よく似た阻害応答を示す遺伝子が頻繁に見いだされた (図 4c)。 pair-rule 型の欠損を示す遺伝子は直列結合 FFL に、 gap 型の欠損を示す遺伝子は並列 FFL に含まれた。

これらの解析結果は、体節形成過程が (1) 時間振動を生成する FBL の機能, (2) ストライプを倍加あるいは付加する FFL の機能, (3) FBL と FFL の組み

合わせ、に基づき理解できることを示唆している。他の生物種についても同様の解析を行い、FBL と FFL の働きをもとに未知のネットワーク構造の推定を進めている。推定された構造を種間比較して現実のネットワークがたどった進化の道筋を推定することもめざしている。

## 7. おわりに

人工進化を通じて、冒頭の 2 つの問題に対する解答を体節形成に対して提案できた。① 3 つのストライプ形成様式, 同時, 逐次, 両者の折衷を生み出すネットワークは、それぞれ FFL, nFBL, 両者の並列結合である。② nFBL は時間的振動を生成し、FFL はストライプの付加と倍加をする。これらの機能に基づけば、実際に観測されている体節欠損変異体も説明できる。将来的には多くの生物種での発生遺伝学的解析からの検証も可能であろう。

人工進化で見られた 3 種の発生様式は節足動物の長胚, 短胚, 中胚の様式とみごとに一致しており、この 3 種の出現の進化的必然性を強く示唆する。本理論と節足動物の系統関係を合わせると、変異に対する安定性は高いけれども体節数制御の甘い短胚型の発生から、変異に対する安定性は低いけれども精確な数制御をもつ長胚型発生への進化が起こったのではないかと考えられる。精度の高い論理回路的制御がルースな力学系的発生を乗っ取る過程は、生命システムの進化で一般にみられる原理となるのではないかと期待される。

## 文献

- 1) Carroll, S. B. *et al.* (2001) From DNA to Diversity, Blackwell (和訳, 羊土社)。
- 2) 佐藤矩行ら (2004) 発生と進化, 岩波書店。

- 3) Arthur, W. (1999) *Evol. Dev.* **1**, 62-69.
- 4) Peel, A. D. *et al.* (2005) *Nat. Rev. Gen.* **6**, 905-912.
- 5) Salazar-Ciudad, I. *et al.* (2001) *Evol. Dev.* **3**, 84-94.
- 6) François, P. *et al.* (2007) *Mol. Sys. Biol.* **3**, 154.
- 7) Fujimoto, K. *et al.* (2008) *PLoS ONE* **3**, e2772.
- 8) Alon, U. (2006) *An Introduction to Systems Biology: Design Principles of Biological Circuits*, Chapman & Hall.
- 9) Dequeant, M. L., Pourquié, O. (2008) *Nat. Rev. Genet.* **9**, 370-378.
- 10) Schoppmeier, M., Damen, W. G. M. (2005) *Evo. Dev.* **7**, 160-169.
- 11) Ishihara, S. *et al.* (2005) *Genes Cells* **10**, 1025.
- 12) Basu, S. *et al.* (2005) *Nature* **434**, 1130; Isalan, M., *et al.* (2005) *PLoS Biol.* **3**, e64.
- 13) Ishihara, S., Kaneko, K. (2006) *J. Theor. Biol.* **238**, 683.
- 14) Barkai, N., Leibler, S. (1997) *Nature* **387**, 913-917.
- 15) Kaneko, K. (2007) *PLoS ONE* **2**, e434.
- 16) Choe, C. P. *et al.* (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 6560-6564.
- 17) Nüsslein-Volhard, C., Wieschaus, E. (1980) *Nature* **287**, 795-801.



藤本仰一

**藤本仰一 (ふじもと こういち)**

大阪大学テニユアトラック准教授  
2001年東京大学総合文化研究科博士課程修了,  
学術博士。08年12月より現職。

研究内容:理論生物学, 複雑系の物理

連絡先:〒560-0043 大阪府豊中市待兼山 1-1

大阪大学理学研究科生物科学専攻

E-mail: fujimoto@bio.sci.osaka-u.ac.jp

URL: <http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/~fujimoto/>

**石原秀至 (いしはら しゅうじ)**

東京大学大学院総合文化研究科助教 JST さきがけ  
研究員

2005年東京大学総合文化研究科博士課程修了,  
学術博士。07年より現職。

研究内容:理論生物学, 非線形物理学

連絡先:〒153-8902 東京都目黒区駒場 3-8-1

東京大学大学院総合文化研究科

E-mail: shuji@complex.c.u-tokyo.ac.jp

**金子邦彦 (かねこ くにひこ)**

東京大学大学院総合文化研究科教授

ERATO 複雑系生命研究総括

1984年東大理学系博士課程修了, 理学博士。

東大教養学部助手, ロスアラモス研究所ウラム  
フェローなどを経て94年より現職。

研究内容:複雑系生命科学, 非線形ダイナミクス

連絡先:同上

E-mail: kaneko@complex.c.u-tokyo.ac.jp