

胎盤の進化や多様性に関与するレトロトランスポゾン Retrotransposons on the development and diversity of placenta

大槻 海人¹・中川 草²・今川 和彦^{1*}

Kaito Otsuki¹, So Nakagawa² and Kazuhiko Imakawa^{1*}

¹東海大学総合農学研究所分子繁殖科学 〒862-8652 熊本市

²東海大学医学部分子生命科学 〒259-1193 伊勢原市

¹Research Institute of Agriculture, Tokai University, 9-1-1 Toroku, Higashi-ku, Kumamoto 862-8652 Japan

²Molecular Life Science, Tokai University School of Medicine, 143 Shimokasuya, Isehara, Kanagawa 259-1193 Japan

要旨：胎盤の主要な構成細胞である栄養膜細胞 (trophoblast) は、様々な long terminal repeat (LTR)型レトロトランスポゾンに由来する内在性レトロウイルス (endogenous retroviruses: ERVs) を高発現することが知られている。しかし、胎盤形成に関与するERV由来遺伝子の進化的意義、特に胎盤構造の多様性に及ぼす意義についてはあまり理解されていない。本稿では、胎盤形成についてまず説明し、哺乳類における胎盤構造の多様な形態を紹介する。次に、哺乳類が胎盤を獲得した過程を、LTR型レトロトランスポゾン *Peg10/Sirh1*, *Peg11/Sirh2* に *Sirh7/Ldoc1* も加えて説明し、続いてERVの膜タンパク質 (envelope, 以後ERV-envと略す) 由来の遺伝子である *Syncytin-1*, *-2*, *-A*, *-B*, *-Rum1*, および *BERV-K1/Fematin-1* に着目して詳述する。ERV-envに由来する遺伝子の一部は栄養膜細胞に見られる細胞融合に関与し、合胞体性栄養膜細胞 (syncytiotrophoblast cells) の形成や、さらに胎盤の形態学的多様化をもたらしたと考えられている。ERV-envに由来する遺伝子の宿主での機能獲得は、異なる哺乳動物種で独立して複数回起こっており、一部のERV-env遺伝子発現には同じ転写因子が関わっている。このことより我々は、新しく遺伝子座特異的に挿入・固定されたERV-env遺伝子の変異体がそれまで機能していた遺伝子に取って代わったのではないかと推測している。さらに、ERVは、インターフェロン (IFN) 誘導遺伝子 (ISGs) などの様々な遺伝子の転写調節因子としても機能する。以前より提唱している「バトンパス (機能の譲渡)」仮説は、複数の連続したレトロトランスポゾンの挿入・固定が、栄養膜細胞の細胞融合活性を保証し、ISGsの発現の時間的および空間的な調節機能や胎盤構造の多様性に関与したことを示唆している。

キーワード：哺乳類、胎盤構造、内在性レトロウイルス、栄養膜細胞、細胞融合、バトンパス仮説

Abstract: In trophoblast cells, major constituents of placenta, LTR retrotransposons including endogenous retroviruses (ERVs) are highly expressed. However, the roles and/or evolutionary significance of ERV-derived genes involved in placental formation, particularly structural diversity, have not been well characterized. In this review, we illustrate the placental formation and then list the diverse morphology of placental structure among mammalian species. We then describe the detailed history of ancient placenta development with the paternally expressed gene 10 (*Peg10/Sirh1*), *Peg11/Sirh2*, and *Sirh7/Ldoc1*, genes that are derived from LTR retrotransposons, followed by the capture of envelope genes derived from ERVs (hereinafter called *ERV-env*) such as *Syncytin-1*, *-2*, *-A*, *-B*, *-Rum1*, and *BERV-K1/Fematin-1*. The latter *ERV-env* genes are responsible for trophoblast cell fusion, resulting in multinucleate syncytiotrophoblast cell formation, and possibly, the morphological diversity of placentas. In fact, multiple endogenization of retroviral genes has occurred independently in different mammalian lineages, and some *ERV-env* genes use the same transcription factors for their gene expressions. We therefore speculate that *ERV-env* gene variants integrated into mammalian genomes in a locus-specific manner replacing the genes previously responsible. In addition, ERVs also work as transcriptional regulators of various genes such as interferon-stimulated genes (ISGs). The previously proposed “baton pass” hypothesis therefore suggests that evolutionary events caused by multiple successive retrotransposon integrations, likely resulted in effective trophoblast cell fusion, ISGs’ transcription in a temporal and spatial manner, and/or increased diversity of placental structures.

Key words: Mammals, Placental structure, Endogenous retrovirus, Trophoblast, Cell fusion, Baton pass hypothesis

(受付 2020年8月12日 / 受理 2020年8月22日)

別刷請求先：〒862-8652 熊本市東区渡鹿9-1-1 東海大学総合農学研究所

*To whom correspondence should be addressed. e-mail: ik459102@tsc.u-tokai.ac.jp

1. 胎子胎盤の形成

受精後の初期胚は、まず、内部細胞塊 (ICM) と栄養外胚葉 (trophectoderm) に分化し始め、胚盤胞 (blastocyst) を形成する。内部細胞塊は胚 (embryo)、羊膜、卵黄囊 (yolk sac)、原腸や尿膜に分化する。一方、栄養外胚葉は発達して絨毛膜となり、後に胎子胎盤側の主要構成細胞となる。多くの哺乳動物では、胚の腹側直下に中胚葉 (mesoderm) と原始内胚葉 (primitive endoderm) が現われ、原始内胚葉は外側の栄養外胚葉に沿って発達し卵黄囊を形成する。ただし、この卵黄囊は発達時期や構造が鳥類のそれと似ているために命名されたもので、鳥類のように卵黄囊内に卵黄 (yolk) を保持することはない。次に、中胚葉が卵黄囊を囲むように下方に発達し、外側の絨毛膜に融合し始めると卵黄囊構造は退縮し始める。中胚葉はまた上方にも発達し、胚を取り囲むように羊膜のひだ (amniotic folds) を形成する。胚の腹側側にはやがて原腸 (primitive gut) が形成され、その原腸から発生してきた尿膜 (allantois) が発達し始める¹⁾。上方での中胚葉は羊膜部分を閉じていくように発達するため、胚は完全に羊膜に覆われるようになる。尿膜はさらに発達し、一番外側の絨毛膜に密着し二層の尿絨毛膜を形成する (図1)。し

かし、有袋類では一時的に絨毛膜卵囊胎盤 (chorio-vitelline placenta) が形成され、げっ歯類やウサギ目での卵黄囊は、逆向きの卵黄囊胎盤として知られ、母体に面した吸収性上皮 (absorptive epithelium) を形成して妊娠終期まで維持される²⁾。これらの絨毛膜卵囊胎盤、卵黄囊や逆卵黄囊は、哺乳動物種へ進化した初期の頃の胎盤形態を示しており³⁾、その後発生した尿絨毛膜胎盤は、胎盤形成や妊娠の維持など機能上多くの利点を持っていたことから、哺乳動物種の胎盤形態となっていた。

1.1 胎盤の分類

胎盤は胎児の栄養膜細胞・絨毛膜と母体の子宮内膜の母子両方に由来する組織で構成され、母子間の栄養やガス交換 (代謝交換) のための一時的な臓器と考えることができる。胎盤は動物種によって構成する細胞の種類や解剖学的な構造も異なり、絨毛の分布様式によって、散在性胎盤 (ブタとウマ)、叢毛性胎盤 (反芻動物)、帯状胎盤 (イヌとネコ)、および盤状胎盤 (げっ歯類と霊長類) に分類される (図2)。また、胎児の絨毛と母体組織の結合様式によって、上皮絨毛性胎盤、結合絨毛性胎盤、内皮絨毛性胎盤、および血絨毛性胎盤にも分類することができる (図3)。

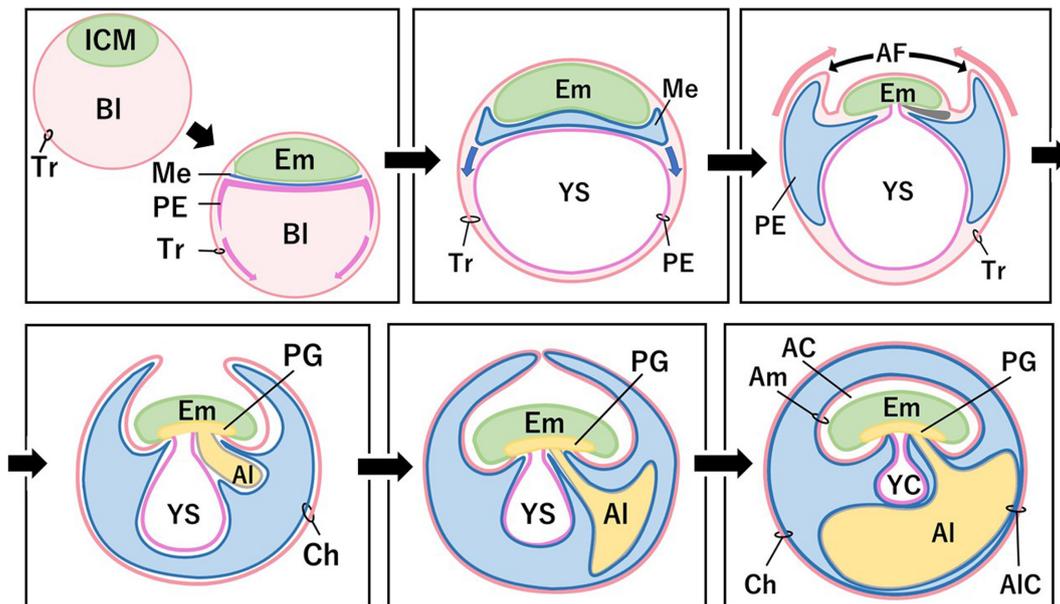


図1 哺乳動物種の尿絨毛膜への発達過程

(A) 初期胚は内部細胞塊 (inner cell mass, ICM) と栄養外胚葉 (trophectoderm) に分化し、胚盤胞 (blastocyst) を形成する。また、内部細胞塊は胚、中胚葉、原始内胚葉に分化する。(B) 原始内胚葉は卵黄囊を形成し、中胚葉も広がり始める。(C) 中胚葉は卵黄囊を囲むように栄養外胚葉に沿って発達し、卵黄囊は退縮し始める。また、胚を内側へと取り囲むように amniotic folds (羊膜の頭褶・尾褶) を形成する。(D) 中胚葉は全体に広がり、胚の腹側 (下方) に原腸や尿膜が発生する。(E) 尿膜は発達していくが卵黄囊は縮み続け、amniotic folds の発達も続く。(F) 尿膜は外側下方に発達し、やがて絨毛膜と接着することで尿絨毛膜が形成される。このころ、胚は完全に羊膜に覆われる。なお、この発達過程はげっ歯類 (円筒構造、逆卵黄囊)、ウサギ目 (逆卵黄囊) や有袋類 (絨毛膜卵囊胎盤) には当てはまらない。

AC : 羊膜腔, Am : 羊膜, AF : amniotic folds, Al : 尿膜, AIC : 尿絨毛膜, BI : 胞腔胚, Ch : 絨毛膜, Em : 胚, Me : 中胚葉, PE : 原始内胚葉, PG : 原腸, Tr : 栄養外胚葉, YS : 卵黄囊。

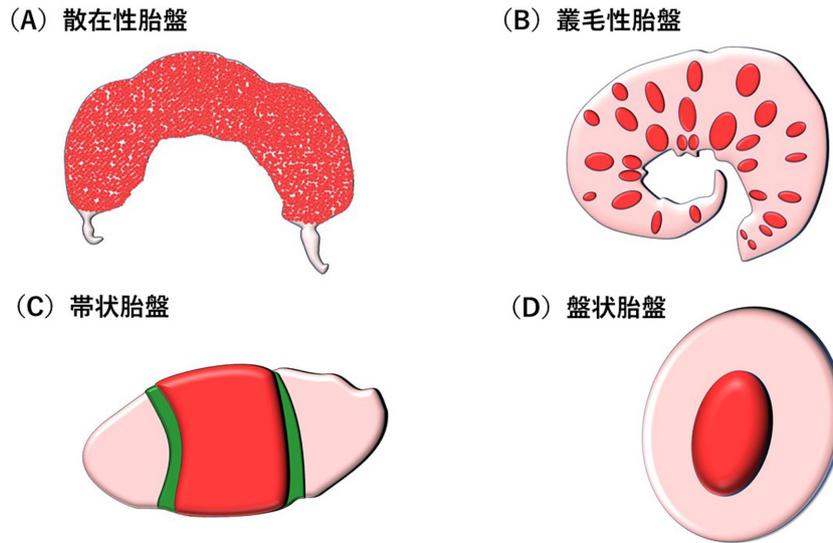
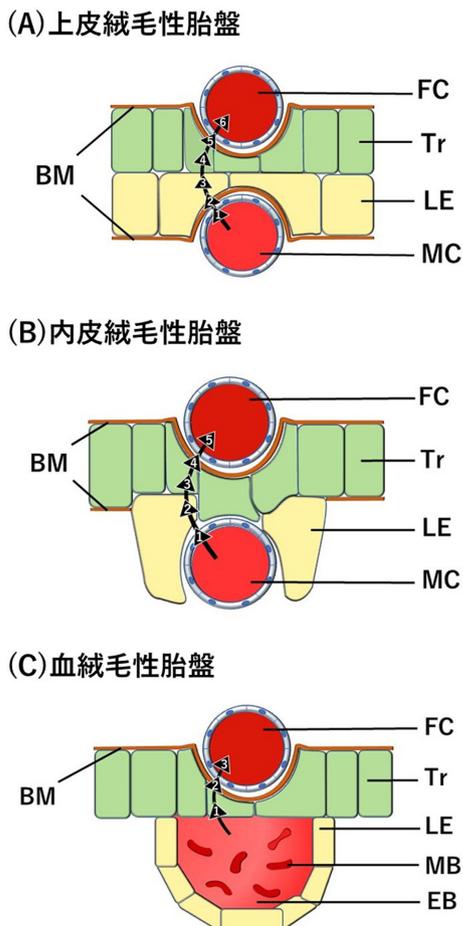


図2 絨毛の分布様式による胎盤の分類

(A) 散在性胎盤(ブタやウマ)は, 子宮内全体に小さな絨毛が多数分布される. (B) 叢毛性胎盤(反芻動物), 盤状の絨毛が間隔を開けて子宮全体に分布される. (C) 帯状胎盤(イヌとネコ)は, 羊膜の中心に帯状の絨毛が分布される. (D) 盤状胎盤(げっ歯類や霊長類)は, 局所的に盤状構造の絨毛が分布される.



上皮絨毛性胎盤は, 子宮の管腔上皮細胞が胎児側の栄養膜細胞と直接接触しており, 偶蹄類, クジラ, イルカや下部霊長類(原猿類)などの動物種にみられる. 結合絨毛性胎盤は, 反芻動物にみられる胎盤で, 上皮絨毛性胎盤とよく似た様式であるが, 特徴として栄養膜細胞の一部が二核細胞に分化し, 二核細胞がさらに子宮管腔上皮細胞と融合することによって三核細胞(ウシ)や多核細胞(ヒツジ)を形成する. 内皮絨毛性胎盤は, 子宮管腔上皮細胞の消失と子宮間質層が薄くなることより, 母体の毛細血管の内皮細胞が栄養膜細胞周辺に配置される構造をとる. 内皮絨毛性胎盤はイヌやネコなどの肉食動物に限らず, ゾウ(長鼻目)にもみられる. 血絨毛性胎盤は母体の毛細血管の内皮細胞が存在せず, 母体血液が栄養膜細胞と直接接している. この胎盤は,

図3 絨毛と母体組織の結合様式による胎盤の分類

(A) 上皮絨毛性胎盤(ブタとウマ)では, 母体の栄養素とガスが胎児の血液に到達するまでに6細胞層を経由する: (1)母体毛細血管の内皮細胞, (2)子宮内膜(間質および/または脱落膜), (3)子宮内膜管腔上皮細胞, (4)絨毛膜を構成する栄養膜細胞層, (5)胎児胎盤内の結合組織, (6)胎児側毛細血管の内皮細胞. (B) 内皮絨毛性胎盤(イヌとネコ)では, 子宮内膜管腔上皮細胞が消失し, 母体毛細血管が栄養膜細胞に直接暴露される. 經由する層は5つである. (C) 血絨毛性胎盤(げっ歯類と霊長類)では, 母体の血液が胎子胎盤外側の栄養膜と直接接触することから, 3つの組織層を通過して栄養素とガスが直接交換される.

BM: 基底膜, EB: 子宮内膜血, FC: 胎児毛細血管, LE: 子宮内膜管腔上皮, MB: 母胎血球細胞, MC: 母体毛細血管, Tr: 栄養膜細胞.

多くのげっ歯類およびヒトを含む高等霊長類にみられる⁴⁾。

上皮絨毛性胎盤は、母体血液と胎子血液の間に、(1) 母体毛細血管の内皮細胞、(2) 子宮内膜(間質および/または脱落膜)、(3) 子宮内膜管腔上皮細胞、(4) 絨毛膜を構成する栄養膜細胞層、(5) 胎児胎盤内の結合組織、(6) 胎児側毛細血管の内皮細胞の合計6つの細胞層が存在し、母子間での血液の交換がないように分けられている¹⁾。上皮絨毛性胎盤は、子宮内膜管腔上皮細胞が消失するために、(1) 母体毛細血管の内皮細胞、(2) 子宮内膜上皮細胞、(3) 絨毛膜を構成する栄養膜細胞層、(4) 胎児胎盤内の結合組織、(5) 胎児側毛細血管の内皮細胞の合計5つの細胞層が存在する。血絨毛性胎盤では、母体の血液が胎子胎盤の外側に位置する栄養膜細胞と接触するため、栄養やガスは直接(1) 栄養膜細胞で吸収され、(2) 胎児胎盤内の結合組織を経て、(3) 胎児毛細血管に運ばれる(図3)。いずれの胎盤形態でも、母子間を分ける細胞層の数に関係なく、母体からの栄養やガスは介在する細胞や組織層のすべてを通過して胎児血管に到達する必要があり、さらに胎児からの老廃物は母体の循環系に排出されなければならない¹⁾。

以前より、胎盤の進化は最も侵襲性の低い上皮絨毛性胎盤から最も侵襲性の高い血絨毛性胎盤へと進んだと考えられていた。

Wildmanらは、ゲノムおよび形態学的データを系統発生的および統計解析を用いて検証したところ、胎盤の起源は円盤状の形状とげっ歯類だけが持つ迷路性の母胎嵌合層をもつ血絨毛性胎盤様のものであったと提唱した⁵⁾。しかし、ゲノムなどの新しい系統学的解析データは、侵襲性の高い栄養膜細胞がごく最近になって進化したものとする考えを支持していない。例えば、ハイエナは肉食動物に属すが、イヌやネコなどの胎盤とは異なり、血絨毛性胎盤を形成する⁶⁾。このように別々の系統樹に属する哺乳動物種が、様々な胎盤の多様性と類似性を示していることより、哺乳類の胎盤形成が平行・収斂進化をしたと考える方が妥当であろう⁷⁾(図4)。

1.2 合胞体性栄養膜から評価する進化

絨毛膜の構成細胞である合胞体性栄養膜細胞(syncytiotrophoblast cells)は胎児部分の最も外側に位置し、子宮上皮細胞に隣接しており、栄養外胚葉細胞同士の融合から形成され、1個の細胞内に複数の核をもつ。合胞体性栄養膜細胞は、効率的な代謝交換を行い、胎盤性ラクタゲンと絨毛性ゴナドトロピンの産生をするうえ、母体の免疫系による胚への免疫寛容にも関与している^{8, 9)}。血絨毛性胎盤形成において、合胞体性栄養膜細胞は栄養膜層の数に応じて3つのタイプに分類できる。一部のマウス種の胎盤は、単層の合胞体性栄養膜を伴うmonochronal placentaとして特徴付けられ、マウス種のような迷路層をもたないヒト胎盤も、一層の合胞体性栄養膜細胞によって被われているためmonochronal placentaに分類される。対照的に、ネズミ科(Muridae)とキヌゲネズミ科(Cricetidae)に属する動物種

では3層の栄養膜細胞層をもつtrichorial placentaに分類される¹⁰⁾。これは、母方間質や脱落膜に最も近い1層目が単核栄養膜細胞(cytotrophoblast cells)で構成され、2, 3層目は合胞体性栄養膜細胞で構成されている。ビーバー、ウサギ、コウモリは、1層目が合胞体栄養膜細胞、2層目が栄養膜細胞であるdichorial placentaに分類される¹¹⁾。ネコやイヌの食肉類の内皮絨毛性胎盤では2つの栄養膜層をもち、1層目は単核の栄養膜細胞で、2層目は合胞体性栄養膜細胞である。ウシやヒツジなどの反芻動物では、合胞体性栄養膜は形成されず、栄養膜細胞はacytokinetic mitosisにより2核細胞を形成する。それらの2核細胞は、母親の子宮内膜管腔上皮細胞と融合し3核細胞が形成され、子宮上皮細胞下の間質層に局在する¹²⁾。この3核細胞は、合胞体性栄養膜細胞と同様の機能を果たしている可能性がある。ウマ、ラクダ、カバ、クジラ目などの上皮絨毛性胎盤を有する動物では、合胞体性栄養膜は形成されないが、2核細胞は、ウマの胎盤でもみつかっており、ガラゴは合胞体性栄養膜を持つことが知られている¹³⁾。しかしながら、ハイラック(Procaviidae)、テンレック(*Tenrec ecaudatus*)やトビネズミ(Dipodidae)は、血絨毛性胎盤を有するにもかかわらず、合胞体性栄養膜細胞が形成されない¹⁴⁻¹⁶⁾。これらのことから、胎盤は、栄養やガス交換といった同様の機能を果たしているが、それらの形態ははるかに多様化しており、哺乳類の進化は進化系統樹の枠を超えて変化した可能性があることを示している。

1.3 合胞体性栄養膜形成の意義

栄養膜細胞層は栄養やガス交換を効率的に行うために、母体側への浸潤性を示す。しかし、栄養膜細胞の過度な浸潤は子宮内膜にストレスを引き起こすうえ、胚に対する免疫反応や子宮内出血を引き起こす可能性もある。子宮内膜には栄養膜細胞の浸潤を制御する手段があるが、栄養膜細胞が自ら子宮内膜への浸潤を制限している可能性も考えられる。

これらのメカニズムの一つとして、栄養膜細胞の細胞周期の停止による増殖能の抑制があげられる。げっ歯類において細胞分裂を抑制された栄養膜細胞は、核内倍加(endoreduplication)を引き起こし、栄養膜巨核細胞となる。ヒトやマウス種の合胞体性栄養膜は、栄養膜細胞融合によって形成される際に細胞質分裂の阻害と同様に細胞周期を停止し、細胞分裂をしなくなると考えられている¹⁷⁾。以上のことから、合胞体化は栄養膜細胞が、その浸潤を制御するメカニズムとなっている可能性がある。一方、ハイラックスは血絨毛性胎盤を持つことが知られているが、その栄養膜は合胞体性栄養膜を形成しないといったように、異なるクレードで同様の機能が独立して出現することは、平行・収斂進化の主な例である。

2. 胎盤におけるERV

転移因子(transposable elements)は、少なくともヒトゲノムで45%、マウスゲノムの40%を構成し、そのうちERVを含むLTR型レトロトランスポゾン、これらのゲノムの

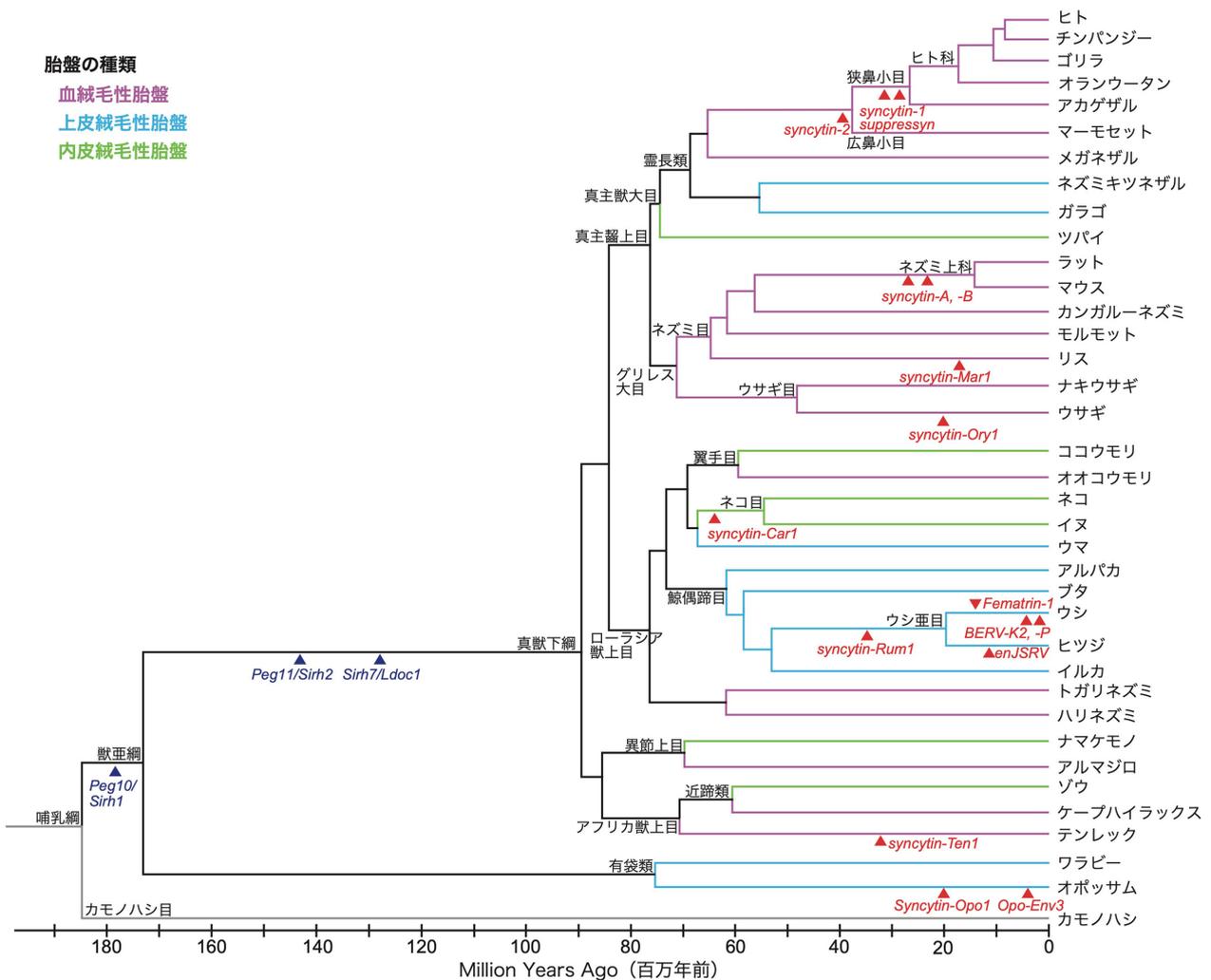


図4 胎盤で機能するLTRトランスポゾンに由来する遺伝子の獲得と哺乳類の系統関係
 哺乳類の系統関係と、LTRトランスポゾンやレトロウイルスが内在化したと推定されるおおよその年代の系統に矢印を置いた。LTRレトロトランスポゾン由来の遺伝子の挿入は青色、ERV由来の遺伝子の挿入は赤色で表記した。系統ごとの胎盤の種類によって線の色を変えた(左上の説明を参照)。哺乳類の系統関係は dos Reis et al. 2012 と TimeTree (<http://www.timetree.org>) のデータに基づく。本図は Imakawa and Nakagawa 2017 を元に作成した。

それぞれ8%と10%を占める^{18,19)}。LTR型レトロトランスポゾンとレトロウイルスの構造は非常に似ており、両方とも転写調節領域として各末端に5'-および3'-LTRsを含み、Gag, Pro, Polタンパク質の転写・翻訳領域も含んでいる。内在性レトロウイルスは膜タンパク質(エンベロープEnv)のスパイク・タンパク質に対応する塩基配列があり、LTR型レトロトランスポゾンではERVにのみ含まれる。どちらのレトロトランスポゾンでも、その多くは塩基配列に塩基の挿入(insertions)と欠損(deletions)などの突然変異(mutation)が存在し、ウイルス自体の遺伝子としては機能しないものが多い。しかしながら、内在化したウイルス遺伝子の塩基領域の一部は未だに転写・翻訳可能な塩基配列を保持し、胎盤や臓器形成などの状況で依然として活発に転

写されている。
 哺乳類の祖先に原始胎盤が出現したのは今から約1億5,000万年~1億6,600万年前と推定されている²⁰⁾。それ以降にも、哺乳動物ゲノムへのLTR型レトロトランスポゾンの挿入・固定化(内在化)は、時々起こっていた可能性がある。また、1億数千万年前に内在化したERVは、胎盤形成そのものに必要であったが、約5,000万年前から現代に至る間に内在化したものは、胎盤の形態学的な多様性と哺乳動物種の進化に貢献したと考えられている。

2.1 Sirh ファミリー

哺乳類においてLTR型レトロトランスポゾンに由来する sushi-ichi 関連レトロトランスポゾン遺伝子(SIRH) ファ

ミリーは、12個の遺伝子 (*Sirh1-12*) で構成されている。本稿では、胎盤の構造と機能に直接関与することが知られている3つの *Sirh* 遺伝子について説明する。

2.1.1 Peg10/*Sirh1*

胎盤の獲得では、まず *Peg10* (paternally expressed gene 10) /*Sirh1* と *Peg11/Sirh2* 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^{21,22}。父親性発現の *Peg10/Sirh1* 遺伝子は、有袋類と真獣類のゲノム上の同じ位置に存在し、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、共通祖先で挿入・固定された遺伝子である。*Peg10/Sirh1* には、レトロウイルスの *gag*, *pro* および *pol* 領域が含まれており、栄養膜と胎盤でのみ発現されている²³。*Peg10/Sirh1* 遺伝子をノックアウトされたマウスは、胎盤の海綿状細胞層と母子間の代謝交換に不可欠な迷路層が形成されず、妊娠中期に胎生致死に至る²⁴。この遺伝子の組み込みは、単孔類との分岐後の約1億4,800万年前に起こったと考えられており、これが原始胎盤出現の時期と一致する。

2.1.2 Peg11/*Sirh2*

父親性発現の *Peg11/Sirh2* は、レトロウイルスの *gag*, *pro* および *pol* 領域を持つ遺伝子である。この遺伝子は有袋類には存在せず、真獣類にのみ保存されていることにより、真獣類の共通祖先で挿入されたと考えられている。*Peg11/Sirh2* 遺伝子をノックアウトされたマウスは、胎盤迷路層における胎子毛細血管の形成不全が生じ、胎子期後期致死と新生子致死 (生後直死) が起こる。そのため、この遺伝子は、尿絨毛膜での代謝交換の場で機能すると考えられている²⁵。

2.1.3 *Sirh7/Ldoc1*

近年、もう1つのLTR型レトロトランスポゾン由来の *Sirh7/Ldoc* [sushi-ichi retrotransposon homolog 7/leucine zipper, downregulated cancer1, mammalian retrotransposon-derived 7 (*Mart7*)] が発見された。この遺伝子の欠損は、栄養膜細胞の分化や成熟に異常がみられ、栄養膜巨核細胞からの胎盤プロゲステロンと胎盤性ラクタゲン (PL1) の過剰産生につながった²⁶。

これらに基づくと、*Sirh* 遺伝子ファミリーは原始的な胎盤の出現に貢献したと考えられる。ただし、これまでに検証された *Sirh* 遺伝子ファミリーの機能は、現在のマウスにおける遺伝子ノックアウト研究に由来することを強調しておく。これらの *Sirh* 遺伝子ファミリーが現在認識されている機能を獲得するには何万年もの年月が必要だったに違いない。また、*Sirh* 遺伝子ファミリーは哺乳類のいかなる種にも跨って同じ遺伝子座に組み込まれているという事実は、これらの遺伝子が哺乳類の進化を通じて高度に保存されていることを強く示唆している。

2.2 ERV-env

Sirh 遺伝子ファミリーが哺乳動物種の胎盤構造の獲得に働いたことには疑いの余地はない。しかしながら、現在みられる哺乳動物種の胎盤の機能や形態の多様性は、哺乳類ゲノムに挿入・固定されている *Sirh* 遺伝子ファミリーの機能だけでは説明することができない。一方、ERV由来の遺伝子ファミリーのゲノムへの組み込みは、哺乳動物種間で独立して複数回発生し、哺乳類胎盤の構造の多様化だけでなく、効率的な代謝交換システムの構築に関与した有力な遺伝子候補になりうる。

近年、哺乳動物の ERV-env は、特定の受容体を介した宿主細胞へのウイルス感染に必要であり、その宿主細胞でも細胞間融合を誘導できるため、広く研究されている^{7,27}。ヒトでは、18個の ERV-env 遺伝子の塩基構造が特定されており、そのうち16個の遺伝子の *env* 領域の塩基配列は完全に保存され、いくつかの正常な組織で転写されている。ただし、これら18個の ERV-env 遺伝子のうち、2個だけが細胞融合活性を持っている^{28,29}。

2.2.1 Syncytin-1 および Syncytin-2

Syncytin-1 は HERV-W ファミリー、*Syncytin-2* は HERV-FRD ファミリーの *env* 遺伝子由来で、これらの遺伝子は細胞融合活性も持っている³⁰。2000年に、*Syncytin-1* はヒト合胞体性栄養膜細胞で発見され、その融合誘導活性は栄養膜細胞で示された^{31,32}。*In vitro* アッセイにおいて、ヒト絨毛性がん BeWo 細胞をフォルスコリンで処理すると、細胞内シグナル伝達 cAMP レベルの増加から *Syncytin-1* mRNA が増加し、BeWo 細胞の融合活性が生じる。*Syncytin-1* の細胞融合活性は、胎盤や栄養膜細胞以外でもアフリカミドリザル COS-7、ヒト横紋筋肉腫 TE671、およびヒト胚性腎臓由来の HEK293 T 細胞において、細胞内に *Syncytin-1* 発現プラスミドを導入したときに実証された。さらに、*Syncytin-1* の融合活性は、哺乳動物種以外の昆虫 Sf9 細胞でも示された。一方、*Syncytin-2* はネコ神経 G355-5 細胞とヒト HEK293 T 細胞に融合活性を示した³⁰。*Syncytin-1* と -2 はともに538アミノ酸からなり、Furin protease によって表面 (SU) と膜貫通 (TM) サブユニットに分解され、サブユニット同士の相互作用によって細胞融合能を発揮する^{33,34}。また、*Syncytin-1* および -2 遺伝子の発現には転写因子 GCM1 (glial cell missing factor homolog 1) が関与している。GCM 遺伝子ファミリーはショウジョウバエにも存在し、マスター制御因子とみなされていることから、*Syncytin-1* 遺伝子の発現に GCM1 遺伝子がマスター制御因子として関わっていてもおかしくない³⁵。以前、細胞膜貫通型タンパク質 CD9 は GCM1 遺伝子の制御因子として発見された³⁶。このタンパク質は、がん細胞の浸潤行動および、精子・卵子間の細胞融合ならびに、筋肉発達における筋芽細胞の形成にも関与している^{37,38}。フォルスコリンで処理された BeWo 細胞では、CD9 mRNA とタンパク質が増加する。さらに、CD9 はプロテインキナーゼ A (PKA) 阻害剤によって抑制されるこ

とより、cAMP/PKA細胞内シグナル伝達システムを介したGCM1発現調節をしている可能性が高い。同様に、Syncytin-2はGCM1によって調節されているため、CD9およびcAMP/PKAシグナル伝達によっても調節されている可能性がある。さらに、ヒトHEK293T細胞でのSyncytin-2遺伝子は、CpGメチル化によって後成的にサイレンシングされる³⁹⁾。これらの結果は、Syncytin-1および-2遺伝子発現調節が完全に解明されていないことを意味しており、さらなる検証が必要である。

Syncytin-1および-2の発現パターンには明確に差異が認められる。In situ hybridizationによって、Syncytin-1 mRNAは合胞体性栄養膜細胞にみられるが、Syncytin-2 mRNAは栄養膜細胞のみにみられる。さらに、Syncytin-1 mRNA量は妊娠期間全体を通して維持されているが、Syncytin-2 mRNA発現レベルは妊娠後期に減少する⁴⁰⁾。Syncytin-1受容体ASCT2 (Alanine Serine Cysteine Transporter2, SLC1A5とも呼ばれる)は、合胞体性栄養膜細胞と栄養膜細胞の両方で発現するが⁴¹⁾、Syncytin-2受容体のMFSD (Major Facilitator Superfamily Domain Containing 2)の発現は栄養膜細胞のみでみられる⁴²⁾。フォルスコリン処理されたBeWo細胞では、Syncytin-1 mRNAが増加するが、その受容体ASCT2 mRNAレベルは低下する⁴³⁾。これらの結果は、Syncytin-1が一次標的の合胞体性栄養膜細胞だけでなく、栄養膜細胞にも作用する可能性を示唆している。一方、MFSD2の発現は栄養膜細胞のみでみられることより、Syncytin-2は栄養膜細胞のみで機能した可能性がある⁴⁴⁾。また、Syncytin-2組換えタンパク質は免疫寛容性を持っているが、Syncytin-1タンパク質は持っていないため、ヒトではそれぞれ機能が異なっている可能性が高い。

胚・栄養膜細胞の融合は胎盤の形成になくなくてはならない現象である。胎盤ではSyncytin-1、-2などが働き、栄養膜細胞の融合が行われているが、近年、これに拮抗するSuppressynと呼ばれる遺伝子が発見された。これはHERV-fb1に由来するERV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レセプター (ASCT2) に結合し、Syncytin-1と拮抗する。加えて、Suppressynが他のHERVエンベロープ由来タンパク質とは異なる機能を果たす可能性があることも示唆されている⁴⁵⁾。

分子進化解析では、Syncytin-1遺伝子は類人猿・狭鼻猿類のみにみられ、広鼻猿類にはみられないことから、霊長類がSyncytin-1を獲得したのは狭鼻猿類が広鼻猿類から分岐した約4,000万年前以降に霊長類系統に入ったことを示している⁴⁶⁾。また、狭鼻猿類のゲノムに存在するSyncytin-1遺伝子には中途終止コドンやフレームシフト変異が存在することより、Syncytin-1の機能の獲得は、類人猿と旧世界ザルが分岐した約2,500万年前であると考えられる。しかしながら、旧世界ザルがSyncytin-1遺伝子を利用できたかどうかは判断できない。いずれにしても、胎盤形成におけるSyncytin-1の機能は狭鼻猿類系統間でも異なる。一方、Syncytin-2は広

鼻猿類からヒトにまで配列が高度に保存され (> 87.9%)、系統に関係なく融合活性を持つことから、この遺伝子が約4,000万年以上も前に獲得され、今日まで続いていることを示唆している³⁰⁾。これらの結果に基づくと、(a) Syncytin-2が類人猿系統に侵入し、免疫寛容と栄養膜細胞の融合活性の獲得を経て、原始的な合胞体性栄養膜の形成をし、(b) Syncytin-1が狭鼻猿類系統に入ったと仮定することができる。

霊長類でSyncytin-1は合胞体性栄養膜細胞と栄養膜細胞の融合を可能にし、ヒトでの栄養膜細胞の融合は妊娠7～11日目に開始されて妊娠終期まで続く。合胞体性栄養膜細胞は増殖する能力を持たないため⁴⁷⁾、合胞体性栄養膜細胞は栄養膜細胞同士の融合により、細胞活動を維持している可能性がある。この考えに基づくと、胎盤機能を長く維持するためにSyncytin-1が必要となる可能性がある。事実、Syncytin-1を持たない広鼻猿類と旧世界猿の妊娠期間は比較的短くなっている。

2.2.2 Syncytin-AおよびSyncytin-B

マウスのゲノム解析結果から、in vitroで融合活性を持つ2つのenv遺伝子がみつきり、それらはSyncytin-Aおよび-Bと名付けられた⁴⁸⁾。マウス胎盤は3つの栄養膜層で構成され、Syncytin-Aは2層目の合胞体性栄養膜層I (syncytiotrophoblast layer-1, ST-I) に発現し、Syncytin-Bは、3層目と合胞体性栄養膜層II (ST-II) に局在している⁴⁹⁾。Syncytin-Aの欠損では、ST-I層の形成がみられず、胎子は妊娠11.5日から13.5日の間に死亡する⁵⁰⁾。また、Syncytin-AはサルVero細胞やヒト293T細胞など、異種細胞を含めた様々な細胞で融合活性を示すことや、その発現部位から栄養膜細胞の融合に関与していることが考えられる。Syncytin-A遺伝子は、ヒトSyncytin-1、-2と同様に転写因子GCM1によって制御されていることが明らかにされた⁵¹⁾。これは、マウスにおけるGCM1遺伝子の欠損が胎盤迷路層の形成不全を引き起こすという実験結果と一致する⁵²⁾。一方で、Syncytin-B遺伝子の欠損では十分なST-II層の形成がみられず、胚死滅もしないが、Syncytin-Bが機能している対照マウスよりも出生した仔の数が少なかった。

In vitroアッセイにおいて、Syncytin-BはイヌMDCK細胞でのみ融合活性を示すが、強力な免疫抑制活性を持っているという結果になった⁴⁴⁾。また、マウスの栄養膜細胞におけるSyncytin-Bの発現は、ヒトの栄養膜細胞におけるSyncytin-2の結果とよく似たものだった。

系統学的解析において、マウスはSyncytin-AとSyncytin-Bを約2,000万年前に獲得したと考えられている (図4)。その根拠として、げっ歯類のうちSyncytin-Aと-Bを持つものはネズミ上科 (マウス、ラット、野ネズミ、スナネズミやハムスター) のみであり、これらの動物種はtrichorial placentaを持っている⁴⁸⁾。それ以外のげっ歯類 (モルモット、リスやウッドチャック) 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。

2.2.3 反芻動物のERV

前述の哺乳動物種とは異なり、反芻動物の胎盤には合胞体性栄養膜細胞が存在しない。その代わりに、反芻動物は2核の栄養膜細胞 (binucleate cells, BNCs) を形成し、これが母体の子宮内膜上皮細胞と融合する。そのために、ウシでは3核細胞 (trinucleate cells) が、ヒツジやヤギでは多核細胞 (syncytial plaque) が子宮内膜層内に存在する。しかし、母子境界面での胚・子宮上皮細胞という異種細胞同士の融合は反芻動物のみにみられる現象で、他の動物種にはみられないことに注意すべきである。ウシゲノムをBLAST検索したところ、まずERV-*env*遺伝子に由来する2つのORF領域が見つかり、それらをウシ内在性レトロウイルスK1 (BERV-K1) およびK2 (BERV-K2) と名付けた⁵³⁾。最近ではこれらのERVに加えて、Syncytin-Rum1⁵⁴⁾、BERV-P⁵⁵⁾ もみつかってきた。また、ヒツジでは内在性 Jaagsiekte sheep retroviruses (enJSRV) などのERV領域もみついている⁵⁶⁾。

BERV-K1では、ウイルス遺伝子のgagおよびpol領域が失われており、env領域だけが良く保存されているのに対し、BERV-K2では、gag, pol, およびenv領域全てが良く保存されている。しかしながら、BERV-K1 mRNAおよびタンパク質の発現は、BERV-K2の発現よりもはるかに大きい⁵³⁾。BERV-K1とBERV-K2の塩基配列の保存性の比較から、BERV-K1の挿入はBERV-K2よりもはるかに早く発生しており、この塩基構造の違いから、これらの遺伝子の相対的な内在化の程度を反映していると考えられる。

最近、BERV-K1のエンベロープ・タンパク質は強力な融合活性を有することが証明され、3核細胞形成に関与する主要な因子と考えられている。そのため、BERV-K1のERV-*env*はFemmatrin-1 (Fetomaternal trinucleate cell inducer 1) と名付けられた⁵⁷⁾。また、Syncytin-Rum 1がウシやヒツジなどの反芻動物のゲノムに組み込まれ、両種の母子細胞間融合に関与している可能性があることも報告された⁵⁴⁾。しかし、Femmatrin-1はウシ上科のゲノムに組み込まれているが、ヒツジやヤギのゲノムには組み込まれていない。現在、Syncytin-Rum 1は反芻動物のゲノムに約2,000万年前に組み込まれ、Femmatrin-1はウシ上科のゲノムに約1,100万年前に組み込まれたと考えられている。

3. バトンパスによる遺伝子進化の仮説

Peg10/Sirh1やPeg11/Sirh2など「哺乳類・真獣類共通」の遺伝子が、初期胎盤の獲得に寄与したことは疑いの余地はない。しかしながら、現在の哺乳動物種の胎盤にみられる多様性は「哺乳類・真獣類共通」の遺伝子群のみによって説明することは難しい。そこで、哺乳動物種が獲得した胎盤は、その基本的な機能を維持しつつ、更なる適応・進化を求めて新しいERV由来の遺伝子に、いくつかの機能が置き換わることにより、現在みられる種・系統特異的な胎盤の多様性を獲得したと考えることはできないだろうか。

ERVに由来する遺伝子は、基本的にゲノム内でクラスター (gene family) を形成していないことより、主にウイル

ス感染やレトロトランスポジションを介して出現したと考えることができる。例えば、BERV-K1はFAT tumor suppressor homolog 2 (FAT2) 遺伝子の18番目のイントロン内に組み込まれており、その領域の周囲にERV配列に相当するものはみつからない^{53, 57)}。さらに、外因性ウイルスの組み込みは、ウイルス遺伝子の様々な領域 (gag, pol, env など) と転写調節部位 (LTR) に常に関連しているため、ウイルス遺伝子の内在化 (endogenization) は機能的および遺伝子座特異的に行われる必要がある。実際、哺乳動物種に挿入・固定されたERV-*env*遺伝子群の系統学的解析では、その多くが「syncytin」と類似の配列を持つものの、それらのERV-*env*遺伝子群での分子進化系統樹を作成してみると、これらの遺伝子群の起源が異なることを明確に示している (図5)。

ヒトのSyncytin-1, -2遺伝子ではともにGCM1が転写因子として働いており、その上流にはCD9が関与していることが分かっている^{35, 36)}。同様に、マウスSyncytin-Aおよび-B遺伝子でもGCM1が転写因子として働いており、CD9の関わりも示唆されている⁵¹⁾。生物進化において、1つのERVが組み込まれた後に、別のERVの組み込みが続く場合もある。その新たに獲得されたERVは、栄養膜細胞融合や胎盤の形態形成において、既存の遺伝子よりも優れた機能を発揮する場合もある。例えば、Femmatrin-1は生理的条件下で、それ以前に獲得されたSyncytin-Rum1よりもはるかに優れた融合能を有していた^{53, 55, 57)}。これまでのデータから、各哺乳動物種はそれぞれに固有のウイルス遺伝子群を獲得してきたと言える (図4, 5)。少なくともヒト、マウスやウシでは、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、同じ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「(機能の) バトンパス (譲渡)」仮説を提唱した。そこでの新規ERV由来の遺伝子は、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。このバトンパス仮説では最小限の変更で「機能の譲渡」が起こるために、短期間での進化と多様性を可能にしたと考えることができる。

我々のバトンパス仮説は、連続して獲得した新規ERV由来の遺伝子が既存の遺伝子に置き換わり、以前の遺伝子よりも効果的に機能を発現するというものである。新規ERVによる機能のバトンパスという現象は、インターフェロン (IFN) を含む自然免疫など、胎盤形成以外での生物学的システムでもみられる。IFNは、ウイルスなどの感染時に放出される炎症性シグナル伝達分子であり、IFN誘導性遺伝子 (interferon stimulated genes, ISGs) の転写を促進する。ISGsが活性化しているとき、これらの遺伝子のプロモーター領域には、転写因子interferon regulatory factor (IRF) と signal transducer and activator of transcription (STAT) が結合している⁵⁸⁾。実際、ChuongらはERVが部位特異的に感染宿主のゲノムに入り込み、IFN誘導性エンハンサーを分散させ、IFN応答遺伝子群の転写ネットワークを形成した可能性があるとして報告した。ガンマ・レトロウイルス属のMER41は、

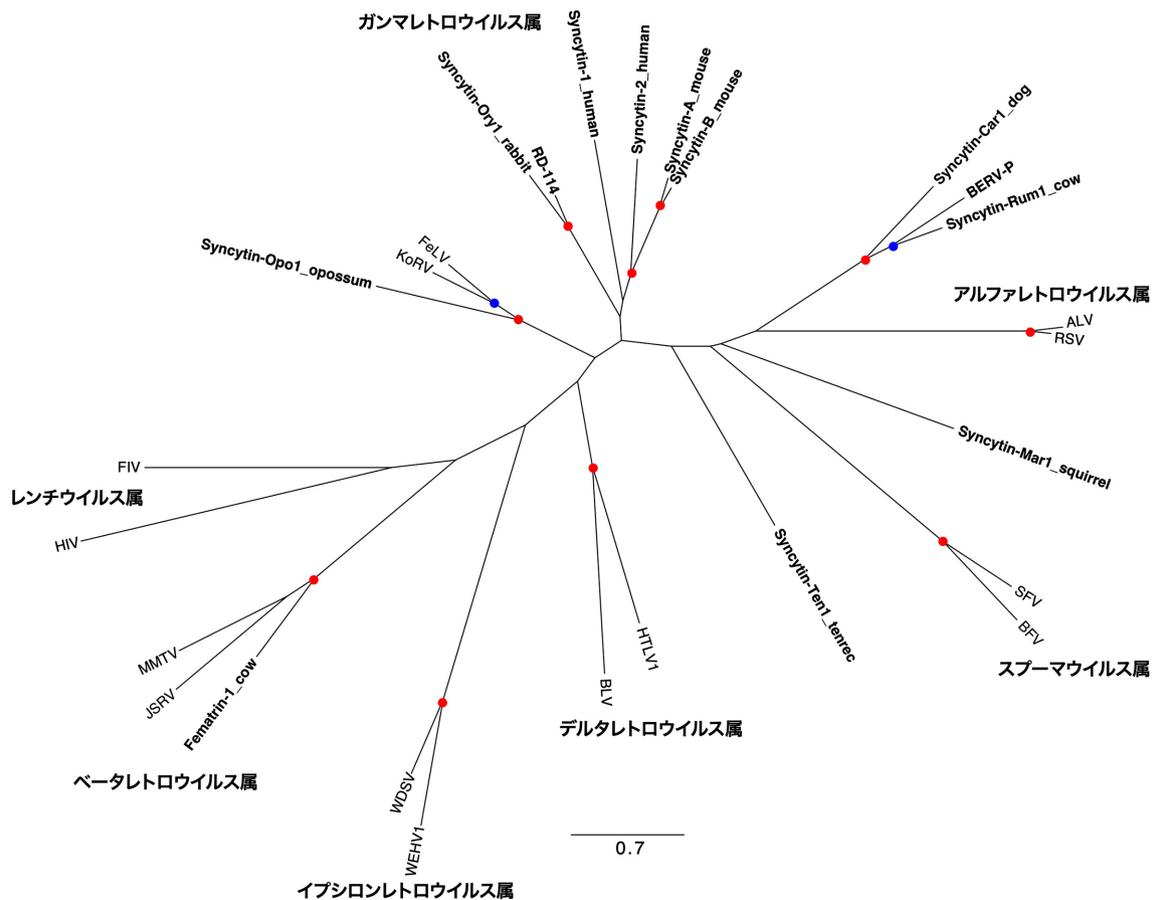


図5 胎盤で機能するERV由来の遺伝子の分子進化系統樹

ERV由来の胎盤で機能する遺伝子(太字)とレトロウイルスの膜タンパク質のアミノ酸配列をもとに構築した分子進化系統樹。アライメントはMAFFTソフトウェアのL-INS-iプログラム, 系統樹の構成は最尤法をベースとしたRAxMLプログラムを用い, 1,000回のブートストラップ検定を行った。赤色は95%以上, 青色は80%以上ブートストラップ検定で保存されていたクレードを示す。本図はImakawa and Nakagawa 2017を元に作成した。

約4,500万年～6,000万年前に真猿類の祖先のゲノムに内在化されており, ヒトゲノムでは6種類のMER41(MER41A, B, C, D, E, G)配列が存在している⁵⁹⁾。ヒトゲノムにおけるこれらのERV遺伝子の欠損では, 炎症やアポトーシスに関連するインフラマソーム(inflammasome)遺伝子

Absent in Melanoma (AIM2)を含む, 隣接するインターフェロン・ガンマ(IFNG)誘導遺伝子の発現がみられなかった。これらの著者は, MER41と起源が異なるが, 似た機能をもつERVがキツネザル, スズメバチコウモリ, イヌ・ネコ, および反芻類の祖先で内在化していることも発見した。また

図5に示した各ウイルス遺伝子

本研究で使用したERV由来のEnv遺伝子の12個のアミノ酸配列を以下に示す。

BERV-P: ウシのenv遺伝子 (BAN14723.1), Fematrin-1_cow: ウシのFematrin-1遺伝子 (BAJ72717.1), Syncytin-1_human: ヒトのSyncytin-1遺伝子 (NP_055405.3), Syncytin-2_human: ヒトのSyncytin-2遺伝子 (NP_997465.1), Syncytin-A_mouse: マウスのSyncytin-A遺伝子 (NP_001013773.1), Syncytin-B_mouse: マウスのSyncytin-B遺伝子 (NP_775596.1), Syncytin-car1_dog: イヌのSyncytin-Car1遺伝子 (AEX32761.1), Syncytin-Mar1_squirrel: リスのSyncytin-Mar1遺伝子 (AHZ59674.1), Syncytin-Opo1_opossum: オポッサムのSyncytin-Opo1遺伝子 (NP_001295306.1), Syncytin-Ory1_rabbit: ウサギのSyncytinOry1遺伝子 (ACZ58381.1), Syncytin-Rum1_cow: ウシのSyncytin-Rum1遺伝子 (NP_001292383.1), Syncytin-Ten1_tenrec: テンレックのSyncytin-Ten1遺伝子 (NP_001292515.1)

外因性レトロウイルスの15個のEnvアミノ酸配列を以下に示す。

ALV: トリ白血病ウイルス (Alpharetrovirus, AAU06813.1), BFV: ウシ泡沫状ウイルス (Spumavirus, AAN08117.1), BLV: ウシ白血病ウイルス (Deltaretrovirus, AAO21338.2), FeLV: ネコ白血病ウイルス (Gammaretrovirus, AAA93093.1), FIV: ネコ免疫不全ウイルス (Lentivirus, NP_040976.1), HIV1: ヒト免疫不全ウイルス1 (Lentivirus, AAC97548.1), HTLV1: ヒトT細胞白血病ウイルス1型 (Deltaretrovirus, NP_057865.1), JSRV: Jaagsiekteヒツジレトロウイルス (Betaretrovirus, AAD45228.2), KoR: コアラレトロウイルス (Gammaretrovirus, AAF15099.1), MMTV: マウス乳癌ウイルス (Betaretrovirus, BAA03768.1), RD114: RD114レトロウイルス (Gammaretrovirus, YP_001497149.1), RSV: ラウス肉腫ウイルス (Alpharetrovirus, NP_056885.1), SFV: サル泡沫状ウイルス (Spumavirus, AAA19979.1), WDSV: ウォールアイ皮膚肉腫ウイルス (Epsilonretrovirus, NP_045939.1), WEHV1: ウォールアイ表皮過形成ウイルス1型 (Epsilonretrovirus, AAD30049.1)

HeLa細胞では、イヌやウシの*MER41*様LTRを組み込んだ*IFNG*遺伝子レポーターを導入すると非常に高いレポーター活性を示した。これらのERVは個別に複数の哺乳類系統に入り込み、それぞれ独立してIRF制御ネットワークを拡大した可能性があることを示唆している。

この仮説は、哺乳動物種間に存在する様々な胎盤構造を説明するためにも適用できる。動物種によって、胎盤を構成する栄養膜細胞には浸潤性または非浸潤性という差異が存在することなどから、胎児胎盤および母側胎盤（子宮内膜構造）は豊富な多様性を示す。ところが、浸潤性、非浸潤性にかかわらず、栄養膜細胞は栄養・ガスなど物質交換機能を持つとともに、多核細胞化するという特徴を有する。加えて、*Peg10/Sirh1*遺伝子配列は哺乳類のゲノムに広く分布していることと、その遺伝子欠損マウスには胎盤ができないという事実は、この遺伝子が原始胎盤への進化に必要であったはずである^{23,24}。次に、原始胎盤構造は胎児を保護し栄養やガス交換という機能を維持しながら、*ERV-env*などの新しい遺伝子が次々と組み込まれることで構造が多様化していった。さらに、生殖上の利点を有する新しいERVがホストゲノムに組み込まれると、それらの新しいERVは個体群に保持され、最終的にその動物種に共通するようになった。

4. Conclusion

多くの哺乳類の胎盤は、絨毛膜卵嚢胎盤、卵黄嚢や逆卵黄嚢胎盤から尿絨毛膜胎盤へと進化していった。新しい系統学的解析において、哺乳動物の胎盤の起源が上皮絨毛性胎盤でも血絨毛性胎盤様のものでもなかったということが明らかになってきた。また、別々の系統樹に属する哺乳動物種が、様々な胎盤の多様性と類似性を示していることから、哺乳類の胎盤形成が平行・収斂進化をしたと考えられる(図4)。胎盤は、栄養やガス交換といった同様の機能を果たしているが、それらの形態ははるかに多様化しており、哺乳類の進化は進化系統樹の枠を超えて変化する可能性があると考えられる。

また本稿では、新たに獲得した胎盤発生に関与するLTRトランスポゾン由来の遺伝子について、胎盤の多様性と哺乳類の進化に関連付けて説明した。これまでのデータを統合すると、*Peg10/Sirh1*、*Peg11/Sirh2*、および*Ldoc1/Sirh7*が原始胎盤に組み込まれたものの、後に融合活性を有する*ERV-env*が独立かつ連続して哺乳類ゲノムに組み込まれ、胎盤形態の多様性を生み出した。また、哺乳動物種それぞれの*ERV-env*は起源が異なる遺伝子にもかかわらず、同様の融合機能を示すことに注意する必要がある。これらの*ERV-env*の独立した組み込みにより、比較的短時間で胎盤構造の多様化が可能になったに違いない。このことをバトンパス仮説では、新たに獲得された*ERV-env*が既存の遺伝子に取って代わり、以前の遺伝子よりもはるかに優れた機能を発揮した「機能の譲渡」と考える。

新しいERVの組み込みによって機能が引き継がれた後、古い遺伝子や既存の遺伝子は塩基の変異や削除によって機

能を失う傾向がある。これらの遺伝子が元の機能を失っていたとしても、他の細胞や組織で別の機能を獲得している可能性もある。これが事実である場合、哺乳動物の胎盤の進化はまだ終わっていないと考えられ、現在みられる胎盤はまだまだ進化していく可能性がある。哺乳動物の胎盤でみられた機能のバトンパスは、胎盤形成やその機能の維持と生体防御機構(*IFNG*)のみに限られた現象なのだろうか？他の機能遺伝子や機能遺伝子の発現制御機構にバトンパスの例はないのだろうか、それらを含めて今後の研究が待たれる。

文 献

- 1) Senger, P.L. (2002): Pathways to Pregnancy and Parturition, 2nd edition. Current Conceptions, Inc., USA.
- 2) Mess, A. and Carter, A.M. (2006): Evolutionary transformations of fetal membrane characters in Eutheria with special reference to Afrotheria. *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.*, 306, 140–163.
- 3) Mess, A. (2003): Evolutionary transformations of chorioallantoic placental characters in rodentia with special reference to hystricognath species. *J. Exp. Zool. A Comp. Exp. Biol.*, 299, 78–98.
- 4) Carter, A.M. and Enders, A.C. (2004): Comparative aspects of trophoblast development and placentation. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2, 46.
- 5) Wildman, D.E., Chen, C., Erez, O., Grossman, L.I. and Goodman, R.R. (2006): Evolution of the mammalian placenta revealed by phylogenetic analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 3203–3208.
- 6) Enders, A.C., Blankenship, T.N., Conley, A.J. and Jones, C.J. (2006): Structure of the midterm placenta of the spotted hyena, *Crocuta crocuta*, with emphasis on the diverse hemophagous regions. *Cells Tissues Organs*, 183, 141–155.
- 7) Lavialle, C., Cornelis, G., Dupressoir, A., Esnault, C., Heidmann, O., Vernochet, C. and Heidmann, T. (2013): Paleovirology of ‘syncytins’, retroviral env genes exapted for a role in placentation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 368, 20120507.
- 8) Bischof, P. and Irminger-Finger, I. (2005): The human cytotrophoblastic cell, a mononuclear chameleon. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 37, 1–16.
- 9) Moffett, A. and Loke, C. (2006): Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nat. Rev. Immunol.*, 6, 584–594.
- 10) Bhiwgade, D.A., Singh, A.B., Manekar, A.P. and Menon, S.N. (1992): Ultrastructural development of chorioallantoic placenta in the Indian *Miniopterus bat*, *Miniopterus schreibersii fuliginosus* (Hodgson). *Acta Anat (Basel)*, 145, 248–264.
- 11) Carter, A.M. and Mess, A. (2008): Evolution of the placenta and associated reproductive characters in bats. *J. Exp. Zool. Part B Mol. Develop. Evol.*, 310B, 428–449.
- 12) Wooding, F.B. (1984): Role of binucleate cells in fetomaternal cell fusion at implantation in the sheep. *Am. J. Anat.*, 170, 233–250.

- 13) Butler, H. (1959): An early blastocyst of the lesser bush baby (*Galago senegalensis senegalensis*); a preliminary account. *J. Anat.*, 93, 257-261.
- 14) King, B.F. and Mossman, H.W. (1974): The fetal membranes and unusual giant cell placenta of the jerboa (*Jaculus*) and jumping mouse (*Zapus*). *Am. J. Anat.*, 140, 405-431.
- 15) Oduor-Okelo, D., Musewe, V.O. and Gombe, S. (1983): Electron microscopic study of the chorioallantoic placenta of the rock hyrax (*Heterohyrax brucei*). *J. Reprod. Fertil.*, 68, 311-318.
- 16) Carter, A.M., Blankenship, T.N., Künzle, H. and Enders, A.C. (2004): Structure of the definitive placenta of the tenrec, *Echinops telfairi*. *Placenta*, 25, 218-232.
- 17) Huppertz, B., Kaufmann, P. and Kingdom, J. (2002): Trophoblast turnover in health and disease. *Fetal. Matern. Med. Rev.*, 13, 103-118.
- 18) Lander, E.S., Linton, L.M., Birren, B., et al. (2001): Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409, 860-921.
- 19) Chinwalla, A.T., Cook, L.L., Delehaunty, K.D., et al. (2002): Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, 429, 520-562.
- 20) Luo, Z.X., Yuan, C.X., Meng, Q.J. and Ji, Q. (2011): A Jurassic eutherian mammal and divergence of marsupials and placentals. *Nature*, 476, 442-445.
- 21) Ono, R., Kobayashi, S., Wagatsuma, H., Aisaka, K., Kohda, T., Kaneko-Ishino, T. and Ishino, F. (2001): A retrotransposon-derived gene, PEG10, is a novel imprinted gene located on human chromosome 7q21. *Genomics*, 73, 232-237.
- 22) Kaneko, T. and Ishino, F. (2016): Evolution of brain functions in mammals and LTR retrotransposon-derived genes. *Uirusu*, 66, 11-20.
- 23) Suzuki, S., Ono, R., Narita, T., Pask, A.J., Shaw, G., Wang, C., Kohda, T., Alsop, A.E., Marshall Graves, J.A., Kohara, Y., Ishino, F., Renfree, M.B. and Kaneko-Ishino, T. (2007): Retrotransposon silencing by DNA methylation can drive mammalian genomic imprinting. *PLoS Genet.*, 3, e55.
- 24) 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. and Ishino, F. (2006): Deletion of Peg10, an imprinted gene acquired from a retrotransposon, causes early embryonic lethality. *Nat. Genet.*, 38, 101-106.
- 25) Kitazawa, M., Tamura, M., Kaneko, T. and Ishino, F. (2017): Severe damage to the placental fetal capillary network causes mid- to late fetal lethality and reduction in placental size in Peg11/Rtl1 KO mice. *Genes Cells*, 22, 174-188.
- 26) Naruse, M., Ono, R., Irie, M., Nakamura, K., Furuse T., Hino, T., Oda, K., Kashimura, M., Yamada, I., Wakana, S., Yokoyama, M., Ishino, F. and Kaneko-Ishino, T. (2014): Sirh7/Ldoc1 knockout mice exhibit placental P4 overproduction and delayed parturition. *Development*, 141, 4763-4771.
- 27) Dupressoir, A., Lavialle, C. and Heidmann, T. (2012): From ancestral infectious retroviruses to bona fide cellular genes: role of the captured syncytins in placentation. *Placenta*, 33, 663-671.
- 28) de Parseval, N., Lazar, V., Casella, J.F., Benit, L. and Heidmann, T. (2003): Survey of human genes of retroviral origin: identification and transcriptome of the genes with coding capacity for complete envelope protein. *J. Virol.*, 77, 10414-10422.
- 29) Blaise, S., de Parseval, N. and Heidmann, T. (2005): Functional characterization of two newly identified human endogenous retroviruses coding envelope genes. *Retrovirology*, 2, 19.
- 30) Blaise, S., de Parseval, N., Benit, L. and Heidmann, T. (2003): Genomewide screening for fusogenic human endogenous retrovirus envelopes identifies syncytin-2, a gene conserved on primate evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 13013-13018.
- 31) Mi, S., Lee, X., Li, X., Veldman, G.M., Finnerty, H., Racie, L., LaVallie, E., Tang, X.Y., Edouard, P., Howes, S., Keith, J.C.Jr and McCoy, J.M. (2000): Syncytin is a captive envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature*, 403, 785-789.
- 32) Kudaka, W., Oda, T., Jinno, Y., Yoshimi, N. and Aoki, Y. (2008): Cellular localization of placenta specific human endogenous retrovirus (HERV) transcripts and their possible implication in pregnancy-induced hypertension. *Placenta*, 29, 282-289.
- 33) Chang, C., Chen, P.T., Chang, G.D., Huang, C.J. and Chen, H. (2004): Functional characterization of the placental fusogenic membrane protein syncytin. *Biol. Reprod.*, 71, 1956-1962.
- 34) Chen, C.P., Chen, L.F., Yang, S.R., Chen, C.Y., Ko, C.C., Chang, G.D. and Chen, H. (2008): Functional characterization of the human placental fusogenic membrane protein syncytin 2. *Biol. Reprod.*, 79, 815-823.
- 35) Yu, C., Shen, K., Lin, M., Chen, P., Lin, C., Chang, G.D. and Chen, H. (2002): GCMA regulates the syncytin-mediated trophoblastic fusion. *J. Biol. Chem.*, 277, 50062-50068.
- 36) Muroi, Y., Sakurai, T., Hanashi, A., Kubota, K., Nagaoka, K. and Imakawa, K. (2009): CD9 regulates transcription factor GCM1 and ERVWE1 expression through the cAMP/protein kinase A signaling pathway. *Reproduction*, 138, 945-951.
- 37) Tachibana, I. and Helmer, M.E. (1999): Role of transmembrane 4 superfamily (TM4SF) proteins CD9 and CD81 in muscle cell fusion and myotube maintenance. *J. Cell Biol.*, 146, 893-904.
- 38) Le Naour, F., Rubinstein, E., Jasmin, C., Prenant, M. and Boucheix, C. (2000): Severely reduced female fertility in CD9-deficient mice. *Science*, 287, 319-321.
- 39) Liang, C.Y., Wang, L.J., Chen, C.P., Chen, L.F., Chen, Y.H. and Chen, H. (2010): GCM1 regulation of the expression of syncytin-2 and its cognate receptor MFSD2A in human placenta. *Biol. Reprod.*, 83, 387-395.

- 40) Okahara, G., Matsubara, S., Oda, T., Sugimoto, J., Jinno, Y. and Kanaya, F. (2004): Expression analyses of human endogenous retroviruses (HERVs): tissue-specific and dedevelopmental stagedependent expression of HERVs. *Genomics*, 84, 982–990.
- 41) Blond, J.L., Lavillette, D., Cheynet, V., Bouton, O., Oriol, G., Chapel-Fernandes, S., Mandrand, B., Mallet, F. and Cosset, F.L. (2000): 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.
- 42) Hayward, M.D., Pötgens, A.J., Drewlo, S., Kaufmann, P. and Rasko, J.E. (2007): Distribution of human endogenous retrovirus type W receptor in normal human villous placenta. *Pathology*, 39, 406–412.
- 43) Kudo, Y. and Boyd, C.A. (2002): Changes in expression and function of syncytin and its receptor, amino acid transport system B (ASCT2), in human placental choriocarcinoma BeWo cells during syncytialization. *Placenta*, 23, 536–541.
- 44) Mangeney, M., Renard, M., Schlecht-Louf, G., Bouallaga, I., Heidmann O., Letzelter, C., Richaud, A., Ducos, B. and Heidmann, T. (2007): Placental syncytins: genetic disjunction between the fusogenic and immunosuppressive activity of retroviral envelope proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 20534–20539.
- 45) Sugimoto, J., Schust, D.J., Kinjo, T., Aoki, Y., Jinno, Y. and Kudo, Y. (2019): Suppressyn localization and dynamic expression patterns in primary human tissues support a physiologic role in human placentalization. *Sci. Rep.*, 9, 19502.
- 46) Cáceres, M., Comparative Sequencing Program, N.I.S.C. and Thomas, J.W. (2006): The gene of retroviral origin Syncytin 1 is specific to hominoids and is inactive in Old World monkeys. *J. Hered.*, 97, 100–106.
- 47) Pötgens, A.J., Schmitz, U., Bose, P., Versmold, A., Kaufmann, P. and Frank, H.G. (2002): Mechanisms of syncytial fusion: a review. *Placenta*, 23(suppl A), S107–S113.
- 48) Dupressoir, A., Marceau, G., Vernochet, C., Bénil, L., Kanellopoulos, C., Sapin, V. and Heidmann, T. (2005): Syncytin-A and syncytin-B, two fusogenic placenta-specific murine envelope genes of retroviral origin conserved in Muridae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 725–730.
- 49) Rawn, S.M. and Cross, J.C. (2008): The evolution, regulation, and function of placenta-specific genes. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 24, 159–181.
- 50) Dupressoir, A., Vernochet, C., Bawa, O., Harper, F., Pierron, G., Opolon, P. and Heidmann, T. (2009): Syncytin-A knockout mice demonstrate the crucial role in placentalization of a fusogenic, endogenous retrovirus-derived, envelope gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106, 12127–12132.
- 51) Schubert, S.W., Lamoureux, N., Kilian, K., Klein-Hitpass, L. and Hashemolhosseini, S. (2008): Identification of integrin- α 4, Rb1, and syncytin-A as murine placental target genes of the transcription factor GCMa/Gcm1. *J. Biol. Chem.*, 283, 5460–5465.
- 52) Schreiber, J., Riethmacher-Sonnenberg, E., Riethmacher, D., Tuerk, E.E., Enderich, J., Bösl, M.R. and Wegner, M. (2000): Placental failure in mice lacking the mammalian homolog of glial cells missing, GCMa. *Mol. Cell. Biol.*, 20, 2466–2474.
- 53) Baba, K., Nakaya, Y., Shojima, T., Muroi, Y., Kizaki, K., Hashizume, K., Imakawa, K. and Miyazawa, T. (2011): Identification of novel endogenous Betaretroviruses which are transcribed in the bovine placenta. *J. Virol.*, 85, 1237–1245.
- 54) Cornelis, G., Heidmann, O., Degrelle, S.A., Vernochet, C., Lavialle, C., Letzelter, C., Bernard-Stoecklin, S., Hassanin, A., Mulot, B., Guillomot, M., Hue, I., Heidmann, T. and Dupressoir, A. (2013): Captured retroviral envelope syncytin gene associated with the unique placental structure of higher ruminants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, E828–837.
- 55) Nakagawa, S., Bai, H., Sakurai, T., Nakaya, Y., Konno, T., Miyazawa, T., Gojobori, T. and Imakawa, K. (2013): Dynamic evolution of endogenous retrovirus-derived genes expressed in bovine conceptuses during the period of placentalization. *Genome Biol. Evol.*, 5, 296–306.
- 56) Palmarini, M., Hallwirth, C., York, D., Murgia, C., de Oliveira, T., Spencer, T. and Fan, H. (2000): Molecular cloning and functional analysis of three type D endogenous retroviruses of sheep reveal a different cell tropism from that of the highly related exogenous Jaagsiekte sheep retrovirus. *J. Virol.*, 74, 8065–8076.
- 57) Nakaya, Y., Koshi, K., Nakagawa, S., Hashizume, K. and Miyazawa, T. (2013): Fematrin-1 is involved in fetomaternal cell-to-cell fusion in Bovidae placenta and has contributed to diversity of ruminant placentalization. *J. Virol.*, 87, 10563–10572.
- 58) Plataniias, L.C. (2005): Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signaling. *Nat. Rev. Immunol.*, 5, 375–386.
- 59) Chuong, E.B., Elde, N.C. and Feschotte, C. (2016): Regulatory evolution of innate immunity through co-option of endogenous retroviruses. *Science*, 351, 1083–1087.