

## 組織構造の反復性を生み出す分子ネットワーク

Molecular mechanism underlying metameric morphogenesis

高田 慎治 (TAKADA, Shinji)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構 (岡崎共通研究施設)  
・岡崎統合バイオサイエンスセンター・教授



### 研究の概要

脊椎動物の各体節は頭部側から尾部側に向けて徐々に形成される。この漸進的な領域の区画化を生み出す分子基盤を明らかにするため、(1) 体節分節の反復性を生み出すもとなる分子間の相互作用を明らかにする。さらに、(2) そのような分子間作用が体節形成以外の発生過程において担う役割を明らかにし、分節化メカニズムを多角的に理解する。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学、発生生物学

キーワード：発生・分化、細胞・組織、遺伝子、発現制御

### 1. 研究開始当初の背景

脊椎動物の各体節は、発生の進行に従い頭部側から尾部側に向けて順次作られる。このような時間経過に沿った漸進的な領域の区画化は、脊椎動物の体節形成の大きな特徴であり、その分子機構の解明は発生生物学の課題の一つである。さらに、その分子機構が持つ特性が他の発生現象にも使われているのか、もし使われているとするならそこにはどのような共通の意味があるのか、といった問題には、脊椎動物の発生機構を包括的に理解する上からも興味を持たれる。

### 2. 研究の目的

本研究では、体節の分節化過程において「時間経過に沿った漸進的な領域の区画化」を生み出す分子メカニズムの解明を目指し、(1) 体節形成に必須な役割をはたす未知の遺伝子の同定と、これら遺伝子を含めた体節形成に関わるさまざまな遺伝子間の相互作用の解明を行う。それと同時に、(2) 体節の分節化に関わる遺伝子間作用が体節形成以外の発生過程において担う役割を明らかにし、体節の分節化メカニズムを多角的に理解する。

### 3. 研究の方法

(1) 体節の分節化に関わる遺伝子を同定する。本研究グループが独自のスクリーニングにより樹立した体節の分節性に異常を呈するゼブラフィッシュ突然変異体の原因遺伝子を同定する。(2) これら原因遺伝子ならびに別法により同定した体節の分節

化に関わる遺伝子のうち特に注目すべきものに関して、体節の分節化に関わる因子間との相互作用を中心にその作用機作を解析する。

(3) さらに、遺伝子ノックアウトマウスを用いても、体節の分節化に関わる遺伝子の機能を解析する。(4) それとともに、遺伝子ノックアウトマウスを用いて、体節の分節化に関わる分子機構の一般性を検討する。

(5) さらに、ゼブラフィッシュを用いて、咽頭弓の分節化に関わる遺伝子の探索と機能解析を行う。[胚組織の観察のために蛍光顕微鏡システムを購入]

### 4. これまでの成果

これまでの3年間の研究で、(1) 体節形成の各素過程に関わる分子の同定と分子間相互作用を解明するとともに(2) それら分子ならびに分子間相互作用が体節の分節形成以外の局面で担う役割を解明し、分節メカニズムの一般性を検討する、という当初の基本的な研究計画は達成されつつある。さらに、当初計画では想定していなかった新たな波及効果を生み出している。以下にその成果のいくつかの例を紹介する。

#### (1) 体節形成の各素過程に関わる分子の同定と分子間相互作用の解明

これまで原因遺伝子が未同定だったゼブラフィッシュ突然変異体4系統について、当初の計画通りその原因遺伝子を同定した。そのうちの1系統では、Rtf1が原因遺伝子であることが判明した。Rtf1は転写伸長やクロマチン修飾に関わるPaf1複合体の構成因子であり、Rtf1変異体では体節の分節化に大きな役割を果たすNotch情報伝達による標

的遺伝子の転写活性化が選択的に減少していた。また、他の Paf1 複合体構成因子や転写伸長因子である Spt5 や Spt6 も Rtf1 と協調して体節分節の形成を制御していることを見だし、体節の分節化過程における Notch シグナル伝達系が機能する上での分子基盤の一端を明らかにした (Akanuma et al. 2007)。

突然変異体の原因遺伝子の同定とは別のアプローチからの解析も進めた。未分節中胚葉で強く発現する遺伝子としてすでに同定した Ripply1 は転写共抑制因子 Groucho と相互作用することから、体節の分節形成に関わる遺伝子の転写抑制に働くものと考えられる。そこで、Ripply1 のターゲットになる遺伝子を探索した結果、空間的な分節パターン形成の主役である Mesp-b 遺伝子の発現を直接抑制することを突き止めた。さらに、その抑制には空間的な分節パターン形成に関わるもう一つの転写制御因子 Tbx24 が必要であり、種々の解析の結果、Ripply1 は Groucho/HDAC 転写共抑制因子複合体と Tbx24 を結合させるメディエーターとして機能し、Tbx24 の転写活性因子から抑制因子へと転換させているという結論を得ることができた (図 1) (Kawamura et al. 2008)。したがって、Tbx24 は Ripply1 の発現に応じてその転写調節因子としての性質を変えて Mesp 遺伝子の発現を巧妙に制御しており、その結果として規則正しい分節構造が形作られるものと考えられる。

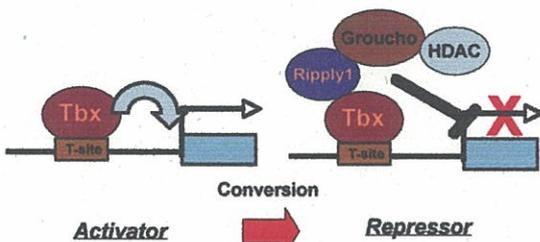


図 1 Ripply による Tbx の機能制御機構

## (2) 体節において同定された分節メカニズムの一般性の検討

さて、体節と同様に頭部から尾部にかけて逐次分節が形成される組織として、咽頭弓が知られる。我々は、Ripply ファミリーの 3 つの遺伝子の一つ Ripply3 が、咽頭弓において体節形成過程の Ripply1 と良く似た特徴的な発現様式を示すことを見いだした。Ripply3 は咽頭弓形成期の間ずっと咽頭弓領域の最後端で強く発現する。興味深いことに、この領域では Tbox 転写制御因子の一つ Tbx1 が発現していることから、咽頭弓の分節形成過程において体節と同様に Tbx-Ripply の相互作用が重要な働きをしているのではないかと考え、

Ripply3 ノックアウトマウスを作成し解析した。Ripply3 ノックアウト胚では、第 3 体節より後方の分節性が完全に消失し、この領域から発生する胸腺、副甲状腺、心臓流出路、動脈弓などに異常が認められた。これは、体節以外の分節形成の場に体節の場合と同様の分子機構が関与することを示唆した初めての例であり、咽頭弓と体節という脊椎動物に共通する代表的な分節組織が形成される過程で、分子機構の上でも共通性があるという新たな考え方が提示できた。

## 5. 今後の計画

体節の分節形成に関わる分子間の相互作用についてさらに詳細に解析をして行くと同時に、咽頭弓の分節形成に関わる分子の探索を行い、体節と咽頭弓の分節形成機構の共通性と相違性についての検討を行う。

## 6. これまでの発表論文等

(研究代表者は太字、研究分担者は二重下線、連携研究者は一重下線)

- Kawamura, A., Koshida, S. & Takada, S. "Activator-to-repressor conversion of T-box transcription factors by the Ripply family of Groucho/TLE-associated mediators." *Mol. Cell Biol.* **28**, 3236-3244. (2008)
- Alvarez-Medina, R., Cayuso, J., Okubo, T., Takada, S., & Marti, E. "Wnt canonical pathway restricts graded Shh/Gli patterning activity through the regulation of Gli3 expression" *Development* **135**, 237-247 (2008)
- Shimizu T, Kagawa T, Inoue T, Nonaka A, Takada S, Aburatani H, & Taga T. "Stabilized {beta}-Catenin Functions through TCF/LEF Proteins and the Notch/RBP-J{gamma} Complex To Promote Proliferation and Suppress Differentiation of Neural Precursor Cells." *Mol. Cell Biol.* **28**, 7427-7441. (2008)
- Akanuma, T., Koshida, S., Kawamura, A., Kishimoto, Y., & Takada, S. "Paf1 complex homologues are required for Notch-regulated transcription during somite segmentation." *EMBO Rep.* **8**, 858-863 (2007)
- Takada, R., Satomi, Y., Kurata, T., Ueno, N., Norioka, S., Kondoh, H., Takao, T., & Takada, S. "Monounsaturated fatty acid modification of Wnt proteins: Its role in Wnt secretion." *Dev. Cell* **11**, 791-801 (2006)
- Yamaguchi, Y., Yonemura, S., & Takada, S. "Grainyhead-related transcription factor is required for duct maturation in the salivary gland and the kidney of the mouse." *Development* **133** 4737-4748 (2006)

ホームページ等

<http://www.nibb.ac.jp/cib2/>