

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料  
〔研究進捗評価用〕

平成18年度採択分

平成21年4月14日現在

研究課題名（和文） 脊椎動物頭部進化の比較分子発生学的解析  
研究課題名（英文） Ontogeny and phylogeny of head development  
in vertebrates  
研究代表者氏名 相沢 慎一 (AIZAWA SHINICHI)  
所属研究機関 独立行政法人理研発生・再生科学総合研究センター  
部局・職 ボディプラン研究グループ・グループディレクター



推薦の観点：創造的・革新的・学際的学問領域を創成する研究

研究の概要：現在なお、脊椎動物の起源、門レベルの進化を分子発生学的に解明する道筋はない。しかし、各脊椎動物での分子発生学的解析の進捗とゲノム情報の進捗によって、綱レベルでの脊椎動物の体造りの変化を解明する時点に達しつつある。脊椎動物の頭部は脳と神経堤細胞のつくる頭蓋によって特徴づけられ、これに比する構造は原索動物には存在しない。脊椎動物にのみ特有な頭部はまた、脊椎動物進化の過程で最も劇的に変遷した構造で、生物体最高の所産であるヒト新皮質を生み出した。本研究は頭部形成の各段階で主要な役割を果たす頭部ギャップ遺伝子について、各発現を制御するシスエレメントを中核に、上流因子、協働因子、下流因子を含めた遺伝子カスケードの変化として脊椎動物の頭部進化を明らかにする。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・進化生物学

キーワード：頭部ギャップ遺伝子、エンハンサー、遺伝子カスケード、系統発生、  
胚体外組織、前後軸形成、頭部誘導、脳領域化、皮質形成

### 1. 研究開始当初の背景

遺伝子変異マウスの作製などにより、マウスで *Otx2*, *Otx1*, *Emx2*, *Emx1*, *Pax6* が頭部形成に重要な役割を果たしていることを明らかにしていた。しかし、頭部形成の各段階での頭部ギャップ遺伝子の働きは明らかでなかった。他方、*Otx2*, *Pax6* の各段階での発現は異なるエンハンサーにより担われていることを明らかにし、各エンハンサー欠損マウス作製を進めていた。また、上流因子、協働する因子、下流因子の同定を進め、頭部ギャップ遺伝子の頭部形成の各段階における機能と、その遺伝子カスケードをマウスで明らかにすることが可能となりつつあった。

### 2. 研究の目的

マウスで *Otx2* など頭部ギャップ遺伝子の各段階でのエンハンサーを同定、その欠損マウスを作製し機能解析を進めるとともに、それぞれの上流因子、協働因子、下流因子からなる遺伝子カスケードを明らかにし、これらを各脊椎動物で比較解析することにより、マウス頭部形成に必須な各遺伝子カスケードがどの進化段階で成立したかを明らかにする。

### 3. 研究の方法

各エンハンサーを *in vivo* での transgenic

analysis で同定し、これを欠損するマウスを作製、その機能を明らかにする。また、エンハンサーに結合する上流因子、two hybrid などにより各段階で頭部ギャップ遺伝子に協働する因子、更にエンハンサー変異体を用いる chip analysis などにより下流因子を同定、それぞれのエンハンサーの機能とその遺伝子カスケードをマウスで明らかにする。これらを、ブタ、スナグス、ニワトリ、ヤモリ、スッポン、カエル、ポリプテルス、ゼブラフィッシュ、フグ、エイ、ヤツメウナギ胚で比較解析する。

### 4. これまでの成果

マウス胚臓側内胚葉(VE)での *Otx2* 発現は前後軸の形成と頭部の誘導に必須である。この発現のための VE エンハンサーを同定し、上流・下流の遺伝子カスケードを明らかにした。臓側内胚葉は卵黄を捨てて子宮で発生する道を選んだほ乳動物に特有な構造で、これに相同な構造は両生類には存在しない。何故前後軸形成、頭部誘導という発生の基本過程がほ乳動物で新たに獲得された構造によって担われるのか。四足動物、シーラカンス、ポリプテルス、エイ、真骨魚での比較解析から、VE エンハンサーとその遺伝子カスケードは

祖先四足動物で成立し、両生類では深部内胚葉細胞で、は虫類ではハイポブラスト、ほ乳動物では臓側内胚葉で用いられることになったと考えられ、鳥類での特殊化、羊膜類での前後軸形成機構の多様化が示唆された。

真骨魚でも胚体外組織 (YSL) が軸形成、胚葉形成に重要な働きをするが、両生類には胚体外組織は無い。ポリプテルス、ナメクジウオでの解析より、祖先脊椎動物胚は全割をしたが植物局側の割球は胚体外で、内胚葉・中胚葉は赤道軸上の周辺領域より生じた想定された。羊膜類ならびに真骨魚で体軸形成に重要な働きをする胚体外組織はこれより生じた相同な構造で、両生類で二次的に胚体深部内胚葉に組み込まれ、胚体外組織としては失われたと考えられる。この結果は両生類型胚形成が祖先型で胚体外組織は真骨魚と羊膜類でそれぞれ独自に進化したとの従来の考えを覆すものである。では、前後軸、頭部誘導のための相同な胚体外組織で Otx2 VE エンハンサーとその遺伝子カスケードは何故四足動物のみで成立したのか？

誘導された吻側神経外胚葉、吻側脳でも Otx2 は発現、後脳化を抑制し、その発現は条鰭類を除く有顎脊椎動物では2つのエンハンサーで支配されている。しかし条鰭類は1つのエンハンサーにより、異なる上流因子で制御されている。この違いは条鰭類に特有な脳形成をどのように生み出しているのか。

Emx2 は 5-6 体節期尾側前脳域・間脳原基の形成に、E9.5 以降終脳の形成に、E11.5 以降皮質層構造の形成に働く。これらの Emx2 発現は全て同一の、Otx, Tcf, Smad, および2つの未知因子によって制御されている FB エンハンサーによって担われている。このエンハンサーは層構造を形成しないは虫類、両生類でも保存されており、他方、真骨魚では異なる上流因子により制御される。ほ乳動物に特有な皮質形成と関連する Emx2 発現制御とその遺伝子カスケード、またその成立は？

Pax6 についても間脳・終脳形成に働くエンハンサーについて同様の解析を進めた。

#### 5. 今後の計画

げっ歯類と鳥類では Otx2 の関与する前後軸形成の分子機構に違いが認められる。げっ歯類の胚は卵筒状をしているが大半の羊膜類胚は、鳥類と同じくディスク状である。ブタ胚、スンス胚、スッポン胚、ヤモリ胚について前後軸形成の方式を解析する。魚類のオーガナイザーでは Otx2, Otx1 の両者が発現するがそのエンハンサーは四足動物と異なる。これらのエンハンサーと遺伝子カスケードを同定し、四足動物と魚類で異なるオーガナイザーでの Otx の働きを明らかにする。Otx2 の吻側神経外胚葉、脳での発現エンハンサーを条鰭類型に入れ換えたマウスを作製するなどして、条鰭類と四足動物で異なる脳

形成を明らかにする。ほ乳動物に特有な皮質形成と関連する Emx2, Pax6 発現制御とその遺伝子カスケードを明らかにし、またその成立段階を解明する。

6. これまでの発表論文 (太字、研究代表者；二重下線、研究分担者)

1. Sugiyama, S., Nardo, AD., **Aizawa, S.**, Matsuo, I., Volovitch, M., Prochiantz, A. and Hensch, TK. (2008). Experience-Dependent Transfer of Otx2 Homeoprotein into the visual Cortex Activates Postnatal Plasticity. *Cell* 134 208-520.
2. Hirano, M., Hashimoto, S., Yonemura, S., Sabe, H. and **Aizawa, S.** (2008). EPB41L5 functions to post-transcriptionally regulate cadherin and integrin during epithelial-mesenchymal transition. *Journal of Cell Biology* 182 1217-1230.
3. Shibata, M., Kurokawa, D., Nakao, H., Ohmura, T. and **Aizawa, S.** (2008). MicroRNA-9 modulates Cajal-Retzius cell differentiation by suppressing Foxg1 expression in mouse medial pallium. *J Neurosci.* 28, 10415-21.
4. K Ito, T Kawasaki, S Takashima, I Matsuda, A Aiba, and T Hirata (2008) Semaphorin 3F confines ventral tangential migration of lateral olfactory tract neurons onto the telencephalon surface. *J. Neurosci.* 28 4414-4422.
5. Suda, Y., Kurokawa, D., Takeuchi, M., Kajikawa, E., Kuratani, S., Amemiya, C. and **Aizawa, S.** (2009). Evolution of Otx paralogue usages in early patterning of the vertebrate head. *Developmental Biology* 325, 282-295.
6. Takasaki, N., Kurokawa, D., Nakayama, R., Nakayama, J. and **Aizawa, S.** (2007). Acetylated YY1 regulates Otx2 expression in anterior neuroectoderm at two cis-sites 90kb apart. *The EMBO Journal* 26, 1649-1659.
7. Furushima, K., Yamamoto, A., Nagano, T., Shibata, M., Miyachi, H., Abe, T., Ohshima, N., Kiyonari, H. and **Aizawa, S.** (2007). Mouse homologues of Shisa antagonistic to Wnt and Fgf signalings. *Developmental Biology* 306, 480-492.
8. Kurokawa, D., Sakurai, Y., Inoue, A., Nakayama, R., Takasaki, N., Suda, Y., Miyake, T., Amemiya, C. and **Aizawa, S.** (2006). Evolutionary constraint on Otx2 neuroectoderm enhancers-deep conservation from skate to mouse and unique divergence in teleost. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 19350-19355.

他 20 件

ホームページ

<http://www.cdb.riken.go.jp/vbp/>