

研究課題名(和文)

生物形態形成の多様性と普遍性

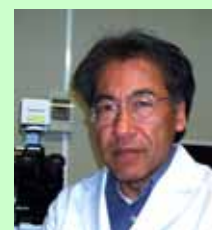
研究課題名(英文)

Common and diverse mechanisms of pattern formation of animals.

研究代表者

小椋利彦(Ogura Toshihiko)

東北大学・加齢医学研究所・教授



研究の概要:

さまざまな生物は、種特異的な形態をもち、その形態は多様性に富んでいる。例えば、魚は1心房1心室の心臓をもち、四肢としてヒレが存在する。ヒトは2心房2心室の心臓をもち、四肢は手足である。このような形態の多様性にも関わらず、心臓や手足を作る遺伝子は同じ働きをもっている。似た遺伝子が、異なる形態を作り上げるメカニズムは存在するのだろうか？このような根源的な問いに答えるためには、形態形成を司るシステムの普遍的側面と多様性を生む側面を知ることが必要となる。本研究は、心臓、四肢、神経系に注目し、生物形態の多様性と普遍性を生む遺伝子基盤の一端を明らかにする。

研究分野/科研費の分科・細目/キーワード:

生物学/生物科学・発生生物学/発生・分化、脳・神経、遺伝子、進化、ゲノム

1. 研究開始当初の背景

研究代表者の研究によって、Tbx5、Tbx4 遺伝子が、それぞれ、ニワトリの wing、leg の形成に重要であることが見いだされた。また、祖先となるひとつの遺伝子から分岐し、Tbx2/3/4/5 が出現したこともわかった。これら4遺伝子は、肢芽において特徴的な発現を示すことから、遺伝子の多様化が、四肢の進化基盤となっていると推測される。また、心臓では Tbx5 は左心室に発現することから、心室の左右分離に関与していることも示唆された。一方、Irx 遺伝子にも同様に多様化が起ったことがわかってきた。Irx の部位特異的な発現パターンは、神経組織の複雑化と関連している。このような背景から、形態形成の多様性と普遍性を2種類の遺伝子を糸口として解き明かす研究を開始した。

2. 研究の目的

発生生物学の展開によって、生物の発生が普遍的原理の上に成り立っていることがわかった。また、ヒトのゲノム情報からヒト遺伝子を単離するという試みやゲノム情報を用いた包括的な手法が可能となっている。これによって重要な働きを担う遺伝子が単離され、多様な動物の組織で鍵として働くことがわかった。同時に、重要な遺伝子は、さまざまな局面で相同な機能を発揮することもわかってきた。これは、普遍

的な遺伝子をいかに効率よく機能させるかに依っている。本研究では、利用可能なゲノム情報をもとに、保存された遺伝子を単離し、普遍的な発生基盤を解明する。

3. 研究の方法

本研究では、Tbx2/3/4/5 遺伝子について発生学的な解析を行い、生物学的な機能を明らかにした。4つの遺伝子を上下肢間の体幹部や肢芽、心臓に電気穿孔法によって強制発現させた。これによって引き起こされる形態変化を詳細に解析した。Irx2 遺伝子を神経管に電気穿孔法によって異所的に発現させ、形態変化を観察した。脊椎動物では6つのIrx 遺伝子が存在しているが、これらについて発現パターンを詳細に解析した。Tbx、Irx に機能的に関連する遺伝子を探索し、新規遺伝子の単離を行なった。また、Tbx5 蛋白の転写因子としての性格を知る目的で、様々な因子の同定を進めた。

4. 研究の主な成果

Tbx2/3/4/5 遺伝子群の進化と肢芽/心臓形態の進化 Tbx5、Tbx4 を体幹部に強制発現させることにより、異所的に上肢と下肢を誘導できた。これは、Tbx5、Tbx4 が肢芽形成の最も上流で働く因子であることを意味している。一方、ニワトリやマウスを使った実験から、Tbx5 は左心室の identity を確立

し、Tbx5 の発現境界に心室中隔形成を誘導することも明らかにした。右心室に発現する Tbx20 を見出し、両遺伝子間の調節関係を証明した。Tbx2 は III 指を IV 指に、Tbx3 は II 指を III 指に形態転換させることが見出し、両遺伝子が直接指の個性の決定に関与していることを証明した。

lrx2 と小脳形成 lrx2 は小脳原基に強く発現すること、FGF8/MAK kinase によってリン酸化され、転写抑制因子から活性化因子に変換することを明らかにした。活性化型 lrx2、あるいは FGF8 と lrx2 の共発現を行うことで、異所的にほぼ完全な小脳の形成を誘導することに成功した。

機械的刺激、メカニカルストレス Tbx5 の co-activator の同定を行ない、MKL2 を見いだした。Tbx5 の転写活性化能は MKL2 存在下で数百倍に上昇した。活性化型 RhoA、Tbx5、MKL2 の 3 者が存在下で転写活性は 1000 倍を超える極めて高い上昇を見せた。MKL2 は、血清非存在下では細胞質にあり、RhoA などを発現させると核内に集積した。細胞に伸展刺激を加えても核移行が認められた。このことは、細胞に機械的刺激が加わると MKL2 の核移行を誘導して Tbx5 の転写活性化を引き起こすと理解できる。

機械的刺激によって細胞内局在を変える新規因子の単離 機械的刺激によって核内へ移行する因子の単離を行ない、複数の新規遺伝子をクローニングした。これらの因子が、心臓肥大、心房心室境界部の弁形成、脂肪細胞の分化、脂肪代謝に重要な働きを持つことが明らかとなり、発生現象、成体の恒常性維持に普遍的な役割を持つことが証明できた。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

四肢の指の個性がいかにより作られるかは、発生生物学、進化生物学のなかでも大きなトピックである。多指でかつ多くの指骨をもつ恐竜からヒトに至る進化の過程で指の形態、四肢の形態はいかに進化し、それはどのような遺伝子基盤に基づくのかは不明のまま残されている。本研究で得られた知見は、この問いに一定の知見をもたらすものである。また、小脳形成や肢芽形成において、FGF8 シグナルがどのように遺伝子発現を引き起こして器官形成を制御するのか、その分子メカニズムは不明であった。本研究では、FGF8/MAP kinase/lrx2 という一連のシグナルの動きを解明することができた。

最近になって、器官形成、細胞機能は、細胞が置かれている物理的な環境によって規定されているという知見がもたらされ始めた。この一因として物理的要因が考えられるが、物理的刺激がどのように生化学的応答を生むかは、全く解き明かされていない。本

研究で得られた知見は、細胞骨格とその結合蛋白が中心的役割を演ずることを示しており、物理的要因の研究にひとつの指針を与えるものである。また、物理的要因による制御は、心臓発生から、脂肪細胞の分化、脂肪代謝まで及ぶことが明らかとなり、全く新しいシグナル伝達経路があることを示した。我々の知見は、細胞の力学的なパラメーターをもとに機能を考えるという新しい研究分野があることを発見し、学術創成という名の研究として大きなインパクトを生むと確信できる。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

- 1, Daam1-mediated non-canonical Wnt signaling regulates the endocytosis of EphB, the event that triggers the convergent extension movement of zebrafish notochord. Y. S. Kida, T. Sato, K. Y. Miyasaka, T. Okada and **T. Ogura** Pro.Natl.Acad.Sci. in press (2007)
- 2, Chick Dach1 interacts with Smad1 and mSin3A to control AER formation and limb development along the proximal-distal axis. Y. Kida, T. Shiraishi, T. Suzuki, T. **Ogura** Development 131, 4179-4187 (2004)
- 3, Tbx genes specify posterior digit identity through Shh and BMP signaling. T. Suzuki, J. Takeuchi, K. Koshiba-Takeuchi and T. **Ogura** Developmental Cell 6, 43-53 (2004)
- 4, The *Iroquois* prepattern gene *lrx2* induces the complete transformation of tectum to cerebellum. K. Matsumoto, S. Nishihara, M. Kamimura, T. Otoguro, M. Uehara, Y. Maeda, K. Ogura, A. Lumsden, and **T. Ogura** Nature Neuroscience 7: 605-612, 2004.
- 5, *Tbx5* specifies the left/right ventricles and ventricular septum position during cardiogenesis. J. K. Takeuchi, K. Koshiba-Takeuchi, M. Ohgi, H. Shiratori, I. Sakaki, K. Ogura, Y. Saijoh, **T. Ogura** Development 130, 5953-5964 (2003)
- 6, Tbx5 and Tbx4 trigger limb initiation through activation of the WNT/FGF signaling cascade. J. K. Takeuchi, K. Koshiba-Takeuchi, T. Suzuki, M. Kamimura, K. Ogura and **T. Ogura** Development 130, 2729-2739 (2003)

ホームページ等

http://www.idac.tohoku.ac.jp/ja/organization/neurochemistry_mb/index.html
<http://www.lifesci.tohoku.ac.jp/outline/neuro/regulation/neurobiology.html>