

## 発生頑強性を規定する細胞死シグナルの解明 Regulation of developmental robustness by cell death signaling

三浦 正幸 (MIURA MASAYUKI)

東京大学・大学院薬学系研究科・教授



### 研究の概要

発生過程は、全能性を有する細胞が時間軸に沿って細胞分裂とともに刻々と変化し、特殊化しつつ、あるパターンを作っていく。発生の安定性を保持する本質とは、胚の内外で生じるストレス刺激へダイナミックに応答することにあると考えられる。本研究では遺伝学、生体イメージング、遺伝生化学を駆使して、発生の頑強性に関わる細胞死シグナル分子の解明を行う。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学、医化学一般

キーワード：発生、頑強性、カスパーゼ、細胞死、ショウジョウバエ、マウス

### 1. 研究開始当初の背景

これまで発生は遺伝子の逐次的発現によって体作りのプログラムが展開されていくとの考えが研究を主導してきた。発生は決められた遺伝的なプログラムに従って整然と進行してゆくように思われていた。しかし、同時に、様々な環境におかれた場合においても正常に発生は進行する驚くべき頑強な生命現象である。発生の安定性を保持する本質とは、胚の内外で生じるストレス刺激へダイナミックに応答することにあるのではないかと、この考えのもとに研究を開始した。

### 2. 研究の目的

発生の頑強性に関してはこれまで多くの研究者が注目してきたが、その分子的基盤を解明しようとする研究は途についたばかりである。我々の研究によってこれまでにカスパーゼ活性化に関わる細胞死シグナルが正常発生でも細胞死制御、非細胞死制御の両面で正常発生に関わっていることが明らかになった。本研究では、カスパーゼが、胚発生で生じる内外のストレスを感知して胚発生の安定性を制御する分子として注目し、細胞死シグナルがいかに発生の頑強性に寄与するのかを解明することを目的とする。

### 3. 研究の方法

ショウジョウバエ遺伝学、生体イメージング、遺伝生化学を駆使して、発生の頑強性に関わる細胞死シグナルに関わる分子の同定

を行う。同時に、マウスの発生における細胞死シグナルを用いた発生頑強性の研究を強力に進める。具体的には、ショウジョウバエ外感覚器における外感覚器前駆体細胞

(SOP) 形成の揺らぎを生体イメージングによって定量的に解析し、カスパーゼの作用部位を明らかにする。そして遺伝学的なスクリーニングによって発生頑強性に関わる遺伝子を同定する。ショウジョウバエ幼虫の成虫原基は再生可能な組織であり、上記正常発生の研究に加え、組織再生の頑強性に関して細胞死シグナルの関わりを解明する。ショウジョウバエを用いた研究と平行し、マウス神経初期発生に注目し、生体イメージングと遺伝学を用いて、発生の安定した進行に関わる細胞死シグナルの動態と役割を明らかにする。

### 4. これまでの成果

【ショウジョウバエ外感覚器における該感覚器前駆体細胞 (SOP) 形成の揺らぎ】

ショウジョウバエの外感覚器は、外部の物理的、化学的刺激を受容する末梢神経器官であり、規則正しい空間配置パターンをもって中胸領域に形成される。外感覚器の数と配置は Notch/Delta シグナルを介した側方抑制によって制御されることが知られている。側方抑制は、発生頑強性を支える重要な発生プロセスであり、神経細胞が一定の間隔をもって誕生し、組織全体として規則正しい空間パターンが形成されるための普遍的な発生原理である。しかしながら、これまで技術面での

困難さから、生きた個体の中で、実際に神経細胞が上皮細胞の中から選択され、分化し、最終的に外感覚器の空間配置が形成されるダイナミックな発生過程は明らかにされてこなかった。我々は SOP が蛹期において上皮細胞層から出現し、細胞分裂、分化を経て外感覚器を形成する全過程をリアルタイムに検出する系を立ち上げ SOP 細胞の誕生する場所、数、時期を時空間的に定量した。その結果、外感覚器の空間パターンが形成される過程は、側方抑制モデルで考えられてきた「SOP 細胞は、はじめから一定のスペースを維持し規則正しく配置されて誕生する」という姿とは大きく異なっていることが明らかとなった。このイメージングを用いた観察によって、SOP マーカーを発現して誕生する細胞の 20% はアポトーシスで除去されることが明らかになった。そして、このアポトーシス細胞は本来活性化しない Notch を活性化する分化に失敗した神経系の細胞であることが明らかになった。

#### 【マウス神経発生における細胞死シグナルの動態解析】

我々は、独自に開発したカスパーゼ活性化可視化プローブ SCAT3 を全身で発現する SCAT3 トランスジェニックマウスを作成し、神経管閉鎖過程におけるカスパーゼ活性化動態とそれに伴うアポトーシスを可視化することに世界で初めて成功した。イメージングにより挙動の異なる二種類のアポトーシス細胞が異なる領域に存在していることが判り、現在役割の違いがあるかについて検討を加えている。神経管閉鎖ではアポトーシスが閉鎖運動に寄与する。そして、アポトーシスは胎児期の脳の最前端形成の司令としてはたらく FGF8 タンパク質を産生する司令塔の細胞集団の一部を除去し、形原（モルフォゲン）の切り替えを効率よく行うことで、脳のパターンニングに寄与することが明らかになった。組織形成運動や司令塔細胞集団の除去に細胞死が他の組織形成でも使われる可能性があり、細胞死の新たな発生における役割が提示できたのではないかと考えている。

#### 5. 今後の計画

##### 【ショウジョウバエ成虫原基再生能の安定性に関するカスパーゼの役割】

変態における組織再編性においては細胞死と増殖が協調して表皮の入れ替わりが達成されることを示した。この知見を基に、成虫原基の再生系を導入し、再生での細胞死の役割を今後追求していく。

##### 【マウス神経発生における細胞死シグナルの動態解析】

部位特異的なカスパーゼ活性化抑制と生体イメージングとを組み合わせた解析を行い、細胞死の神経管閉鎖での生理機能を追求する。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Nonomura, K., Yamaguchi, Y., Hamachi, M., Koike, M., Uchiyama, Y., Nakazato, K., Mochizuki, A., Sakaue-Sawano, A., Miyawaki, A., Yoshida, H., Kuida, K., and Miura, M.: Local apoptosis modulates early mammalian brain development through the elimination of morphogen producing cells. *Dev. Cell* 27, 621-634, 2013
2. Takeishi, A., Kuranaga, E., Tonoki, A., Misaki, K., Yonemura, S., Kanuka, H., and Miura, M.: Homeostatic epithelial renewal in the gut is required to dampen a fatal systemic wound response in *Drosophila*. *Cell Reports* 3, 919-930, 2013
3. Yamaguchi, Y., Shinotsuka, N., Nonomura, K., Takemoto, K., Kuida, K., Yoshida, H., and Miura, M.: Live imaging of apoptosis in a novel transgenic mouse highlights its role in neural tube closure. *J. Cell Biol.*, 195, 1047-1060, 2011
4. Miura, M.: Apoptotic and nonapoptotic caspase functions in animal development. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 4; doi:pii: a008664. 10.1101/cshperspect.a008664, 2012
5. Kanda, H., Igaki, T., Okano, H., and Miura, M.: Conserved metabolic energy production pathways govern Eiger/TNF-induced non-apoptotic cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 18977-18982, 2011
6. Nakajima, Y-I, Kuranaga, E., Sugimura, K., Miyawaki, A., and Miura, M.: Non-autonomous apoptosis is triggered by local cell cycle progression during epithelial replacement in *Drosophila*. *Mol. Cell Biol.*, 31, 2499-2512, 2011
7. Koto, A., and Miura, M.: Who lives and who dies: Role of apoptosis in quashing developmental errors. *Communicative and Integrative Biology*, 4, 495-497, 2011

ホームページ等

<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~genetics/index.html>