

平成17年度採択分

平成20年3月31日現在

研究課題名(和文) プラナリアの再生組織構築を決定する  
位置情報システムの解明

研究課題名(英文) Unraveling molecular mechanisms to recreate  
3D organ architecture

研究代表者

阿形 清和 (AGATA KIYOKAZU)

京都大学・大学院理学研究科・教授



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: プラナリアが、どのようにして位置情報を制御しながら、全能性の幹細胞から三次元構造をもつ機能的な脳を再生しているのかを解明し、そこで理解したことをマウス ES 細胞に適用しながら ES 細胞からマウスの脳をつくることを試みている

生物学 / 生物科学・発生生物学 / 幹細胞、位置情報、器官形成

#### 1. 研究開始当初の背景

再生医療の隆盛によって種々の幹細胞が単離されるようになったが、再生医学を現実のものにするためには、『幹細胞からいかに形と機能をもつ臓器・組織を再生・構築していくか』---が大きな課題として残っている。今の段階では幹細胞があっても、単なる細胞の塊を造ることしかできず、単に移植しているだけではガンを作ってしまう危険性すら残している。形あるものを生み出すためには、『発生・再生の場の座標軸』--すなわち位置情報形成が必須と考えられる

#### 2. 研究の目的

再生の場において、幹細胞はどのようにして細胞同士を認識しながら座標と位置情報を形成できるのか、その分子メカニズムを明らかにすることが本研究プロジェクトのテーマである。具体的には、全身に幹細胞を保持していることによって高い再生能力を示すプラナリアを用いて、幹細胞から、形と機能をもった脳や咽頭を再生する分子メカニズムを解き明かし、そこで解明されたロジックを活かして哺乳動物で幹細胞から器官・臓器を形成することに挑戦する。

#### 3. 研究の方法

プラナリアの特性(同じ切断面でも、元の頭方向にあった断片からは頭部、逆の面からは尾部が再生してくる)をいかして、(1)極性形成時(切断後 12 時間)で異なる発現をする遺

伝子、(3)座標の再編成時(切断後 12-24 時間)に活性化される遺伝子、(3)脳再生時(切断後 24-36 時間)に活性化される遺伝子を、定量的トランスクリプトーム解析法(HiCEP 法)で探索し、『極性形成』と『位置情報形成』に關与する遺伝子群を系統的にスクリーニングする。それらの候補遺伝子について RNAi 法で機能解析して、脳の器官形成までに至る分子メカニズムを明らかにする。プラナリアで発見された分子メカニズムについて、マウスでどこまで同じような分子が關与しているかを調べるとともに、それらの分子を操作して、マウスの種々の幹細胞からシャーレ内での器官形成に挑戦する。

#### 4. これまでの成果

プラナリアは再生過程での時系列にそった解析と、X 線照射によって幹細胞を除去した実験の組み合わせから、幹細胞システムを制御するプライマリーな分子システムは<分化した細胞が提供する位置情報システム>であること、また、位置情報をつくる分子システムも再生の時系列にそって変化し、それに反応する幹細胞も刻々と位置情報への反応性を変化させていること、さらに幹細胞がある程度コミットメントを受けると今度は位置情報を提供する側に変化する、こと見出した。これらの結果は、位置情報システムの理解だけでも、また幹細胞の研究だけでも、器官形成の謎に迫るには不十分でありことを示唆している。位置情報をつくる分子

#### 〔 4 . これまでの成果 ( 続き ) 〕

システムのダイナミズムと幹細胞システムのダイナミズムの両方をうまくマッチングさせて器官は形成されている。すなわち、<位置情報をつくる分子システムのダイナミズム>と<幹細胞システムのダイナミズム>の解析と、さらに<それら 2 つのダイナミズムをマッチングさせる細胞・分子システム>の理解の 3 点を同時平行的に研究しなくてはならないことを示唆している。

そこで、本研究では、上の 3 点のそれぞれについて研究を展開している。位置情報形成分子システムのダイナミズムの解読については、本年度までに、nou-darake と新規に同定された nou-darake ファミリー遺伝子が体の前後軸にそった位置情報形成の分子システムであることの解読に成功した。また、新規にプラナリアの前後軸にそった体の極性を決めている遺伝子の同定にも成功した。

幹細胞システムのダイナミズムの解析については、プラナリア幹細胞で特異的に発現する核内タンパク質をコードする #01 遺伝子を発現している間充織の周辺部に分布している幹細胞と、幹細胞特異的な RNA 結合タンパク質 piwi を発現して、間充織の深部に分布している幹細胞とがあることを見出した。そして、脳の再生初期段階では、#01 核内タンパク質が細胞質に移動し、piwi 発現細胞と混在しながら脳の原基を形成していくことを見出した。また、発現パターン・スクリーニングによって位置情報ダイナミズムと幹細胞ダイナミズムをつなぐ候補細胞の同定に成功した。

プラナリアの脳の再生研究は、<器官形成において幹細胞ダイナミズムと位置情報ダイナミズムがマッチングしていることが重要である>ことを示唆した。そこで、マウス ES 細胞あるいはマウス ES 由来細胞を異なる発生段階のニワトリ胚に移植し、どのような動態を示すかを調べた。その結果、マウス ES 細胞そのものは、ニワトリ初期胚の stage.1 の段階で移植した場合は正常な脳形成に参加することがわかり、それ以外の段階ではテラトーマを形成した。マウスにおいても器官形成にはプラナリア同様に幹細胞と位置情報のダイナミズムのマッチングの重要性を示すことに成功した。

#### 5 . 今後の計画

当初の計画通り概ね順調に進んでいるので、残り 2 年で、プラナリアでの全能性幹細胞から脳再生の全容の解明を進めるとともに、それと平行して、プラナリアで得られた情報をもとにマウス ES 細胞から脳を構築するためのトライアルを積極的に行う予定である。

#### 6 . これまでの発表論文等 ( 受賞等も含む ) ( 研究代表者は太字、研究分担者には下線 )

1. Brain regeneration from pluripotent stem cells in planarian. **K. Agata** and Y. Umesono *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 363, 2071-2078 (2008)
  2. Expression and functional analysis of *musashi*-like genes in planarian CNS regeneration. S. Higuchi, T. Hayashi, H. Tarui, O. Nishimura, K. Nishimura, N. Shibata, H. Sakamoto and **K. Agata** *Mech. Dev.*, in press
  3. Identification of glutamic acid decarboxylase gene and distribution of GABAergic nervous system in the planarian *Dugesia japonica*. K. Nishimura, Y. Kitamura, Y. Umesono, K. Takeuchi, K. Takata, T. Taniguchi, **K. Agata** *Neurosci.*, in press
  4. Stem cells in planarian. **K. Agata** In “*Stem Cells: From Hydra To Man*”, Edited by Thomas G Bosh, Springer pp59-74 (2008)
  5. Characterization and categorization of FACS-sorted planarian stem cells by ultrastructural analysis. S. Higuchi, T. Hayashi, I. Hori, N. Shibata, H. Sakamoto and **K. Agata** *Dev. Growth Differ.*, 49, 571-81 (2007)
  6. *Wnt* signaling is required for antero-posterior patterning of the planarian brain. C. Kobayashi, K. Ogawa and **K. Agata** *Dev. Biol.*, 306, 714-724 (2007)
  7. Clathrin-mediated endocytic signal is required for the regeneration as well as homeostasis of planarian CNS. T. Inoue, T. Hayashi, K. Takeuchi and **K. Agata** *Development* 134, 1679-1689 (2007)
  8. Reconstruction of dopaminergic neural network and locomotion function in planarian regenerates. K. Nishimura, Y. Kitamura, T. Inoue, Y. Umesono, S. Sano, K. Yoshimoto, M. Inden, K. Takata, T. Taniguchi, S. Shimohama and **K. Agata** *Dev. Neurobiol.* 67, 1059-1078 (2007)
  9. Regeneration-dependent conditional gene knockdown (Readyknock) in planarian: Demonstration of requirement for *Djsnap-25* expression in the brain for negative phototactic behavior. T. Takano, J. Pulvers, T. Inoue, H. Tarui, H. Sakamoto, **K. Agata** and Y. Umesono *Dev. Growth Differ.*, 49, 383-394 (2007)
  10. Unifying principles of regeneration I: epimorphosis versus morphallaxis. **K. Agata**, Y. Saito and E. Nakajima *Dev. Growth Differ.* 49, 73-78 (2007)
  11. Two different evolutionary origins of stem cell systems and their molecular basis **K. Agata**, E. Nakajima, N. Funayama, N. Shibata, Y. Saito and Y. Umesono *Semin. Cell Dev. Biol.*, 17, 503-509 (2006)
  12. Isolation of planarian X-ray-sensitive stem cells by fluorescence-activated cell sorting T. Hayashi, M. Asami, S. Higuchi, N. Shibata and **K. Agata** *Dev. Growth Differ.* 48, 371-379 (2006)
- ホームページ等  
<http://mdb.biophys.kyoto-u.ac.jp/>