

平成 21 年 4 月 17 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2007～2008

課題番号：19870001

研究課題名（和文）指の個性の決定における新しいシグナリングセンターPFRの機能解析

研究課題名（英文）Functional analysis of the PFR as a new signaling center for specifying each digit identity

研究代表者

鈴木 孝幸(SUZUKI TAKAYUKI)

東北大学・加齢医学研究所・助教

研究者番号：40451629

研究成果の概要：

私たちは5本の指を持っており、それぞれの指は親指から小指にかけて異なった特徴ある形態をしています。今回、この形の違いが生み出されるメカニズムをニワトリの受精卵を使って調べました。その結果、発生中に指先の先端に指を造るために重要な細胞群を見だし、PFR(指骨形成領域)の細胞群を新たに命名しました。さらにこの細胞群は指原器の後側の指間部からBMP(骨形成成長因子)を受け取っており、それぞれの指原器のPFRが受け取るBMPシグナルの量的な違いによって指の個性が決定されていることが分かりました。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,370,000	0	1,370,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,720,000	405,000	3,125,000

研究分野：発生生物学

科研費の分科・細目：発生生物学

キーワード：指の個性、骨、BMP、ニワトリ、発生生物学

1. 研究開始当初の背景

ふと日常何気なく使っている手を見てもみると、とてもおもしろい形をしていることに気付く。われわれヒトは手足に5本の指を持っており、それぞれの指は前後軸上に沿って特徴ある形態をしている。このようにヒトを始め、多くの脊椎動物の指は一見一様に見えるが各々に個性がある。それではこのよう

なそれぞれの指の個性の違いというものほどのような分子メカニズムによって決まっているのであろうか。また、異なる指が肢芽の前後軸に規則正しく形成される基盤となる遺伝プログラムはどのようなものなのであろうか。

これまで指の形が決まるメカニズムとしては、肢芽の後側から分泌されるShhの濃度

勾配や Hox 遺伝子群によって前後軸に沿った指のそれぞれの形が決まるのではないかと議論されてきた (reviewed McGlinn, Curr. Opin. Genet. Dev., 2006)。しかし、実際には Shh は指が形成されるときには発現していない。また、標的遺伝子破壊の結果から、Hox 遺伝子は指の形成自体には必要であるが、指のかたちを決める直接の因子ではないことが分かる。一方申請者が 2007 年 3 月まで留学をしていた研究室より、指形成期の指間部が BMP シグナルを介して、その前側の指の個性を決定するという報告がされた (Dahn & Fallon, Science, 2000)。このため、それぞれの指の形を特徴付ける因子としては Shh、Hox、BMP 遺伝子を包括的に制御し、かつ指間部に特徴的に発現するマスターレギュレーターの存在が考えられた。

2. 研究の目的

そこで本研究者はこのような作業仮説に基づき、それぞれの指の個性の違いを生み出すメカニズムを明らかにしたいと考えた。

3. 研究の方法

ニワトリ胚を用いて指の発生に必要な遺伝子の発現パターンを詳細に解析した。また発生学的手法を用いて指のかたち作りに必須の領域を調べた。

4. 研究成果

本研究者はすべての指の個性の違いについて明らかにするために、指骨の形成に必須である BMP シグナルに着目した。まず分泌因子である BMP タンパク質のターゲット組織を調べる為に、BMP シグナル下流の転写因子であるリン酸化 SMAD1/5/8 の免疫染色を行った。その結果、発生中の指原基の先端部分で特異的なシグナルを検出した (図 1)。

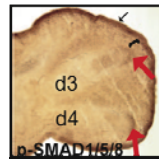


図 1 SMAD1/5/8 染色の結果

この事から BMP シグナルのターゲット組織は発生中の指原基の先端部分である事が判明し、申請者はこの領域を指骨形成領域、PFR (phalanx-forming region) の細胞群と名付けた。また新たに構築したレトロウィルスを用いた *in vivo* レポーターアッセイにより、発生中の PFR においてはそれぞれの指原基が異なったレベルの BMP シグナルを指間部から受けている事が分かった (図 2)。

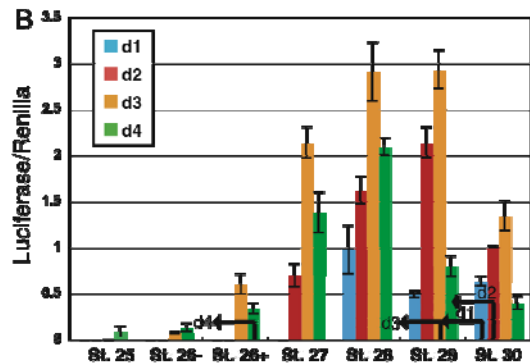
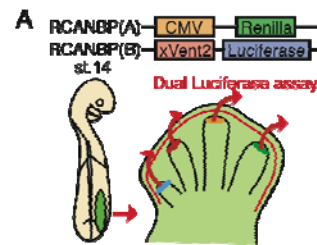


図 2 それぞれの指原基の先端の PFR では異なったレベルの BMP シグナルレベルが活性化している。

外科的に直接 PFR での BMP シグナルを変化させると指の個性が変化する事から、PFR における SMAD1/5/8 の活性化レベルの違いがそれぞれの指の個性の違いを生み出しているメカニズムである事が判明した (Suzuki et al., PNAS, 2008) (図 3)。

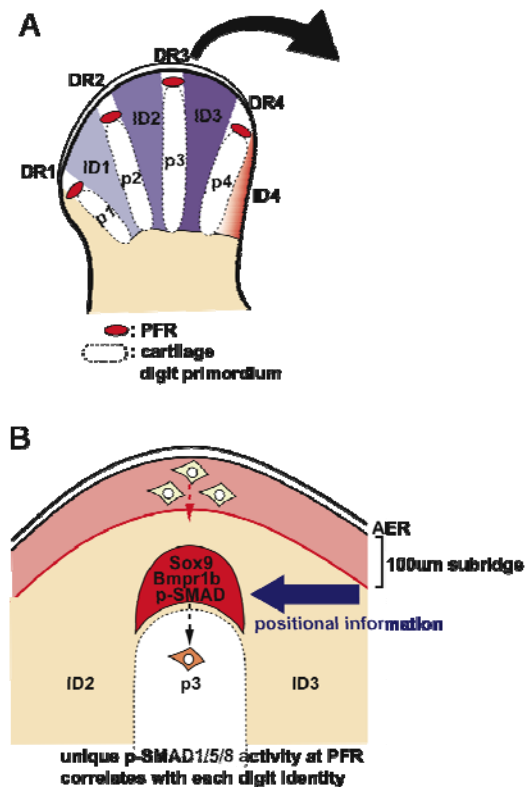


図3 発生中の指原器の先端のPFRが指の個性の決定に重要な領域である。

これまで親指（thumbs）と人差し指の違いなどを、分子レベルで示した結果は無く、今回の成果はヒトを含めた陸上四肢類の手足の進化の仕組み、何故ヒトの指は5本あるのかを解き明かす大きな糸口となる。同じ号の特集記事では“*All thumbs: 不器用な人*”なんて分子生物学的にいないんですよ、と紹介された。

一方、発生期における指の形態形成のメカニズムが少しずつ明らかになって来たことから、多指症や短指症などのヒト先天性指疾患の分子メカニズムが明らかになる事が期待される。新生児における指の先天性異常は心臓に次いで2番目に多いのが現状である。これまでの本研究者の研究から指形成期においてはPFRにおけるBMPシグナルの活性化が重要であるという事が判明したため、今後は指の疾患に関わる遺伝子がPFRにおける

BMPシグナリングの活性化にどのように関わって行くかを調べて行きたい。このことでヒト先天性指疾患の分子レベルでの発祥メカニズムが明らかになると考えられる。興味深い事に、ヒトの短指症であるBrachydactyly type Bの原因遺伝子がBMPレセプターの一つであるBMPRI1Bであることが判明した(Lehmann K., Proc Natl Acad Sci U S A., 2003)。この結果は、まさに申請者が発見したPFRにおけるBMPRI1B下流のシグナルが減少した結果であると考えられる。

さらに、本研究から四足動物の指の形態の多様性を理解する上での知見も得られる。ヒトの祖先は魚類から両生類になる時に指の形態を獲得した。この事は両生類になる時に、四足動物がPFRの機能を獲得した結果であると言える。ここから陸上四肢類はニワトリに代表されるように指の本数やそれぞれの指骨の数を変化させたり、イルカのひれ足の様に指骨の数を非常に増やしたりと多様な形態を持つ器官へと進化して来た。申請者はこれらの指骨のパターンの多様化は、PFRにおける一部の遺伝子の機能が変化した結果であると考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件) 以下査読あり

1. Suzuki T., Hasso S. M., and Fallon J. F.

Unique SMAD1/5/8 activity at the phalanx-forming region determines digit identity.

Proc Natl Acad Sci U S A. 18; 4185-4190 (2008)

2. Suzuki T., and Ogura T.

Congenetic method in the chick limb buds by electroporation.

Dev Growth Differ. 50; 459-465 (2008)

Review

[学会発表] (計2件)

1. Takayuki Suzuki, Sean M. Hasso, John F. Fallon, Toshihiko Ogura
Unique SMAD1/5/8 activity at the phalanx-forming region determines digit

identity.

Chemotaxis to Development OIST meeting、
沖縄、2008.11.15

2. Suzuki T., Sean M. Hasso., and John F.
Fallon. Unidirectional sensitivity exists
at the PFR to specify digit identity
through unique level of SMAD1/5/8 activity
日本発牛生物学会、徳島市 2008.5.26

〔図書〕(計1件)

Takayuki Suzuki and Toshihiko Ogura
Electroporation into the limb: beyond
misexpression
Electroporation and Sonoporation in
Developmental Biology, Springer,
p85-p97(2009)

〔その他〕

ホームページ等

http://web.me.com/stakayuki77/Ogura_lab/Top.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 孝幸(SUZUKI TAKAYUKI)
東北大学・加齢医学研究所・助教

研究者番号：40451629