

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 10 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22770214

研究課題名（和文） Wnt シグナルによる神経系・中胚葉共通前駆体細胞の制御

研究課題名（英文） Wnt-dependent regulation of neuro-mesodermal precursor cells

研究代表者

竹本 龍也（TAKEMOTO TATSUYA）

大阪大学・生命機能研究科・助教

研究者番号：30443899

研究成果の概要（和文）：

脊椎動物の体幹部は、発生の進行と共に産み出される。この過程において、Wnt シグナルは体幹部を形成する細胞の分化決定に重要であることが示唆されている。

本研究では、体の胴部では神経系と中胚葉とが共通の前駆体「体軸幹細胞」から産まれること、そして、そのいずれになるのかは神経系の発生を指令する SOX2 と中胚葉への発生を指令する TBX6 という 2 つの転写因子の力関係で決まることを示した。そして、これらの 2 つの因子の発現に Wnt シグナルが関与していることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Vertebrate develops by addition of posterior tissues. It is well known that Wnt signal has an important role in this process. However, the mechanism of Wnt action in this process remains unknown.

I found that there is a common precursor cell deriving neural and mesodermal cell in the primitive streak region. Two transcription factors, SOX2 and TBX6, control the fate toward neural primordial cells and mesodermal cells, respectively. The expression of these genes is regulated by Wnt signal.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生物学

キーワード：胚葉形成・原腸形成・体節形成

1. 研究開始当初の背景

脊椎動物の体幹部は、発生の進行と共に産み出される。体幹部を形成する主要な組織である神経組織と中胚葉（骨・筋肉など）がどのようにして分離され産み出されるのかは、

明らかになっていない。私は、体幹部神経板での Sox2 遺伝子の発現を担うエンハンサー N1 が、将来の神経系および中胚葉の細胞を生み出す領域（Caudal Lateral Epiblast (CLE) と呼ばれる）において、Wnt および FGF シグナルによって、活性化されることを明らかに

した。しかしながら、CLE の多くの細胞群では Sox2 の発現は抑制されており、この抑制には Wnt が関与している。これらのシグナルを阻害すると、CLE のすべての細胞群が神経系原基細胞へと発生し、体軸の伸張が停止する。これらのことから、Wnt シグナルによる体幹部組織の産出の制御は、きわめて複雑な制御であることが予想されていた。

2. 研究の目的

Wnt シグナルが Sox2 エンハンサーN1 の活性化を介して Sox2 遺伝子の発現に関与していることを示した。一方で、Wnt シグナルは、Sox2 遺伝子の発現を抑制することで、CLE の細胞群が神経系原基へと発生するのを抑制している。

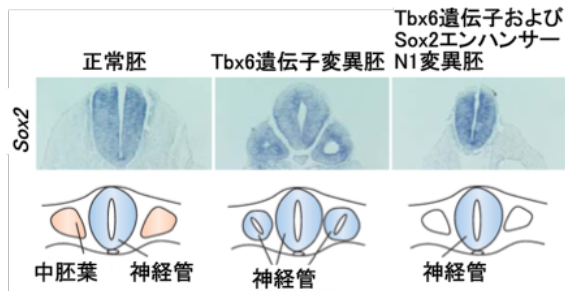
そこで本研究では、神経系原基と中胚葉への分化する細胞群でどのような制御が行われているのかを解析する。また、その制御において Wnt シグナルがどのように関与しているのかを明らかにする。

3. 研究の方法

本研究ではまず、Tbx6 遺伝子欠損マウス胚に着目して研究を進めた。このマウス胚では、異所的に Sox2 が発現し、本来体節中胚葉が形成される胚領域に神経管が形成される。この表現形から、神経系原基と中胚葉の分離においてきわめて重要な役割を果たしていることが予想された。Tbx6 が細胞運命の決定に、どのような機構で働くのか、また、Tbx6 遺伝子自身の発現がどのような制御によって引き起こされるのかを解析した。

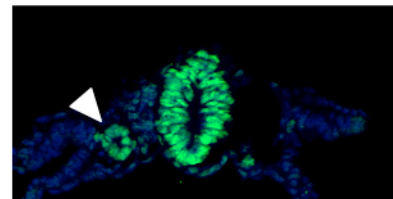
4. 研究成果

Sox2 N1 エンハンサーはマウス胚においても、Wnt と Fgf シグナルによって、CLE で活性化される。このなかで、原条を通過して中



Tbx6遺伝子変異胚では、中胚葉領域へ移動した細胞群でも Sox2遺伝子が発現し、異所神経管を形成する(中)。Sox2発現を失わせると異所神経管形成も起こらなくなる(右)。

胚葉領域へと移動する細胞群では、N1 エンハンサーの活性が失われ、中胚葉へと発生する。しかしながら、Tbx6 遺伝子を欠失したマウス胚では、N1 エンハンサーの活性化が中胚葉領域に移動した細胞群でも維持され、Sox2 遺伝子の異所発現がおこる。その結果、本来中胚葉を形成するはずの細胞が、異所的な神経管を形成する。この胚において、N1 エンハンサーをゲノム上から除くと、異所的な Sox2 発現は消失し、異所神経管は形成されない(図)。TBX6 は、N1 エンハンサーを活性化する Wnt3a リガンドの発現を抑制することで、N1 エンハンサーの活性化を抑制している。また、正常胚で中胚葉特異的に SOX2 を作用させると、その細胞は集合し、異所神経管を形成した(下図)。



中胚葉領域でSOX2を強制発現させると、その細胞が凝集し、異所神経管を形成する(矢頭)。

この研究において、私は、体幹部の神経板と中胚葉とを産み出す体軸幹細胞の存在を示し、また、体軸幹細胞から神経系原基細胞と中胚葉細胞への分化がそれぞれ、転写因子 SOX2 と TBX6 によって制御されていることを明らかにした。[Takemoto T. et al. Nature (2011)].

この Tbx6 遺伝子がどのような制御によって活性化され発現するのかを解析した。Wnt シグナルが中胚葉の発生にも関与していることが予想されたので、Wnt3a 遺伝子欠損マウス胚で、Tbx6 遺伝子の発現を調べた。その結果、Tbx6 遺伝子発現は著しく低下していた。

このことから、Wnt シグナルは、神経系原基への発生を制御する Sox2 のみならず、中胚葉への発生を制御する Tbx6 の発現の両方に関与していることが明らかとなった。

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 3 件)

1. Takemoto T, Uchikawa M, Yoshida M, Bell DM, Lovell-Badge R, Papaioannou VE, Kondoh H.

Tbx6-dependent Sox2 regulation determines

neural or mesodermal fate in axial stem cells.

Nature. 470(7334) (2011): 394-398. (査読有り)

2. Iwafuchi-Doi M, Yoshida Y, Onichtchouk D, Leichsenring M, Driever W, Takemoto T, Uchikawa M, Kamachi Y, Kondoh H.

The Pou5f1/Pou3f-dependent but SoxB-independent regulation of conserved enhancer N2 initiates Sox2 expression during epiblast to neural plate stages in vertebrates.

Dev Biol. 352(2) (2011): 354-366. (査読有り)

3. Uchikawa M, Yoshida M, Iwafuchi-Doi M, Matsuda K, Ishida Y, Takemoto T, Kondoh H. B1 and B2 Sox gene expression during neural plate development in chicken and mouse embryos: Universal versus species-dependent features.

Dev Growth Differ. 53(6) (2011): 761-771. (査読有り)

[学会発表] (計 5 件)

1. Tatsuya Takemoto.

Tbx6-dependent regulation of Sox2 determines neural versus mesodermal fate in axial stem cells.

3rd international Sox meeting. Grainau Germany, 2011. 9. 10

2. Tatsuya Takemoto, Masanori Uchikawa, Megumi Yoshida, Donald Bell, Robin Lovell-Badge, Virginia Papaioannou, Hisato Kondoh.

Tbx6-dependent regulation of Sox2 determines neural versus mesodermal fate in axial stem cells.

44th Annual Meeting for JSDB. OKINAWA 2011. 5. 20.

3. Tatsuya Takemoto, Masanori Uchikawa, Robin Lovell-Badge, Virginia E. Papaioannou and Hisato Kondoh.

Tbx6-dependent regulation of Sox2 enhancer N1 determines the neural vs. mesodermal fate of axial stem cells in the caudal lateral epiblast.

Society for Developmental Biology 69th Annual Meeting, 2010. 8. 5-9. Albuquerque, USA

4. Megumi Yoshida, Tatsuya Takemoto,

Masanori Uchikawa, Hisato Kondoh.

Enhancer N-1-dependent activation of Sox2 during caudal extension of the neural plate and its downstream molecular events. Society for Developmental Biology 69th Annual Meeting, 2010. 8. 5-9. Albuquerque, USA

5. Makiko Iwafuchi-Doi, Tatsuya Takemoto, Yuzo Yoshida, Isao Matsuo, Jun Aruga, Yusuke Kamachi, Masanori Uchikawa, Hisato Kondoh.

A gene regulatory network that underlies the derivation of the anterior neural plate from the epiblast.

Society for Developmental Biology 69th Annual Meeting, 2010. 8. 5-9. Albuquerque, USA

[図書] (計 1 件)

1. 竹本龍也, 近藤寿人

Tbx6 に依存した Sox2 遺伝子の制御が、体軸幹細胞の神経系と中胚葉への発生運命を決定する

学研メディカル秀潤社, 細胞工学 Vol. 30 No. 7 (2011): pp744-745

[その他]

報道関連情報

1. 毎日新聞「同一細胞から神経や筋肉」
2011年02月17日(木)

2. 日本経済新聞「神経形成に命令遺伝子理研が脳、阪大は脊髄で解明」
2011年02月17日(木)

3. 読売新聞「教科書の定説 覆る 神経と筋肉 同じ細胞から発生」
2011年02月17日(木)

4. 産経新聞「中枢神経と骨・筋肉 共通細胞から 阪大など国際チーム」
2011年02月17日(木)

ホームページ等

<http://first.lifesciencedb.jp/archives/2319>

http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/kondoh/Kondoh_Lab/Welcomed.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹本 龍也 (TAKEMOTO TATSUYA)
大阪大学・生命機能研究科・助教
研究者番号：30443899