

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K19397

研究課題名(和文) 遺伝子ネットワークの操作による新規細胞の創出

研究課題名(英文) Creation of neural crest-like cells by manipulating gene networks

研究代表者

今井 薫(佐藤薫)(Imai, Kaoru)

大阪大学・理学研究科・准教授

研究者番号：00447921

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：脊椎動物の神経堤細胞は脊椎動物の胚発生において神経・表皮境界領域から生じ、体の様々な場所に移動して様々な細胞に分化し脊椎動物の体を作る上で重要な役割を果たしている。海産無脊椎動物ホヤは脊椎動物と同じ脊索動物であるが、神経堤細胞は持っておらず脊椎動物の進化の過程で、神経・表皮境界領域の細胞が移動能と多分化能をもつことによって神経堤細胞が生まれ出されたのではないかと考えられている。本研究では脊椎動物の神経堤細胞形成のネットワークとホヤの神経・表皮境界領域における遺伝子ネットワークを比較し、ホヤで欠如しているネットワークを補うことにより、ホヤに人為的に神経堤細胞を作りだすことを試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊椎動物の神経堤細胞形成のネットワークとホヤの神経・表皮境界領域における遺伝子ネットワークを比較すると、ホヤでも共通のサブネットワークが多く見つかるが、神経堤細胞を特殊化するネットワークや、細胞の移動や分化をつかさどるネットワークの一部が欠けている。これらホヤで欠如しているネットワークの構成遺伝子(TFAP2, myc, SoxF, FoxD)について、ホヤのネットワークを人工的に補う遺伝子導入実験を行ったところ、背側神経・表皮境界領域において神経堤細胞特異的遺伝子が発現することを確認した。しかし、これら細胞が神経堤細胞のように移動していく様子は観察されなかった。

研究成果の概要(英文)：Vertebrate neural crest cells originate from the neural plate border region during embryonic development and migrate to various parts of the body and differentiate into various cells such as nerve cells, glial cells, pigment cells, bones and cartilage. The marine invertebrate ascidian belongs to the phylum chordate which also includes vertebrate. However, ascidian does not have neural crest cells. Therefore, during evolution of chordate, it is considered that the neural plate border cells obtained pluripotency and the ability to migrate, resulting in the creation of neural crest cells. However, in ascidians, it has been reported that cells in the neural plate border region have properties similar to neural crest cells, although they do not migrate. We compare the gene regulatory network of vertebrate neural crest formation with that of the ascidian neural plate border region, and artificially create neural crest cells in the ascidian by supplementing the network lacking in the ascidian.

研究分野：発生生物学

キーワード：神経堤細胞

### 1. 研究開始当初の背景

私はこれまでカタユレイボヤの初期発生に関わる転写因子やシグナル分子の遺伝子ネットワークの研究を行ってきた(Imai et al., 2004, Development, Imai et al., 2006, Science, Imai et al., 2009, Development)。とくにここ数年は外胚葉における遺伝子ネットワークの解明にとりくんできた(改訂稿投稿中)。Tfap2 は脊椎動物では神経堤の形成に重要な役割を果たすが、ホヤでは神経・表皮境界領域での発現が抑制され、表皮の分化にしか働いていなかった。また、FoxD などの脊椎動物の神経堤形成遺伝子はホヤでは神経表皮境界領域では発現せず、中胚葉の分化にしか関わっていない(Imai et al., 2002, Development)。このようにホヤと脊椎動物の間では、遺伝子発現パターンだけでなく、遺伝子ネットワークのレベルでの比較が可能になっている。こうした状況を踏まえて、ホヤの神経・表皮境界領域に欠如しているネットワークを明らかにし、その部分を遺伝子の導入によって補うことにより人為的な神経堤細胞を作り出すことができるのではないかと考えるに至った。

神経堤細胞で発現する遺伝子の比較研究はホヤと同じように神経堤細胞をもたないナメクジウオでもくわしく調べられている。しかしナメクジウオはホヤよりも早く分岐した脊索動物であり、系統的位からはホヤのほうが本実験に適している。また、ナメクジウオでは、遺伝子導入実験や機能障害実験が難しく、本研究のような再現実験は難しい。ホヤは遺伝子導入実験が容易なので、脊椎動物の神経堤形成に重要な遺伝子を発現量、発現時期などを様々に変えて神経・表皮境界領域で発現させ、脊椎動物の神経堤細胞に相当する細胞ができないか確かめることができる

### 2. 研究の目的

脊椎動物を特徴づける最も重要な細胞の一つに神経堤細胞があげられる。この細胞は脊椎動物の胚発生において神経・表皮境界領域から生じ、体の様々な場所に移動して神経細胞、グリア細胞、色素細胞、骨や軟骨など、様々な細胞に分化し脊椎動物の体を作る上で重要な役割を果たしている。海産無脊椎動物ホヤは脊椎動物と同じ脊索動物であり、脊椎動物の姉妹群にあたる尾索類に属するが、神経堤細胞は持っていない。したがって、脊椎動物の進化の過程で、神経・表皮境界領域の細胞が移動能と多分化能をもつことによって神経堤細胞が生み出されたのではないかと考えられている。しかし、ホヤでも、神経・表皮境界領域からできる細胞が、不完全ではあるが神経堤細胞に似た性質をもつことが報告されている。本研究では脊椎動物の神経堤細胞形成のネットワークとホヤの神経・表皮境界領域における遺伝子ネットワークを比較し、ホヤで欠如しているネットワークを補うことにより、ホヤに人為的に神経堤細胞を作りだすことを試みる。進化の過程で新規な細胞が出現するためには、どのように既存のネットワークが変化することが必要なのか探ることが目的である。

### 3. 研究の方法

脊椎動物の神経堤細胞形成の遺伝子ネットワークのうち特に神経・表皮境界領域を決定するサブネットワークはホヤの神経・表皮境界領域でもほぼ保存されている(図 A)。しかし、脊椎動物の神経堤細胞を特殊化するネットワークや、細胞の移動や分化をつかさどるネットワークの遺伝子の一部はこの領域の細胞で発現していない。例えば、脊椎動物で特に重要な働きをすることが知られている FoxD や Tfap2、SoxE などはホヤの神経・表皮境界領域では全く発現が見られない。こういった遺伝子を、ホヤ神経・表皮境界領域で発現を誘導す

るエンハンサーを用いて、人工的に発現させる。この操作によりそれらの下で働く遺伝子回路を強制的に神経・表皮境界領域で働かせることができるはずである。例えば *FoxD* は通常ホヤでは脊索や間充織といった中胚葉の細胞の特殊化に関わっており、*FoxD* の下流では *Twist, Snail* といった細胞移動に関わる遺伝子が発現する。したがって *FoxD* をホヤ神経・表皮境界領域で発現させることにより、細胞移動を引き起こす可能性がある。また *FoxD* は脊椎動物では幹細胞の維持に働くことが知られており、ホヤでも同様の働きをする可能性がある。

*Tfap2* は脊椎動物では神経提細胞に加え、表皮でも発現し、その分化に関わっている。ホヤの *Tfap2* では表皮の分化に関わるが、神経・表皮境界領域では発現せず、もっぱら表皮の分化に関わっている（改訂稿投稿中）。例えば *FoxD, Tfap2* をホヤ神経・表皮境界領域に同時に発現させれば、もともとここで発現している神経の形成に必要な *Zic*、表皮の形成に必要な *Tfap2*、中胚葉を特殊化する *FoxD* 遺伝子が一緒に発現することになる。その結果これらのどれにも分化しない未分化な状態を作り出せる可能性がある。

ホヤ胚における遺伝子発現パターンは詳細に記載されており (Imai et al., 2004, Development)、神経・表皮境界領域で発現する遺伝子が複数あることがわかっている。これらは発現開始時期や発現量が異なっており、これらのエンハンサーを利用して遺伝子導入実験を行うことにより、ホヤ胚の神経・表皮境界領域特異的に導入遺伝子の発現時期・発現量を変化させることができる。また、ホヤ胚では複数の遺伝子を様々な組み合わせで導入する実験も容易である。

方法としては比較的単純であるが、場合によっては導入する遺伝子の発現量や発現時期、あるいはシグナル分子が必要かどうかなど様々な条件を細かく調べていく必要があるだろう。また、本来その生物が持たない種類の細胞を作りだそうという挑戦的な新しい試みであるので、既成概念にとらわれずに様々な可能性を探索する必要があるだろうと考えている。

#### 4. 研究成果

脊椎動物の神経提細胞形成のネットワークとホヤの神経・表皮境界領域における遺伝子ネットワークを比較すると、ホヤでも共通のサブネットワークが多く見つかるが、神経提細胞を特殊化するネットワークや、細胞の移動や分化をつかさどるネットワークの一部が欠けている。これらホヤで欠如しているネットワークの構成遺伝子 (*TFAP2*, *myc*, *SoxF*, *FoxD*) について、ホヤのネットワークを人工的に補う遺伝子導入実験を行ったところ、背側神経・表皮境界領域において神経提細胞特異的遺伝子が発現することを確認した。しかし、これら細胞が神経提細胞のように移動していく様子は観察されなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------