

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2006～2010

課題番号：18107006

研究課題名(和文) 組織構造の反復性を生み出す分子ネットワーク

研究課題名(英文) **Molecular mechanism underlying metameric morphogenesis**

研究代表者

高田 慎治 (TAKADA, SHINJI)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構(岡崎共通研究施設)・岡崎統合バイオサイ

イエンスセンター・教授

研究者番号: 60206753

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学、発生生物学

キーワード：発生・分化、細胞・組織、遺伝子、発現制御

1. 研究計画の概要

本研究では、体節の分節化過程において「時間経過に沿った漸進的な領域の区画化」を生み出す分子メカニズムの解明を目指し、

(1) 体節形成に必要な役割をはたす未知の遺伝子の同定と、これら遺伝子を含めた体節形成に関わるさまざまな遺伝子間の相互作用の解明を行う。それと同時に、(2) 体節の分節化に関わる遺伝子間作用が体節形成以外の発生過程において担う役割を明らかにし、体節の分節化メカニズムを多角的に理解する。

2. 研究の進捗状況

これまでの3年間の研究で、(1) 体節形成の各素過程に関わる分子の同定と分子間相互作用を解明するとともに(2) それら分子ならびに分子間相互作用が体節の分節形成以外の局面で担う役割を解明し、分節メカニズムの一般性を検討する、という当初の基本的な研究計画は達成されつつある。さらに、当初計画では想定していなかった新たな波及効果を生み出している。以下にその成果のいくつかの例を紹介する。

(1) 体節形成の各素過程に関わる分子の同定と分子間相互作用の解明

これまで原因遺伝子が未同定だったゼブラフィッシュ突然変異体4系統について、当初の計画通りその原因遺伝子を同定した。そのうちの1系統では、Rtf1が原因遺伝子であることが判明した。Rtf1は転写伸長やクロマチン修飾に関わるPaf1複合体の構成因子であり、Rtf1変異体では体節の分節化に大きな役割を果たすNotch情報伝達による標的遺

伝子の転写活性化が選択的に減少していた。また、他のPaf1複合体構成因子や転写伸長因子であるSpt5やSpt6もRtf1と協調して体節分節の形成を制御していることを見だし、体節の分節化過程におけるNotchシグナル伝達系が機能する上での分子基盤の一端を明らかにした(Akanuma et al. 2007)。

突然変異体の原因遺伝子の同定とは別のアプローチからの解析も進めた。未分節中胚葉で強く発現する遺伝子としてすでに同定したRipply1は転写共抑制因子Grouchoと相互作用することから、体節の分節形成に関わる遺伝子の転写抑制に働くものと考えられる。そこで、Ripply1のターゲットになる遺伝子を探索した結果、空間的な分節パターン形成の主役であるMesp-b遺伝子の発現を直接抑制することを突き止めた。さらに、その抑制には空間的な分節パターン形成に関わるもう一つの転写制御因子Tbx24が必要であり、種々の解析の結果、Ripply1はGroucho/HDAC転写共抑制因子複合体とTbx24を結合させるメディエーターとして機能し、Tbx24の転写活性因子から抑制因子へと転換させているという結論を得ることができた(Kawamura et al. 2008)。したがって、Tbx24はRipply1の発現に応じてその転写調節因子としての性質を変えてMesp遺伝子の発現を巧妙に制御しており、その結果として規則正しい分節構造が形作られるものと考えられる。

(2) 体節において同定された分節メカニズムの一般性の検討

さて、体節と同様に頭部から尾部にかけて逐次分節が形成される組織として、咽頭弓が

知られる。我々は、Ripplyファミリーの3つの遺伝子の一つRipply3が、咽頭弓において体節形成過程のRipply1と良く似た特徴的な発現様式を示すことを見いだした。Ripply3は咽頭弓形成期の間ずっと咽頭弓領域の最後端で強く発現する。興味深いことに、この領域ではTbox転写制御因子の一つTbx1が発現していることから、咽頭の分節形成過程において体節と同様にTbx-Ripplyの相互作用が重要な働きをしているのではないかと考え、Ripply3ノックアウトマウスを作成し解析した。Ripply3ノックアウト胚では、第3体節より後方の分節性が完全に消失し、この領域から発生する胸腺、副甲状腺、心臓流出路、動脈弓などに異常が認められた。これは、体節以外の分節形成の場に体節の場合と同様の分子機構が関与することを示唆した初めての例であり、咽頭弓と体節という脊椎動物に共通する代表的な分節組織が形成される過程で、分子機構の上でも共通性があるという新たな考え方が提示できた。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由) 当初掲げた2つの目的に対して、研究は順調に進展しており、上記の評価がふさわしいと考えている。まず、第1の目的である「体節形成の各素過程に関わる分子の同定と分子間相互作用の解明」であるが、体節の分節形成に異常を呈するゼブラフィッシュ突然変異体の原因遺伝子の同定はすでに完了し、体節の分節機構を我々独自の観点から明らかにするために重要な遺伝子の絞り込みをすることができ、その機能解析も順次進みつつある。特に、Ripplyに関してはその転写抑制作用の分子メカニズムを明らかにすることに成功し、今後のさらなる進展が期待できる状況にある。この目的に沿った研究では、すでに2報の論文を国際誌に発表しており、さらにRipply1,2の二重変異体を用いた解析等についても研究期間内に公表する予定である。

第2の目的である「体節において同定された分節メカニズムの一般性の検討」については、当初の予想を超える進展があった。咽頭弓においてRipply3-Tbx1が体節におけるRipply1-Tbx24と同様に分節化に関わることを示したことは、当初の目標からすればすでに十分な成果であるが、さらにRipply3変異体では咽頭派生器官の発生に興味深い異常が認められており、当初の予定を超えた展開が期待できる。これらの研究成果はこれから2年間の本研究の期間内に複数の論文として公表する予定である。

4. 今後の研究の推進方策

体節の分節形成に関わる分子間の相互作

用についてさらに詳細に解析をして行くと同時に、咽頭弓の分節形成に関わる分子の探索を行い、体節と咽頭弓の分節形成機構の共通性と相違性についての検討を行う。

5. 代表的な研究成果

(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6件)

- ① Kawamura, A., Koshida, S., & Takada, S. “Activator-to-repressor conversion of T-box transcription factors by the Ripply family of Groucho/TLE-associated mediators.” *Mol. Cell Biol.* **28**, 3236-3244. (2008) (査読有)
- ② Akanuma, T., Koshida, S., Kawamura, A., Kishimoto, Y., & Takada, S. “Paf1 complex homologues are required for Notch-regulated transcription during somite segmentation.” *EMBO Rep.* **8**, 858-863 (2007) (査読有)

[学会発表] (計16件)

- ① Takada, S. “Ripply3, a negative regulator of Tbx1, is required for development of caudal pharyngeal arches and their derivatives” in Cold Spring Harbor Meeting on Mousse Molecular Genetics”, Cold Spring Harbor, U. S. A., Oct. 29- Nov.2 (2008)
- ② Okubo, T., Kawamura, A., Takahashi, J., Ohbayashi, A., & Takada, S. “Tbx-associated transcriptional corepressor, Ripply3, plays essential roles in pharyngeal development” in annual meeting of Society for Developmental Biology, Philadelphia, July 26-30 (2008)
- ③ Takada, S. “Transcriptional repression of mesp gene via Groucho/TLE-associated mediator Ripply.” in Satellite meeting to the 66th Annual Meeting of the Society for Developmental Biology and the First Pan-American Congress in Developmental Biology: Somitogenesis: from models to Therapeutics, Cancun (Mexico), June 16 (2007)

[その他]

ホームページ

<http://www.nibb.ac.jp/cib2/>