



動物はひとつの受精卵が細胞分裂を繰り返して細胞の数を増やし、それぞれの細胞の性質を変えながら、生物として固有の形づくり（形態形成）を行う。その過程には細胞同士のコミュニケーション、すなわち細胞間相互作用が必須であることが知られている。細胞間相互作用には細胞増殖因子が介在し、シグナル伝達系を介して転写調節因子の働きを調節することによって細胞分化、細胞運動をダイナミックに制御する。我々はこの過程をプログラムとして理解し、動物種間で比較することによって、形態形成メカニズムの共通性、多様性に迫りたいと考えている。

原腸形成の分子機構

原腸形成は生物の形づくりの根幹をなす必須の生命現象である。原腸形成は単に腸を形成するための細胞運動ではなく、そのダイナミックで協調した細胞運動によって三胚葉をその後の形態形成のために正しく配置させ、球形の受精卵を頭尾軸に伸長した形態へと導く。この細胞運動は収斂と伸長（convergent extension）という細胞運動からなることが知られている。胚の側方（左右）から細胞が正中線に向かって収斂し、左右からの細胞が互いに挿入し合うこと（intercalation）が前方に向かって伸長する原動力となる。これらの細胞運動はどのように制御されているのか、細胞自律的なプログラムなのか、細胞外からの刺激によるものなのか、その分子機構についてはいまだに不明な点が多い。しかし最近、これらの細胞運動の分子機構が少しずつではあるが解明されつつあり、原腸形成運動は、細胞に組み込まれた自律的プログラムと言うよりはむしろ、細胞外シグナルを受けて、それに応答した細胞が正中線に向かって移動する運動であることがわかってきた。Wnt は Frizzled ファミリーの 7 回膜貫通型受容体を介してシグナルを細胞内に伝達するが、そのシグナル伝達経路は β カテニン依存的経路と非依存的経路に分類できる。原腸形成は Wnt11 を引き金とする後者によって制御されていることもわかりつつある。興味深いことにこの伝達経路は、ショウジョウバエの翅の細胞における平面細胞極性（PCP）の決定に関わるシグナル伝達経路と極めて相同性が高く、脊椎動物の原腸形成においても細胞の極性決定が細胞形態の変化や運動の基盤となっていることが示唆されている。実際に、我々はショウジョウバエ PCP 遺伝子の *prickle*

www.nibb.ac.jp/morphgen/

形態形成研究部門

相同遺伝子 XPK が脊椎動物にも存在し、アフリカツメガエルの原腸形成に必須の役割を担っていることを明らかにした（文献 4）。また、これまで原腸形成運動における β カテニン非依存的 Wnt 経路の必要性は報告されていたが、その役割については不明であった。我々は胚の細胞において Wnt シグナルがアクチン細胞骨格に作用し、突起形成など細胞運動に関わる活動に重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、原腸形成運動における細胞接着や細胞突起形成の基礎となる細胞表面アクチンが、胚の細胞においてアクチン結合タンパク質 MARCKS (myristoylated alanine-rich C kinase substrate) によって維持されており、それによって Wnt シグナルによる細胞運動制御が可能となることを示した（文献 7）。さらにマイクロアレイや発現クローニング法によって原腸形成運動を制御する新規因子を同定し、その機能解析を行っている。最近、Neurotrophin Receptor Homolog (NRH) が細胞のフィロポディア形成を促進し（図 1）、原腸形成運動に必須であることを明らかにした（文献 8）。

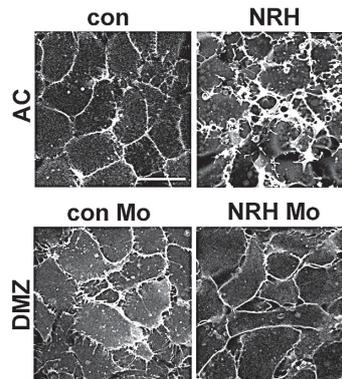


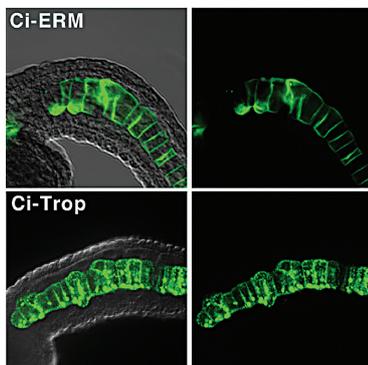
図 1. NRH はフィロポディア形成を介して原腸形成運動を制御する

通常フィロポディアを形成しない外胚葉（AC）に NRH を過剰発現するとフィロポディア形成が促進される（NRH）。逆に背側中胚葉細胞（DMZ）で NRH モルフォリノオリゴ（NRH Mo）を顕微注入すると、フィロポディア形成が阻害され、原腸形成が異常になる。

脊索形成の分子機構

脊索はその名の由来が示すように脊索動物を特徴付ける最も重要な形質である。個体発生学的にみて初期発生過程の原腸形成運動を担い神経誘導を引き起こす器官として、また系統発生学的にみて脊索動物門に含まれる動物群を特徴づける最も顕著な形質として、発生学上非常に重要な器官であるといえる。原始的な脊索動物である尾索類ホヤは原腸胚期から尾芽胚期にかけて、オタマジャクシ型幼生の尾部中央にわずか 40 個の脊索細胞が収斂と伸長の細胞運動により一列に並び、これまでに、我々はカタユレイボヤ脊索特異的遺伝子約 40 を転写因子 *Brachyury* 下流遺伝子群から単離してきた。これら遺伝子の脊索形成過程における機能を明らかにするために脊索特異的に発現する EGFP 発現ベクターとともに、脊索で特異的に発現する約 40 種類の遺伝子の Morpholino アンチセンスオリゴをカタユレイボヤ受精卵に顕微注入して脊索形成過程における遺伝子機能を解析している。また、

各脊索特異的遺伝子とEGFPとの融合タンパク質を脊索細胞で特異的に発現させ脊索細胞内での分子挙動を解析している(図2)。脊索形成過程の各ステップにおいて働く遺伝子の機能を明らかにすることから、脊索がつくられていく分子的基盤を明らかにすることを試みている。また、この原始的な



脊索動物であるホヤの脊索形成過程を解析することは、脊索動物の起源と進化を明らかにする道にもつながると考えている。

図2. ホヤ幼生の脊索特異的に発現する遺伝子産物の細胞内局在

エピジェネティック制御因子 Tna/TONAS の解析

高等動物の遺伝子発現の一部は、クロマチンの高次構造変化を伴う機構、すなわち、エピジェネティックな機構により制御されている。エピジェネティック制御に関与する代表的な遺伝子群として、Trithorax (Trx) グループと Polycomb (Pc) グループ遺伝子群が知られており、どちらもショウジョウバエの遺伝学的な解析から見いだされたものである。Trx グループは各種 Hox 遺伝子の発現維持に対して正に、Pc グループはこれとは逆に負に働いていることが知られている。これらは、何れも脊椎動物まで広く保存されており、動物の形態形成機構に深く関与している。

我々はショウジョウバエの翅形成に関与する遺伝子の遺伝学的スクリーニングから、Trx グループに属する変異体 *tonalli* (*tna*) を単離した。*tna* は脊椎動物まで保存された分子で、ヒト、マウスには2種類の *tna* ホモログ (TONAS-1, TONAS-2) が存在する。TNA および TONAS タンパクは、約 1000-1100 アミノ酸からなる核タンパク質で、SP-RING と呼ばれるモチーフを中央部分に持っている。SP-RING はタンパク質の SUMO 修飾に関与する機能ドメインであることが知られている。実際に TONAS の SUMO 化 E3 活性を調べてみると、TONAS がそれ自身を基質として、SUMO 化を促進する活性があることが明らかになった。また、TNA

タンパク質はショウジョウバエ唾腺染色体の特定のバンドに結合している(図3)ことから、他の Trx グループ因子と協調して遺伝子発現制御に関わっていることが推察された。しかしながら、TNA/TONAS が Trx グループの機能に必須であるのか、または部分的な調節機構を担っているのかは分かっていない。また、タンパク質の SUMO 化修飾が Trx グループの機能、およびエピジェネティック制御にどのように関わっているのかは、今のところ全く未知の問題である。今後も、ショウジョウバエを用いた遺伝学的解析とヒト培養細胞を用いた解析から、これらの問題にアプローチしていく予定である。

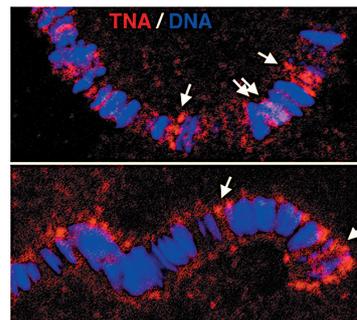


図3. ショウジョウバエ唾腺染色体に於ける TNA タンパク質の局在 TNA が結合している染色体バンドの一部を矢印で示す。TNA(赤), DNA(青)

参考文献

1. Takahashi, H., Hotta, K., Erives, A., Di Gregorio, A., Zeller, R. W., Levine, M., and Satoh, N. (1999). Brachyury downstream notochord differentiation in the ascidian embryo. *Genes Dev.* **13**, 1519-1523.
2. Morita, K., Flemming, A. J., Sugihara, Y., Mochii, M., Suzuki, Y., Yoshida, S., Wood, W. B., Kohara, Y., Leroy, A. M., and Ueno, N. (2002). A *Caenorhabditis elegans* TGF-beta, DBL-1, controls the expression of LON-1, a PR-related protein, that regulates polyploidization and body length. *EMBO J.* **21**, 1063-1073.
3. Ohkawara, B., Yamamoto, T. S., Tada, M., and Ueno, N. (2003). Role of glypican 4 in the regulation of convergent extension movements during gastrulation in *Xenopus laevis*. *Development* **130**, 2129-2138.
4. Takeuchi, M., Nakabayashi, J., Sakaguchi, T., Yamamoto, T. S., Takahashi, H., Takeda, H., and Ueno, N. (2003). The prickler-related gene in vertebrates is essential for gastrulation cell movements. *Curr. Biol.* **13**, 674-679.
5. Kurata, T., and Ueno, N. (2003). *Xenopus* Nbx, a novel NK-1 related gene essential for neural crest formation. *Dev. Biol.* **257**, 30-40.
6. Kinoshita, N., Iioka, H., Miyakoshi, A., and Ueno, N. (2003). PKC delta is essential for Dishevelled function in a noncanonical Wnt pathway that regulates *Xenopus* convergent extension movements. *Genes Dev.* **17**, 1663-1676.
7. Iioka, H., Ueno, N., and Kinoshita, N. (2004). Essential role of MARCKS in cortical actin dynamics during gastrulation movements. *J. Cell Biol.* **164**, 169-174.
8. Chung, H. A., Hyodo-Miura, J., Nagamune, T., and Ueno, N. (2005). FGF signal regulates gastrulation cell movements and morphology through its target *NRH*. *Dev. Biol.* **282**, 95-110.

STAFF



上野 直人
教授



木下 典行
助教授



中村 真
助手



高橋 弘樹
助手



飯岡 英和
研究員

技術課技術職員

高木 知世

博士研究員

三浦 純子

田尾 嘉誉

総合研究大学院大学院生

前田 昌人

LEE, Rebecca

進藤 麻子

特別共同利用研究員

鄭 恵英

吉兼 奈美

技術支援員

山本 隆正

高松 香

山田 成宏

谷山 和美

寺坂 知恵

事務支援員

三宅 智子

柘植 豊子