

1-2 分子発生

高田 慎治 (教授)

1) 専門領域：発生生物学, 分子生物学

2) 研究課題：

- a) 脊椎動物の体節形成機構に関する研究
- b) 脊椎動物の鰓弓の発生機構に関する研究
- c) 脊椎動物の発生過程における細胞間シグナルの機能に関する研究

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) 脊椎動物の体節は頭部側から尾部側にかけて逐次、周期的に形成される。個々の体節ユニットが時間経過とともに順次形成されていく仕組みは、すでにその理解が進んでいる多くの発生現象には認められていない独特なものであり、その解明には興味をもたれる。本年度は体節の構造的周期性を理解する上で最も重要である、体節間の境界位置の形成機構を解明することを目的として、そこに関与する Ripply 遺伝子に着目して研究を行った。昨年度までの研究から、脊椎動物には Ripply 遺伝子が3つ存在し、そのうち Ripply 1 と 2 は体節の発生過程で発現すること、これら2つの遺伝子の機能をともに欠落させた二重変異体マウスでは体節内の前後極性に異常をきたし、体節がほぼ完璧に前方化を起していることが明らかになっていた。一方、最近の他のグループの研究から、体節間の境界位置は、転写調節因子である Tbx 6 タンパク質の分布により決められること、そしてこの分布は別の転写調節因子 Mesp 2 を介して Tbx 6 タンパク質の分解が制御されることにより制御されることが示されている。それに対して我々は、Ripply 1 と Ripply 2 の発現が Mesp 2 により誘導されること、さらに Ripply 1 と 2 の二重変異体マウス胚では、Tbx 6 mRNA の発現パターンは正常であるにもかかわらず、Tbx 6 タンパク質が存在する領域が本来よりも大きく拡張し、体節間の境界位置が決定されなくなることを突き止めた。すなわち、Mesp 2 により Ripply 1 および Ripply 2 遺伝子の発現が誘導され、その結果 Tbx 6 タンパク質の分解が引き起こされ、体節の境界位置が決定するものと考えられた。現在、これらの結果に基づき、Ripply による Tbx 6 タンパク質の分解機構の解析を進めているところである。
- b) 咽頭弓は体節と同様に頭部側から尾部側にかけて逐次、周期的に形成されることが知られている。したがって、体節形成と咽頭弓形成の間には何らかの共通する分子メカニズムが存在するのではないかと考えられるが、そのような考え方の妥当性は明らかにされていない。一方、咽頭弓からは様々な器官が派生することから、その発生機構にも大きな興味を持たれる。我々はマウスの3つの Ripply 遺伝子うち、Ripply 3 が咽頭弓で発現することを見いだした。そこで、Ripply 3 のノックアウトマウスを作成しその表現型の解析を行った。Ripply 3 ホモ変異体は、生後すぐにチアノーゼを呈して致死となった。さらなる詳細な解析から、Ripply 3 変異体胚では、第3, 4咽頭弓がほとんど形成されず、咽頭弓動脈も全く形成されないこと、そしてその結果として、心室中隔壁欠損や大動脈の形成異常を引き起こすことが明らかになった。また、Ripply 3 変異体胚では、咽頭弓から発達する胸腺や副甲状腺も形成不全になることが観察された。したがって、Ripply 3 は咽頭弓ならびに心臓や動脈系、胸腺、副甲状腺などの器官が正常に形成されるために必要であることが明らかになった。

さらに, Ripply3 は咽頭弓で発現する転写制御因子 Tbx 1 機能を制御することも示された。すなわち, 体節と咽頭弓においては異なる組み合わせの Tbx と Ripply 遺伝子が相互作用していることが明らかになったことになり, 両組織の発生のしくみを考える上で興味を持たれた。

- c) 形態形成が正しく進行するためには, 分泌性シグナルタンパク質の分泌や拡散が厳密に制御される必要がある。我々は, 分泌性シグナルタンパク質である Wnt タンパク質には特殊な不飽和脂肪酸が付加していることを見だし, この脂肪酸付加が Wnt の分泌には必要であることを明らかにした。今年度はこのような成果をふまえ, 分泌された Wnt タンパク質の実体の解析を進めるとともに, 細胞外に分泌された Wnt タンパク質のイメージングやゼブラフィッシュを用いた脂肪酸付加酵素の役割について研究を進めた。

4) 学術論文

T. Okubo, A. Kawamura, J. Takahashi, H. Yagi, M. Morishima, R. Matsuoka and S. Takada, “Ripply3, a Tbx1 repressor, is required for development of the pharyngeal apparatus and its derivatives in mice” *Development* in press

J. Takahashi, A. Ohbayashi, M. Oginuma, D. Saito, A. Mochizuki, Y. Saga and S. Takada, “Analysis of Ripply1/2-deficient mouse embryos reveals a mechanism underlying the rostro-caudal patterning within a somite.” *Dev. Biol.* **342**, 134-145 (2010).

M. Nishita, S. Itsukushima, A. Nomachi, M. Endo, Z. Wang, D. Inaba, S. Qiao, S. Takada, A. Kikuchi and Y. Minami, “Ror2/Frizzled complex mediates Wnt5a-induced AP-1 activation by regulating dishevelled polymerization.” *Mol. Cell. Biol.* **30**, 3610-3619 (2010).

Y. Yoshinaga, T. Kagawa, T. Shimizu, T. Inoue, S. Takada, J. Kuratsu and T. Taga, “Wnt3a promotes hippocampal neurogenesis by shortening cell cycle duration of neural progenitor cells.” *Cell. Mol. Neurobiol.* **30**, 1049-1058 (2010).

H. Hashimoto, K. Shinohara, J. Wang, S. Ikeuchi, S. Yoshida, C. Meno, S. Nonaka, S. Takada, K. Hatta, A. Wynshaw-boris and H. Hamada, “Planar polarization of node cells determines the rotational axis of node cilia.” *Nat. Cell Biol.* **12**, 170-176 (2010).

Y. Miyaoka, M. Tanaka, T. Imamura, S. Takada and A. Miyajima, “A novel regulatory mechanism for Fgf18 signaling involving cysteine-rich FGF receptor (Cfr) and delta-like protein (Dlk)” *Development* **137**, 159-167(2010).

R. Katayama, T. Ishioka, S. Takada, R. Takada, N. Fujita, T. Tsuruo and M. Naito, “Modulation of Wnt signaling by the nuclear localization of cellular FLIP-L” *J. Cell Sci.* **123**, 23-28. (2010).

9) 招待講演

Shinji Takada “Specific lipidation of secreted Wnt proteins” in ACE Biomedical Science Symposium, Cheingju (Korea) Nov.6 2010.

Takdash Okubo, Hisato Yagi, Rumiko Matsuoka, Shinji Takada “Ripply3, a Tbx1 modulator, is required for the pharyngeal apparatus and cardiovascular development” in 42nd Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists (京都2010年2月).

高田慎治「体節と咽頭弓の分節構造の発生機構」：仙台・動物発生コロキウム2010 (仙台, 2010年1月)

高田慎治「脊椎動物の反復構造を形作る分子システムー体節と咽頭弓の発生についてー」：第1回「発生システム」シンポジウム (千葉, 2010年2月).

高田慎治「細胞外環境における Wnt タンパク質の挙動：これからの課題」(京都, 2010年2月).

高田慎治「咽頭弓と体節の発生における Jagged シグナルとフィブロネクチンの相互作用」：ミニシンポジウム「細胞外環境による高次生命現象の制御」第62回日本細胞生物学会(大阪, 2010年5月).

高田慎治「分泌性シグナルタンパク質 Wnt における脂肪酸修飾の意義」(埼玉, 2010年9月).

高田慎治「アシル基転移酵素 Porcupine による Wnt の脂肪酸修飾とその発生における役割」：ワークショップ「アシル基転移酵素の生物学と疾患」第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生化学会合同大会(神戸, 2010年12月).

8) 学会および社会的活動

日本発生生物学会運営委員, 日本分子生物学会会員(高田慎治)

9) 他大学での非常勤講師, 客員教授

埼玉大学理学部非常勤講師(高田慎治)