

時系列生命現象研究領域

(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、その解明には興味もたれる。体節の前駆細胞である未分化な沿軸中胚葉細胞は胚の最後端に位置する幹細胞様細胞から生み出される。体節が逐次形成されて行くためには、MPC から沿軸中胚葉細胞が順次分化することが重要である。この分化の制御は、発生における幹細胞分化のモデル系としても注目されるが、その分子機構は十分には明らかになっていない。我々はゼブラフィッシュを用いて、幹細胞様細胞から沿軸中胚葉細胞への分化機構を研究している。ゼブラフィッシュでは、Mesoderm progenitor cell (MPC)と呼ばれる幹細胞様細胞が存在し、その未分化性は細胞間シグナル Wnt と転写制御因子 *ntl/bra* 間のポジティブフィードバックによって維持される。それに対して、MPC からの細胞分化が始まる機構については十分な解明がなされていなかったが、我々はこの分化に関わる遺伝子として *mesogenin 1 (msgn1)* を同定した。*msgn1* は bHLH 型の転写調節因子をコードし、MPC から分化し始めた沿軸中胚葉細胞で発現する。そこでまず、その機能阻害胚を作製したところ、尾部の形態形成に軽微な異常が見られた。ゼブラフィッシュの胴体部の発生においては、MPC から沿軸中胚葉細胞の分化に別の転写調節因子 *tbx16/spade tail* が必要であることが既に知られている。そこで、尾部における MPC からの分化における *msgn1* と *tbx16* の関係を調べるため、両者の二重機能阻害胚を作製したところ、*tbx16* 変異体で見られている胴体部での異常に加えて尾部においても MPC から沿軸中胚葉細胞の分化が阻害されており、MPC 細胞が過剰に蓄積していることがわかった。一方、*msgn1* を過剰発現させたところ、沿軸中胚葉細胞の分化とともに発現する *tbx24* の発現が亢進していた。したがって、*msgn1* は *tbx16* とともに尾部の発生過程において、MPC から沿軸中胚葉細胞への分化に必須な役割をはたすことが明らかになった。さらに、*msgn1* による沿軸中胚葉細胞への分化は *ntl* 遺伝子が発現する細胞において顕著に認められた。*ntl* は MPC ならびに *msgn1* が発現を始める初期分化段階の沿軸中胚葉細胞において発現することから、MPC からの初期分化過程においては、*ntl* を発現する細胞に *msgn1* が新たに発現することによって沿軸中胚葉細胞への分化が促進されるものと考えられた。

この研究と平行して、体節細胞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、そこに関与する遺伝子に着目した研究を行っている。本年度は、体節の

境界位置の形成に関わる転写調節因子である Tbx24 タンパク質と転写調節因子 Mesp と Ripply の関係をゼブラフィッシュをモデル系に解析した。

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、その実体は全くわかっていない。また、咽頭弓から派生する様々な器官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、Ripply3 が咽頭弓で発現することを見だし、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。これまでの解析から、Ripply3 変異体胚では、第3, 4咽頭弓の形成に必要であり、その異常は咽頭弓から発達する胸腺や副甲状腺などの形成不全に繋がることが明らかになっている。現在は、咽頭弓の分節形成機構を明らかにすることを目的として、Ripply3 遺伝子の発現調節機構の解明を目指し、咽頭弓での Ripply3 の発現様式の詳細な解析を行っている。

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。このような成果をふまえて、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ている。今年度は、この酵素の必要度が Wnt の種類により異なることをゼブラフィッシュ胚や培養細胞をもちいて明らかにした。それとともに、アフリカツメガエル胚を用いて Wnt タンパク質の細胞外での動態の解析を開始した。

4) 学術論文

Chiu CH, Chou CW, Takada S, and Liu YW. “Development and fibronectin signaling requirements of the zebrafish interrenal vessel.” *PLoS One*. 7(8):e43040. 2012

Yabe T. and Takada S. “Mesogenin causes embryonic mesoderm progenitors to differentiate during development of zebrafish tail somites.” *Dev. Biol.* 370, 213-222, 2012

Chen, Q Takada, R., and Takada S. “Loss of Porcupine impairs convergent extension during gastrulation in zebrafish.” *J. Cell Sci.* 125, 2224-2234, 2012

6) 国際会議発表リスト

Taijiro Yabe, and Shinji Takada, “The role of *mesogenin1* in tail PSM differentiation” in the 10th international conference zebrafish development and genetics, Madison (U.S.A.) June 20-24, 2012.

Yoshiko Kametani, Shinji Takada, and Didier Steinier “Molecular and cellular analysis of blood vessel regeneration in zebrafish caudal fin” in the 10th international conference zebrafish development and genetics, Madison (U.S.A.) June 20-24, 2012.

Yusuke Mii, Kenichi Nakazato, Chan-Gi Pack, Yasushi Sako, Shinji Takada, Atsushi Mochizuki and Masanori Taira "Heparan sulfate nanostructures regulate the range and signal reception of the Wnt morphogen, via endocytosis and signalosome formation." 14th International Xenopus Conference, Giens Peninsula (France), September 9-13, 2012

7) 招待講演

三井優輔「Heparan sulfate nanostructures (HSNSs)によるWnt モルフォゲンの制御」、京都大学医学研究科セミナー、京都、2012年9月21日

Shinji Takada “Post-translational modification of Wnt Proteins” in the 71st Okazaki Conference on “new perspectives on molecular science of glycoconjugates”, Okazaki, October 13, 2011

三井優輔、中里研一、白 燦基、佐甲靖志、望月敦史、高田慎治、平良眞規 “Heparan sulfate nanostructures (HSNSs)による Wnt モルフォゲンの分布およびシグナル受容の制御：第85回日本生化学会(福岡、2012年12月)

高田慎治、陳 秋紅、高田律子「Wnt タンパク質の脂肪酸修飾の機構と生理的意義」：第85回日本生化学会(福岡、2012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、第85回日本生化学会ワークショップオーガナイザー、ナショナルバイオリソースプロジェクト「ゼブラフィッシュ」運営委員、ナショナルバイオリソースプロジェクト「メダカ」運営委員