

「生命活動のプログラム」

平成8年度採択研究代表者

浅島 誠

(東京大学大学院総合文化研究科 教授)

「器官形成の分子機構」

1. 研究実施の概要

両生類の未分化細胞(アニマルキャップ)を用いて、アクチビンとレチノイン酸処理して、腎臓形成に関与する新規の遺伝子をクローニングした。その中にはヒトの腎疾患と深く結びついているものもあった。また世界で初めて、試験管内でつくった腎臓(原腎管)を予定腎臓域を除去して部分に移植を行ってそれが機能することを確認した。試験管内でつくった臓器の生体内へ移植し、機能することが初めて行われた。また試験管内で未分化細胞からの心臓形成率についても従来の20%のところから改良がなされ、60%まで誘導できるようになった。

2. 研究実施内容

(a) 臓器形成について

試験管でアニマルキャップを切り出して、アクチビンとレチノイン酸を処理することによって腎管ができることは既に報告しているが、その後、つぎのようなことを明らかにしている。

- (1) この独自に開発した系を用いて、腎臓形成に関与する新規の遺伝子のクローニングと解析を行った。そのひとつは $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase } \alpha\text{-subunit}$ の遺伝子であり、この遺伝子は腎管に特異的に強く発現することがわかった。またこの遺伝子の anti-sense の injection によって原腸陥入の著しい阻害がみられた。
- (2) この系で新規にクローニングされた他の遺伝子は FK506 結合タンパク質のホモログと CIRP(Cold inducible RNA binding protein)でツメガエルで初めてクローニングされ解析された。この CIRP は腎形成の形態形成時に深く関与していることがわかった。この遺伝子はヒトも含めた脊椎動物全体で非常によく保存されている。
- (3) 試験管内でつくった腎臓を正常胚から予定腎管域を切り出した胚に移植したところ、かなりの割合で修復し、生存性を高めた。このことは将来の臓器移植等に大きな展望を与えることになるでと考えられる。そして、世界で初めて試験管内でつくった臓器を生体内に移植して機能させることに成功した。

- (4) 腎形成の初期の誘導に関わると思われる Xlim-1 の遺伝子のいくつかの mutant をとって腎形成とのかかわりについて調べた。リムドメインがいつも活性化型になっている 3 つの mutant とリムドメインが働かなくなるような EnR を結びつけた mutant をつくってその機能解析もした。そのことによって、EnR をつけた X-lim では著しく腎形成が阻害された。また、EnR と 3m の co-injection ではその機能の回復が見られた。
- (5) 腎形成に関与する新しい遺伝子として Xbra3 がクローニングされた。これは腎形成の初期に発現し、しかも腎管や腎導管の囲りの間充織にその発現が見られた。
- (b) 神経形成について
- (1) 胚発生における神経形成に関与するいくつかの遺伝子が新規にクローニングされ解析された。そのひとつは Xran であり、small G タンパク質に関与するものである。他にツメガエルで初めて XINRP(Xenopus neural leucine rich repeat protein)、interferon-like gene などを解析した。特に XINRP は細胞培養分子に関与し、初期発生における神経形成と深く結びついていることを示した。
- (2) アクチピンを処理したアニマルキャップを 8～9 時間前培養し、その後、未処理のアニマルキャップでサンドウィッチ法で行うと、目や鼻、前眼構造をもった頭部形成を成功している。
- (3) 感覚器官として、単独で目や耳の形成を行うことに初めて成功した。そして目に発現する新しい遺伝子「ひとみ」がクローニングされ、解析された。
- (c) その他の器官について
- (1) 心臓形成について一イモリの心臓のみならず、ツメガエルのアニマルキャップを用いて拍動する心臓をかなりの割合でつくることのできた。これまではアニマルキャップでのアクチピン処理でできる心臓は約 20% であったが、今年度、それを 60% まで高率に頻度をあげることに成功した。また心臓に特異的に発現するミオシン-HLC の抗体によっても確認された。
- (2) 血球分化においてもアニマルキャップにアクチピンや IL-11、SCF などのサイトカインを混合することによって、白血球、リンパ球の他に赤血球をつくることも可能になっている。特にいろいろなサイトカイン(アクチピン、BMP-2,4、SCF、bFGF、IL-11 など)の組み合わせにより、より新しい血球分化の制御が可能となった。
- (3) 膀胱形成—膀胱形成は今、世界で激しい競争の中にあるが、私達のグループは独自の系で膀胱の形成も可能となっている。初期にめざしていた一つの大きな器官形成が可能となりつつある。

3. 主な研究成果の発表 (論文発表)

- Cloning and expression pattern of Xenopus prx-1(Xprx-1) during embryonic development.
Takahashi, S., Uochi, T., Kawakami, Y., Nohno, T., Yokota, C., Kinoshita, K. and Asashima, M.
Develop. Growth Differ. 40, 97-104 (1998)
- Induction of blood cells in Xenopus embryo explants.
Miyanaga, Y., Shiurba, R., Nagata, S., Pfeiffer, J., and Asashima, M. .
Develop. Genes and Evolution. 207, 417-426 (1998)
- Midkine Counteracts the Activin Signal in Mesoderm Induction and Promotes Neural Formation
Yokota, C., Takahashi, S., Eisaki, A., Asashima, M., Akhter, S., Muramatsu, T. and Kadomatsu, K.
J. Biochem. 123, 339-346 (1998)
- Pattern of gene expression in the core of Spemann's organizer and activin-treated ectoderm in *Xenopus laevis*.
Yokota, C., Ariizumi, T. and Asashima, M.
Develop. Growth Differ. 40, 335-341 (1998)
- Axil, a member of axin family, interacts with both GSK-3 β and β -catenin and inhibits axis formation of Xenopus embryo.
Yamamoto, H., Kishida, S. Uochi, T., Ikeda, S., Koyma, S., Asashima, M. and Kikuchi, A.
Molecular and Cellular Biology. 18, 2867-2875 (1998)
- XCIRP (Xenopus homolog of cold-inducible RNA binding protein) is expressed transiently in developing pronephros and neural tissue
Uochi, T. and Asashima, M.
Gene 211/2, 245-250 (1998)
- Regulation of the Xmyf-5 and XmyoD Expression Pattern during Early Xenopus Development.
Takahashi, S., Esumi, E., Nabeshima, Y., and Asashima, M.
Zool. Science 15, 231-238, (1998)
- Activin-treated ectoderm has complete organizing center activity in *Xenopus* embryos.
Ninomiya, H., Ariizumi, T., and Asashima, M.

- Develop. Growth Differ. 40, 199-208 (1998)
- Obituary
Tuneo Yamada: The last philosopher in developmental biology?
Asashima, M.
Develop. Growth Differ. 40, 121-123 (1998)
- Evidence that far infrared radiation promotes growth of *Xenopus laevis*
Shiuruba, R., Hirabayashi, T., Kiyokawa, S., Fukui, A., Miyanaga, Y., Kojima, I., and Asashima, M.
Biological Sciences in Space, Vol.11, No.4, 311-312 (1998)
- Neural induction in embryos
Tiedemann, H., Asashima M., Grunz, H., Knochel, W., and Tiedemann, H.
Develop. Growth Differ. 40, 363-376 (1998)
- In vitro Control of Embryonic Axis Formation by Activin A, Concanavalin A and Retinoic Acid in *Xenopus laevis*
Moriya, N., Yokota, C., Ariizumi, T., and Asashima, M.
Zool. Science 15, 879-886, (1998)
- Activin-Treated Urodele Animal Caps: I. Mesoderm and Endoderm Differentiation of Salamander Animal Caps
Ariizumi, T., Takano, K., Ninomiya, H., and Asashima, M.
Zool. Science 15, 887-892, (1998)
- cDNA Cloning and Distribution of the *Xenopus* Follistatin-Related Protein
Okabayashi, K., Shoji, H., Onuma, Y., Nakamura, T., Nose, K., Sugino, H., and Asashima, M.
Biochem. Biophys. Res. Commun.. 254, 42-48 (1999)
- Blood cell induction in *Xenopus* animal cap explants: effects of fibroblast growth factor, bone morphogenetic proteins, and activin
Miyanaga, Y., Shiurba, R., and Asashima, M.
Dev. Genes Evol. 209, 69-76 (1999)
- Role of Activin and Other Peptide Growth Factors in Body Patterning in the Early Amphibian Embryo
Asashima, M., Kinoshita, K., Ariizumi, T., and Malacinski, G. M.
Int. Rev. Cytology 191, - (1999)
- Molecular cloning of XNLRR-1, a *Xenopus* homolog of mouse neuronal leucine-rich repeat protein expressed in the developing *Xenopus* nervous system

- Hayata, T., Uochi, T., and Asashima, M.
Gene, 221, 159-166 (1998)
- Effects of hepatocyte growth factor (HGF) and activin A on the morphogenesis of rat submandibular gland-derived epithelial cells in serum-free collagen gel culture
Furue, M., Okamoto, T., Hayashi, H., Sato, J. D., Asashima, M., and Saito, S.
In Vitro Cellular & Developmental Biology Animal, 35, 131-135 (1998)
- Cytochalasin B inhibits morphogenetic movement and muscle differentiation of activin-treated ectoderm in *Xenopus*
Tamai, K., Yokota, C., Ariizumi, T., and Asashima, M.
Develop. Growth Differ. 41, 41-49 (1999)
- Peptide growth factors in amphibian embryogenesis: intersection of modern molecular approaches with traditional inductive interaction paradigms
Asashima, M., Yokota, C., Takahashi, S., Lau, C. L. and Malacinski, G. M.
Int. J. Dev. Biol. 43, 1-10 (1999)
- Changes in the adhesive properties of dissociated and reaggregated *Xenopus laevis* embryo cells
Kuroda, H., Sakumoto, H., Kinoshita, K. and Asashima, M.
Develop. Growth Differ. 41, 283-291 (1999)
- Role of Activin and Other Peptide Growth Factors in Body Patterning in the Early Amphibian Embryo
Asashima, M., Kinoshita, K., Ariizumi, T., and Malacinski, G. M.
Int. Rev. Cytology 191, 152- (1999)
- A Model system for Organ Engineering: Transplantation of in vitro Induced Pronephros
Chan, T., Ariizumi, T., and Asashima, M.
Natur wissenschaften 86, 224-227 (1999)
- 岡林浩嗣、浅島誠
胚の発生・分化に関わるアクチビン
HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY, Vol. 5, 49-61, 1998, メディカルレビュー社
- 榎木英介、浅島誠
「初期発生：中胚葉形成」
生体の科学、第49巻、第3号、227-232、
- 浅島 誠

概論 動物のボディープランの分子的機序の概説

実験医学、第 16 卷、(17 号)、2170-2179、1998、羊土社

○早田匡芳、浅島 誠

シャーレの中の器官形成 アクチピン処理による形態形成と器官形成の制御

化学と生物、第 37 卷、第 2 号、74-76、1999

○有泉高史、セン徳川、浅島 誠

試験管の中でつくったオタマジャクシの腎臓の移植

遺伝、第 53 卷、第 3 号、9-10、1999、裳華房

○浅島 誠、金子邦彦

複雑系の科学の挑戦：要素間の相互作用が生み出す生物の柔らかさ

「よれきてる」、第 71 号 SPRING、28-35、1999

○一木順二、福井彰雅、浅島 誠

両生類培養細胞の遺伝子発現と形態形成

宇宙生物科学、第 12 卷、第 3 号、242-243、1999