

「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

脊椎動物の初期発生に深く係わっている新規のTGF-βファミリーの中のノーダル5と6の2つの重要な遺伝子のクローニングと解析に成功した。これは従来知られているノーダルの中で最も初期に発現する遺伝子である。また、他にもアクチビンと持続的に働くアンチビンのクローニングと解析、脊索形成に働く新規の遺伝子AXPC遺伝子の全長のクローニングと解析などを行った。また新しい組織や臓器として軟骨と胆嚢をつくった。更に、腎臓や膵臓形成に関与する新規の遺伝子をクローニングし、解析を行って器官形成のメカニズムを更に明らかにした。

2. 研究実施内容

(1) 新規のノーダル遺伝子5と6のクローニングと解析

ノーダル遺伝子はアクチビンと同じTGF-βスーパーファミリーに属する遺伝子であるが、今回、初期胚(桑実胚)をリチウムイオンとシクロヘキシミド処理するという独自の系をつかって、今まで知られているノーダル1~4遺伝子よりも更に初期に発現する遺伝子のクローニングに成功した。特にこの中でノーダル5は最も早く、発生過程で発現し、かつ、多量に発現し、他のノーダルを制御している可能性を示した。また、Veg Tによって制御されるので、Veg Tからノーダルへのシグナルのカスケードがおこり、その後、中胚葉ができていくことがわかった。また、この新規にクローニングされた遺伝子はMorpholinoによっても制御され、MBT(中期胚葉移行期)以前に非常に重要な働きをすることを明らかにした。このことは形づくりや器官形成にいくつかの経路を示したものである。

(2) 脊索のみ形成する系の確立と接着遺伝子の同定

胞胚期のアニマルキャップをCa⁺², Mg⁺² freeの溶液中に入れると内部層の細胞がバラバラになる。それにアクチビン1 ng / mlで処理すると100%脊索のみになる。未分化細胞から脊索のみの系を初めてつくったので脊索形成に関与する遺伝子の探索を行った。その結果、脊索のもつ特長の1つである強い細胞培養能力をもつツメガエルのAxial protocadherin(AXPC)の全長が初めてクローニングされた。それらのうち細胞外ドメインはECリピートのくり返しとMPED配列をも

ち、強い培養能力があることが証明された。またこの遺伝子は脊索のみに結果的に発現する。もう1つ興味深いことはこの細胞内ドメインはHYDとCPDの配列をもち、この遺伝子を細胞内に注入するとアポトーシスを誘起する。このアポトーシスは経路はいままでとはまったく異なったものであることがわかった。

(3) 新しくつくった臓器や組織軟骨と胆嚢

未分化細胞から、今年度、初めて新しくつくった臓器に胆嚢と軟骨がある。特に軟骨は今後の再生科学においても非常に重要な役割をもつと思われるので、未分化細胞から出来た意味は大きい。アルシアンブル染色やコラーゲンタイプⅠの抗体および遺伝子の発現、コンドロイチン核酸に陽性であり、組織学的にもまた分子マーカーをつかっても軟骨であることが証明された。他に肝臓をつくる条件で、胆嚢ができていることも確認された。胆嚢は胆汁液を出すので、今後胆嚢形成の分野へのアプローチが可能となってきた。

(4) 腎臓形成とそれに関与する遺伝子の探索

いままで腎臓のうち未分化細胞にアクチビンとレチノインを処理して形成したものは、腎管が中心であったが、今回、その他に糸球体と腎導管の形成がなされた。これによって正常な前腎とほぼ同じ、より完全な腎臓をつくることが可能となった。

またこれらの系をつかって腎形成に関与する新規の遺伝子としてAD-1, PMC-1, GA-3などつぎつぎとクローニングされ、解析された。これらの遺伝子の一部は遺伝子はMorpholinoや遺伝子ミュータントをつかって解析され、腎臓形成と深い関係にあることがわかった。

(5) アクチビンの細胞の内外でのシグナル伝達に関する様式

アクチビンをアニマルキャップに与えた時に濃度依存的に様々な器官や組織をつくることは知られているが、今回はその中で細胞外でアクチビン活性を制御していると思われるフォリスタチンと関係のある遺伝子の探索を行って、フォリスタチン関連遺伝子(FRP)の細胞内でアクチビンのタイプⅡに結合する(XARIP)についてのクローニングと解析を行った。FRPはフォリスタチンと比べて著しくアクチビンとの結合が弱い、アクチビン処理によってのみ活性化されるのでアクチビンの下流で何らかの役割をもっていると考えられる。一方、XARIPについてはこれはアクチビンタイプⅡAに特異的に結合する。このmutant遺伝子を背側にinjectionすると頭部の形成が異常となり小さくなることがわかった。

このようにして今年度もこの研究プロジェクトは予想を超える勢いで研究が発展し、新しい臓器である骨や胆嚢形成に成功し、また、腎臓、神経、心臓などにおいても新規の遺伝子のクローニングと解析がなされたので順調に研究が進んでいるといえる。

3 . 主な研究成果の発表 (論文発表)

(1 - A) 英文

Expression of the *Xenopus* GTP-binding protein gene *Ran* during embryogenesis
Onuma, Y., Nishihira, R., Takahashi, S., Tanegashima, K., Fukui, A. and Asashima, M.

Develop. Gene and Evolution 210, 325-327(2000)

In vitro organogenesis of pancreas in *Xenopus laevis* dorsal lips treated with retinoic acid

Moriya, N., Komazaki, S. and Asashima, M.

Develop. Growth Differ. 42, 175-185(2000)

Cloning a novel developmental regulating gene, *Xotx5* : its potential role in anterior formation in *Xenopus laevis*

Kuroda, H., Hayata, T., Eisake, A. and Asashima M.

Develop. Growth Differ. 42, 87-93(2000)

FGF Plays a Critical Role in *SM22 α* Expression during *Xenopus* Embryogenesis

Oka, T., Shiojimaj, I., Monzen, K., Kudoh, S., Hiroi, Y., Shiokawa, K., Asashima, M., Nagai, R. Yazaki, Y. and Komuro, I.

Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 907-914(2000)

The renaissance in amphibian embryology

Malacinski, G.M., Ariizumi, T. and Asashima, M.

Comparative Biochemistry and Physiology 126, 179-187(2000)

Gene expression pattern Cloning and expression pattern of a *Xenopus* pronephros-specific gene, *XSMP-30*

Sato, A., Asashima, M., Yokota, T. and Nishinakamura, R.

Mech. Dev. 92, 273-275(2000)

XSIP1, a Member of Two-Handed Zinc Finger Proteins, Induced Anterior Neural Markers in *Xenopus laevis* Animal Cap

Eisaki, A., Kuroda, H., Fukui, A. and Asashima, M.

Biochemical and Biophysical Res. Com. 271, 151-157(2000)

Development of the embryonic kidney

Chan, Te-Chuan and Asashima, M.

Clin. Exp. Nephrol. 4, 1-10(2000)

The evolutionarily conserved porcupine gene family is involved in the processing of the Wnt family

Tanaka, K., Okabayashi, K., Asashima, M. Perrimon, N. and Kadowaki, T.

Eur. J. Biochem. 267, 1-13(2000)
 Effect of rat Axin domains on axis formation in *Xenopus* embryos
 Fukui, A., Kishida, S., Kikuchi, A. and Asashima, M.
 Develop. Growth & Differ. 42(5) , 489-498(2000)
 In vitro pancreas formation from *Xenopus* ectoderm treated with activin and retinoic acid
 Moriya, N., Komazaki, S., Takahashi, S., Yokota, C. and Asashima, M.
 Develop. Growth & Differ. 42(6) , 593-602(2000)
 Inhibition of Wnt Signaling Pathway by A Novel Axin-binding Protein
 Kadoya, T., Kishida, S., Fukui, A., Hinoi, T., Michiue, T., Asashima, M. and Kikuchi, A.
 J. Biol. Chem. 275(47), 37030-37037
 A Novel β -Catenin Binding Protein Inhibits β -Catenin-dependent Tcf Activation and Axis Formation
 Sakamoto, I., Kishida, S., Fukui, A., Kishida, M., Yamamoto, H., Hino, S., Michiue, T., Takada, S., Asashima, M. and Kikuchi, A.
 J. Biol. Chem. 275(42), 32871-32878, 2000
 Expression cloning of Xantivin, a *Xenopus* lefty/antivin related gene, involved in the regulation of activin signaling during mesoderm induction
 Tanegashima, K., Yokota, C., Takahashi, S. and Asashima, M.
 Mech. Develop. 99, 3-14(2000)
 Isoleucine Prevents rat salivary gland epithelial cells from Apoptosis in Serum-Free Culture
 Furue, M., Okamoto, T., Koshika, S. and Asashima, M.
 In Vitro Cell. Dev. Biol. 36 : 287-289, 2000
 Meiotic maturation induces animal-vegetal asymmetric distribution of aPKC and ASIP/PAR-3 in *Xenopus* oocytes
 Nakaya, M., Fukui, A., Izumi, Y., Akimoto, K., Asashima, M. and Ohno, S.
 Development 127, 5021-5031, 2000
 Control of organogenesis and body plan formation during early amphibian development
 Asashima, M., Ariizumi, T., Hayata, T., Sato, A. and Fukui, A.
 Stem Cell and Cell Differentiation, Proceedings June 22-24, 20-21, 2000
 Two novel nodal-related genes initiate early inductive events in *Xenopus* Nieuwkoop center

S. Takahashi, C. Yokota, K. Takano, K. Tanegashima, Y. Onuma, J. Goto and M. Asashima

Development 127, 5319-5329(2000)

Spontaneous Thyroid-containing Teratoma Associated with Impaired Development in the African Clawed Frog, *Xenopus laevis*

S.W. Cheong, A. Fukui, M. Asashima and C.J. Pfeiffer

J. Comp. Path. 123, 110-118, 2000

Effects of rat Axin domains on axis formation in *Xenopus* embryos

A. Fukui, S. Kishida, A. Kikuchi and M. Asashima

Develop. Growth Differ. 42,489-498, 2000

A Role for Xlim- 1 in Pronephros Development in *Xenopus laevis*

Te-chuan Chan, S. Takahashi and M. Asashima

Develop. Biol. 228, 256-269, 2000

Inhibition of the Wnt Signaling Pathway by Idax, A Novel Dvl-binding Protein

S. Hino, S. Kishida, T. Michiue, A. Fukui, I. Sakamoto, S. Takada, M. Asashima, A. Kikuchi

Mol. Cell Biol., 330-342, 2001

(1 - A) 和文

高野和敬、浅島 誠

器官形成工学への発生学的アプローチ

医学の歩み, Vol.192, No.8, 847-848, 2000.2.19, 医歯薬出版(株)

浅島 誠

ポストゲノムの先には何が見えるのか(ES細胞と再生医療)

薬事日報, 第9259号, 2000.2.25, 薬事日報社

福井彰雅、盛屋直美、浅島 誠

ツメガエル胚を用いた試験管内での前腎管の形成とその移植

発達腎研究会誌, Vol. 8 No.1, 2000,

田幡憲一、浅島 誠(企画)

新学習指導要領と曲がり角の生物教育

遺伝, Vol.54, No.3, 10-48, 2000, 裳華房

浅島 誠

バージョンアップされるカラダ/にほんのねじれの先

Book Club Kai Newsletter, Vol.40, 2-7, 2000 Spring, Book Club Kai

浅島 誠

臓器形成と再生医療

飛行船, 2000.4.14, No.1581, The Family

浅島 誠

再生科学への事始めー器官形成から形づくりへー

小児耳鼻咽喉科 Vol.21, No.1, 2000

浅島 誠

A frog-leap forward in human organ regeneration and gene therapy

LOOK JAPAN, Vol. 46, No.534, 33, 「j-lab」 Sept. 2000

浅島 誠、水野丈夫

臓器組織構築と発生工学- 腎臓形成

再生医学と生命科学- 蛋白質 核酸 酵素, Vol.45, No.13, 2221-2227, 2000.9, 共立出版

浅島 誠

臓器組織構築と発生工学- 概論

再生医学と生命科学- 蛋白質 核酸 酵素, Vol.45, No.13, 2202-2203, 2000.9, 共立出版

浅島 誠、岩田博夫、上田 実、中辻憲夫

企画編集

再生医学と生命科学- 蛋白質 核酸 酵素, Vol.45, No.13, 2000.9, 共立出版

盛屋直美、浅島 誠

試験管内での人工臓臓の形成

遺伝, Vol.54, o.12, 8-9, 2000.12

浅島 誠

試験管内での臓器形成の分子発生生物学

(株)メディカルトリビューン, 2000

横田千夏、浅島 誠

アクチビンによる器官形成ー両生類胚を用いたモデル系の確立

医学の歩み, Vol.195, No.7, 488-489, 2000, 医歯薬出版

長田さやか、有泉高史、浅島 誠

両生類の初期胚を用いた試験管内での臓器形成

最新医学ー別冊「再生医学」21世紀の医学を展望する, 14-22, 2000.12

浅島 誠

はじめに

遺伝「特集 検証・20世紀の生物学」, Vol.55, No.1, 21-22, 2000

水野丈夫、浅島 誠

発生学ー形成体の発見からクローン生物まで

遺伝「特集 検証・20世紀の生物学」, Vol.55, No.1, 42-52, 2000