

「生命システムの動作原理と基盤技術」

平成 18 年度採択研究代表者

影山 龍一郎

京都大学ウイルス研究所・所長

短周期遺伝子発現リズムの動作原理

1. 研究実施の概要

細胞の増殖や分化過程では、多くの遺伝子群が正しいタイミングで機能するが、このタイミングを制御する生物時計の実体はよくわかっていない。最近、我々は bHLH 型転写因子 Hes1 や Hes7 が 2 時間を刻む生物時計として働くこと、特に Hes7 は 2 時間周期で進行する分節過程を制御する分節時計の本体であることを明らかにした。さらに、マイクロアレー解析から、いろいろな細胞において多くの遺伝子の発現が 2 時間周期で増減を繰り返すことがわかってきた。これらの結果から、2 時間という短周期発現リズムは普遍的な現象であることが強く示唆された。しかし、Hes1 や Hes7 による 2 時間時計の詳細な分子機構はよくわかっていない。さらに、分節過程以外での短周期発現リズムの意義はまったく不明である。本年度は、影山グループは

① 分節過程における Hes7 を中心としたオシレーションネットワーク、
② 線維芽細胞や神経前駆細胞における Hes1 を中心としたオシレーションネットワークの解析を行った。一方、吉川グループは、影山グループにより収集された実験データを元に、短周期遺伝子発現リズムの数理モデルの構築を目指して研究を行った。その際、単に現象を再現するだけではなく、パラメータを変えることにより実験結果を予測でき、実験で検証可能であるようなモデルの構築を目指した。今年度は、*in vitro* 系で観察された、DNA の高次構造転移を伴う遺伝子発現制御機構に関する数理モデルを作成した。その際、個々の制御因子の生成・消滅が関係する速度過程と、より上位の DNA を取り巻く環境と DNA 高次構造とのクロストークといった階層的なシステムを理論的に調べることで、新規な数理モデルを考案した。今後は、この成果を影山グループの実験にフィードバックさせ、密なる連携によって、短周期遺伝子発現リズム、更には形態形成一般について新しいモデルの構築を目指す。

2. 研究実施内容

(文中にある参照番号は4.(1)に対応する)

影山グループ

①分節過程における Hes7 を中心としたオシレーションネットワーク

未分節中胚葉における Hes7 の標的遺伝子群を網羅的に探索した結果、Notch シグナル系だけでなく Fgf シグナル系もその活性がオシレーションすることがわかった。すなわち、Fgf シグナル系によって活性化された ERK (リン酸化型) の量およびリン酸化 ERK を脱リン酸化して非活性化する Dusp4 の発現量がオシレーションしていた。また、この発現オシレーションは Hes7 によって制御されており、同じく Hes7 によって制御されている Notch シグナル系のオシレーションとリンクしていた。さらに、遺伝子改変マウスの解析から、Hes7 の発現オシレーションは、Fgf シグナルによって開始され、Notch シグナルによって増幅と前側への伝搬がおこなることがわかった。したがって、Fgf シグナルと Notch シグナルが協調して Hes7 の発現を制御し、逆に Hes7 は Fgf シグナルと Notch シグナルの発現オシレーションを制御することがわかった (図1) [文献1]。以上から、分節過程におけるオシレーションネットワークの全体像が明らかになった。

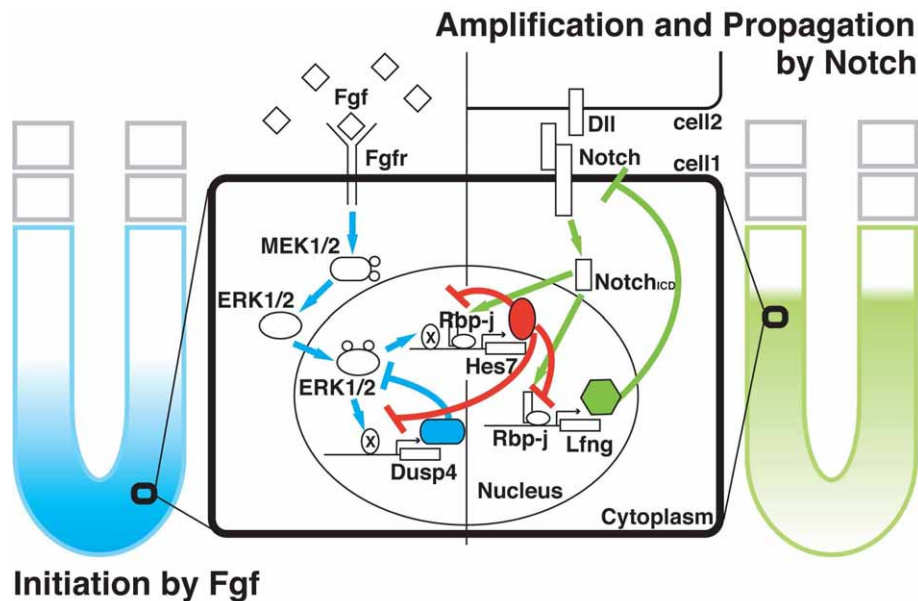


図1：分節過程における Hes7 を中心としたオシレーションネットワーク

②線維芽細胞や神経前駆細胞における Hes1 を中心としたオシレーションネットワーク

(1)線維芽細胞における Hes1 を中心としたオシレーションネットワーク

線維芽細胞を用いて2時間周期で発現変動する遺伝子群を網羅的に検索した結果、数種類の新規オシレーション分子を同定した。特に、リン酸化 Stat3 (pStat3) および Socs3

はネガティブフィードバックループを形成し、それにより両者の発現量は約2時間周期でオシレーションすること(pStat3-Socs3 オシレーション)、この発現オシレーションを抑制すると Hes1 の発現オシレーションが阻害されることがわかった[文献2]。pStat3 の形成に Hes1 が必要であることから、Hes1 オシレーションおよび pStat3-Socs3 オシレーションはお互いに依存・協調していることが示された(図2)。また、この発現オシレーションは細胞増殖に非常に重要であることがわかった[文献2]。さらに、線維芽細胞において Smad 系因子群や Fgf シグナルの因子群も発現オシレーションを示した[文献2,3]。これらの結果から、発現オシレーションは特殊なものではなく、一般的な現象であることが強く示唆された。

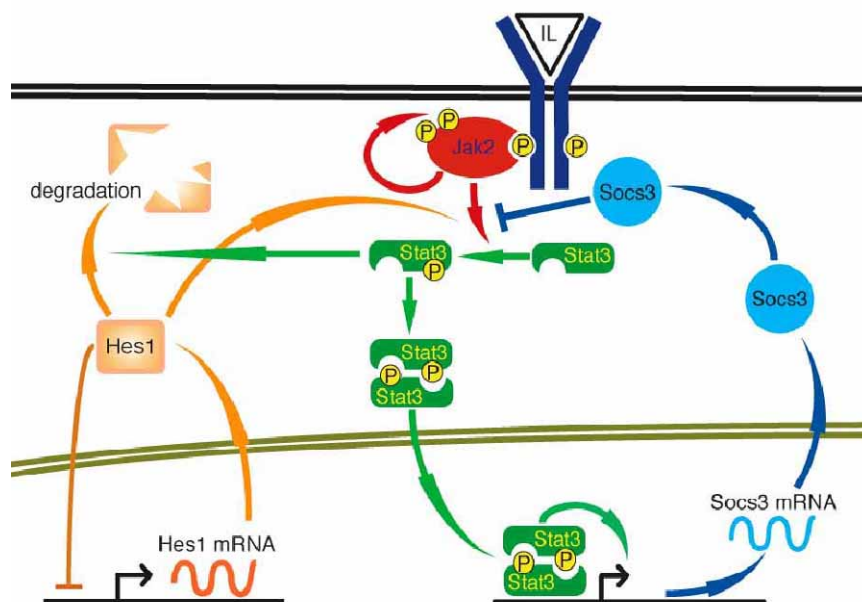


図2:線維芽細胞における Hes1 を中心としたオシレーションネットワーク

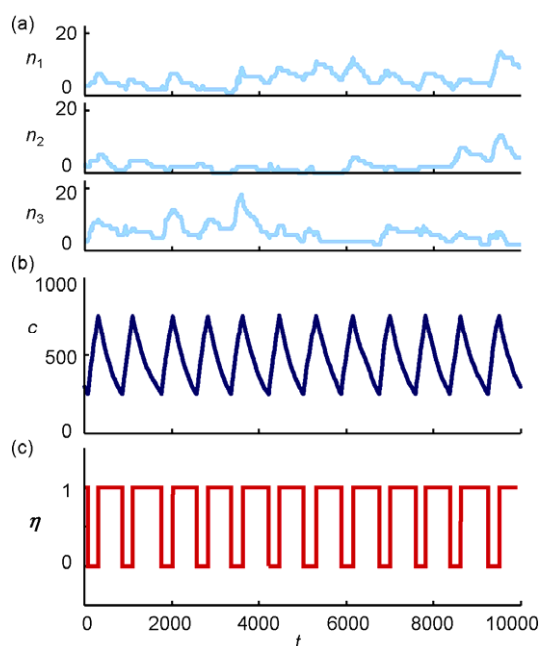
(2) 神経前駆細胞における Hes1 を中心としたオシレーションネットワーク

Hes1 の発現をリアルタイムで可視化するシステムを用いて神経前駆細胞における Hes1 の発現動態を解析したところ、ノザンやウェスタン法では一定レベルで持続発現しているように見える条件下でも、シングルセルレベルではダイナミックに発現オシレーションすることがわかった[文献4]。さらに、神経前駆細胞における Hes1 の標的遺伝子群を網羅的に探索したところ、プロニューラル遺伝子 Neurogenin2 や Notch リガンド Deltalike1 の発現もオシレーションすることがわかった[文献4]。さらに、この発現オシレーションは、神経前駆細胞の維持に重要な役割を担うことが明らかになった[文献4]。

吉川グループ

ゲノム DNA の大規模な構造転移と遺伝子活性機能との相関関係を取り入れた遺伝子ネットワークモデルを構築した。モデルにおいては、コイル状態と凝縮状態との2状態間を遷移する DNA の不連続な構造転移が、DNA を取り巻く環境によって変化するとした。また更にこのモデルを発展させ、個々の環境因子のダイナミクスを取り入れたモデルも作成した[文献 5]。このシステムでは、個々の要素が各々確率的に振舞うにもかかわらず、環境因子全体として安定した制御が可能となることを示した。これによって、生体内に見られる確率的な現象が、全体としては安定なリズムを生み出しうる事を示した(図3)。

図3：数値計算結果。(a)個々の環境因子の生成・消滅ダイナミクス。(b)環境因子全体の生成消滅ダイナミクス。(c)DNA の構造変化。個々の因子のダイナミクスが確率的でも、環境全体はロバストな時間変化を示し、その環境変化に誘発される DNA の遺伝子発現もロバストに変化する。



3. 研究実施体制

(1)「影山」グループ

①研究分担グループ長:影山 龍一郎(京都大学、教授)

②研究項目

・短周期遺伝子発現リズムの動作原理

(2)「吉川」グループ

①研究分担グループ長:吉川 研一(京都大学、教授)

②研究項目

・短周期遺伝子発現リズムの数理モデル構築

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

- [1] Niwa, Y., Masamizu, Y., Liu, T., Nakayama, R., Deng, C.-X., and Kageyama, R. (2007) The initiation and propagation of Hes7 oscillation are cooperatively regulated by Fgf and Notch signaling in the somite segmentation clock. **Dev. Cell** 13, 298-304.
- [2] Yoshiura, S., Ohtsuka, T., Takenaka, Y., Nagahara, H., Yoshikawa, K., and Kageyama, R. (2007) Ultradian oscillations in Stat, Smad and Hes1 expression in response to serum. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 104, 11292-11297.
- [3] Nakayama, K., Satoh, T., Igari, A., Kageyama, R., and Nishida, E. (2008) FGF induces oscillations of Hes1 expression and Ras/ERK activation. **Curr. Biol.**, in press.
- [4] Shimojo, H., Ohtsuka, T., and Kageyama, R. (2008) Oscillations in Notch signaling regulate maintenance of neural progenitors. **Neuron**, in press.
- [5] Y. Takenaka, H. Nagahara, H. Kitahata and K. Yoshikawa, Large-scale on-off switching of genetic activity mediated by the folding-unfolding transition in a giant DNA molecule: An hypothesis, *Physical Review E*, **77**, 031905, 1-5 (2008).