

「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

濱田 博司

大阪大学大学院生命機能研究科・教授

生物の極性が生じる機構

§ 1. 研究実施の概要 (研究年報に掲載し公開)

マウス胚において、左右と頭尾という2つの極性(非対称性)が生じる機構を調べるとともに、発生過程における体の極性の起源を明らかにする。極性を制御する分泌性蛋白質の分子を可視化し、これらの分子が胚の中で非対称に分布されるダイナミックスを調べる。得られた現象を再現できる数理モデルを構築し、極性を生み出している原理を予測し、それを実験的に検証する。以上より、多細胞生物において極性が生み出される原理を解明する。

§ 2. 研究実施体制

(1)「濱田」グループ(研究機関別)

- ① 研究分担グループ長:濱田 博司 (大阪大学)
- ② 研究項目: 生物の極性が生じる機構(実験生物学による検証)

(2)「望月」グループ(研究機関別)

- ① 研究分担グループ長:望月 敦史(基礎生物学研究所)
- ② 研究項目:生物の極性が生じる機構(理論生物学による検証)

§ 3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

①頭尾と左右の極性が生じる機構

①-1. 左右の対称性が破られる機構: i) ノードの繊毛が後側へ傾く仕組みを知るため、基底小体の位置の変化を経時的に観察したところ、最初はランダムに位置するが、やがて細胞の後方へ位置することが判った。Dvl 変異マウスでは、基底小体がランダムに配置され、また Dvl 蛋白質はノード細胞の後側に偏在し、明確な細胞内極性を示した。(論文4: Hashimoto, M., et al. *Nature Cell Biol.* 2010)。ii) ノードの水流の働き方を知るため、Ca²⁺チャンネルと考えられる Pkd2 に注目した。得られた結果は、水流がメカノセンサーによって感知されている可能性を示唆した(吉場ら、未発表)。iii) 繊毛を介するシグナリングに関与すると予想される3つの遺伝子を同定した。そのうちの一つはノードに特異的に発現し、変異マウスではノード繊毛が消失するとともに Hedgehog シグナリングの異常が示唆された(Botilde, Yら、未発表)。iv) 左右が逆転する変異マウス(inv)においては、ノードの水流の乱れにより、ノード両側の非対称な発現が変化し、これが側板での Nodal の発現を逆転させることが判った(論文2: Oki et al., *Development*, 2009)。

①-2. 頭尾(前後)の極性の決定: 体の頭尾の決定では、DVE/AVE と呼ばれる特殊な細胞の形成と移動が重要な役割を持つ。DVE と AVE の運命系譜を CreERT2 や経時観察で追跡したところ、これまでの考えとは異なり、DVE 細胞は AVE へは寄与せず、AVE は DVE に遅れて別に生じることが判った。また、細胞除去実験より、DVE は後から生じる AVE の移動をガイドしていることが判った(Takaoka et al., 投稿中)。また、レチノイン酸代謝酵素(CYP26)の研究より、正常な AVE の形成には母体由来のレチノイン酸を代謝不活性化する必要があることが判った(論文1: Uehara et al., *Genes & Dev*, 2009)。

②極性の起源

②-1. Lefty1 発現細胞の運命: 胚盤胞で Lefty1 の発現を開始した細胞は、将来 DVE(頭側を決める細胞)へ寄与することが判った。(Takaoka, K. et al. 投稿中)。

②-2. Lefty1 発現制御の機構: 均一と思われる約20個の細胞(epiblast)の中で、なぜ1-2個の細胞だけが Lefty1 を発現するのか? Nodal 変異胚や FoxH1 変異胚では、Lefty1 の発現はすべて消失することより、Nodal シグナルに依存することが判った。Lefty1 を発現する細胞を機械的に壊すと、別の細胞が Lefty1 を発現し始めることより、細胞間シグナリングの関与が示唆された。(高岡ら、未発表)。

②-3. 桑実胚期における細胞系譜決定機構: Lefty1 遺伝子の 5'上流域 9.5 kb をもつ transgene は、桑実胚期のマウス胚において、約半数の細胞のみで発現されるという面白い性質を示した。内在性の Lefty1 遺伝子の発現を反映しているかどうかは疑問だが、LacZ, DsRed など複数種の transgene で同様な現象が見られることより、この 9.5 kb が極めて初期の細胞分化に反応していると考えられる。(高岡ら、未発表)。

③非対称な形態が生じる機構

心臓に連結する流出路(Outflow tract)が一定方向へ螺旋状に回転することが、将来の大動脈

や肺動脈の位置・形態を決めることになる。流出路が螺旋運動する仕組みを知るため、流出路において非対称に発現する **Fgf10** に注目し、その非対称な発現制御機構を解析した結果、非対称な発現を規定する制御領域を決定した(白鳥・松野ら、未発表)。

④数理モデルによる極性決定機構の解析

引き続き、左右決定におけるノードでの遺伝子発現の揺らぎ、胚盤胞における *Lefty1* の発現誘導パターンに関する実験データを収集した。特に前者に関しては、遺伝子発現の揺らぎを吸収して左右非対称な発現を確立するための、制御ループの存在を明らかにした。得られた実験データをもとに、現象を再現できるモデルの構築を行った(中村、望月ら、未発表;高岡、望月ら、未発表)。

§ 4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

● 論文詳細情報

1. Uehara, M., Yashiro, K., Takaoka, K., Yamamoto M., and Hamada, H. (2009). Removal of maternal retinoic acid by embryonic CYP26 for correct *Nodal* regulation during early embryonic patterning. *Genes & Dev.* 23:1689-1698. (DOI: 10.1101/gad.1776209)

2. Oki, S., Kitajima, K., Belo, J.A., Yokoyama, T., Hamada, H.* and Meno, C.* (2009). Reversal of left-right asymmetry by aberrant Nodal signaling in the node of mouse embryos in the mouse embryo. (*corresponding authors). *Development*, 136:3917-3925. (DOI: 10.1242/dev.039305)

3. Nakazato K, Mochizuki A. Steepness of thermal gradient is essential to obtain a unified view of thermotaxis in *C. elegans*. *J Theor Biol.* 2009, 260(1):56-65. (DOI: 10.1016/j.jtbi.2009.05.027)

4. Hashimoto, M., Shinohara, K., Wang, J., Ikeuchi, S., Meno, C., Yoshida, S., Takada S., Hatta, K., Wynshaw-Boris, T., and Hamada, H. (2010). Planar polarization of the nseisikibann ode cells determines the rotation axis of the node cilia. *Nat Cell Biol.* 12:170-176. (DOI: 10.1038/ncb2020)

5. Bleyl, S.B., Saijoh, Y., Bax, N., Gittenberger-de Groot, A.C., Wisse, L.J., Chapman, S.C., Hunter, J., Shiratori, H., Hamada, H., Shiota, K., Klewer, S.E., Leppert, M.F., and

Schoenwolf, G.C. (2010). Dysregulation of the *PDGFRA* gene causes inflow tract anomalies including TAPVR: Integrating evidence from human genetics and model organisms. *Human Mol. Genetics*. 19(7):1286-1301(epub. Jan. 13). (DOI: 10.1093/hmg/ddq005)

(4-2) 知財出願

CREST 研究期間累積件数(国内 3 件)