

# オーガンリソースとしての中胚葉細胞と器官形成クロックの研究

融合研究機関：厚生労働省国立医薬品食品衛生研究所  
国立遺伝学研究所  
(研究総括責任者：武田 洋幸)

## I 研究の全体計画

### 1. 研究の趣旨

中胚葉性器官のリソースとして、幹細胞システムが機能している初期胚の尾芽組織およびその尾芽より供給された細胞群が繰り返し構造を獲得する体節形成に注目した。尾芽組織・体節形成領域で発現する遺伝子、突然変異体の網羅的単離をメダカを用いて行うとともに、メダカで得られた重要遺伝子の機能をマウスを用いた遺伝子破壊により解析する。小型魚類研究で実績のある国立遺伝学研究所とノックアウトマウスを用いた研究で実績のある国立医薬品食品衛生研究所が有機的に融合して研究を進めることにより、幹細胞システムの維持や器官形成クロックの分子実体を明らかにする。また、魚類の強力な再生能力に注目した研究も実施する。本研究により中胚葉性幹細胞の増殖・分化・再生の基盤技術を確立する。

### 2. 開放的融合研究の概要

#### 【1】研究の概要

##### 1. 中胚葉性幹細胞の成立と自己組織化のメカニズム

中胚葉の発生過程、尾芽幹細胞の成立と分化方向の決定過程、ヒレ再生過程等で発現する遺伝子群の網羅的単離と解析を行う。

##### (1) 中胚葉の発生と尾芽幹細胞の分化機構に関する研究

中胚葉の発生と尾芽幹細胞の分化で必須な遺伝子を単離しこれら遺伝子産物の機能解析を行う。本年度末までに、メダカの尾芽領域で発現する遺伝子群の網羅的単離を行い、重要遺伝子候補を少なくとも20個を選定し、マウスの相同遺伝子の単離を開始する。また、メダカ中胚葉形成・尾芽形成・ヒレ形成異常を示す突然変異体を網羅的にスクリーニングを開始して、少なくとも20の突然変異体を得る。

##### (2) 中胚葉組織再生の分子メカニズム

小型魚類のヒレ再生過程を遺伝子レベルで詳細に検討して中胚葉幹細胞の分化・増殖・自己組織化のメカニズムを解明する。本年度末までにゼブラフィッシュ・メダカの再生中の尾ビレで発現量に変化する遺伝子群を少なくとも20個同定して魚類における機能解析を行う。また、これらの遺伝子のマウス相同遺伝子の単離を開始する。

##### 2. 器官形成クロックの分子メカニズム

マウス、ニワトリ、ゼブラフィッシュの尾芽および体節をモデルとして、器官形成クロックの実体解明と組織コンパートメントの形成機構の解明を目指す。

##### (1) 器官形成クロックの分子実体

クロックの分子実体の解明のため以下の研究を平行して行う。

① 周期的発現変動を示すクロック関連遺伝子上流解析を行う。

② 魚類、ニワトリ、マウスの系を用いて、周期性を制御するシグナル因子、また転写因子を同定する。

##### (2) コンパートメント成立機構の解明と誘導系の確立

未分節中胚葉が体節という組織コンパートメントとして分節する時に作用するNotchシグナル系とbHLH転写因子Mesp2の分子機構を解析してクロックが制御する分節の機構を解明する。

##### 3. クロック関連遺伝子突然変異体のスクリーニング

メダカを用いて器官形成クロック変異体のスクリーニングを実施する。新規遺伝子の変異が想定される興味深い変異体に関しては原因遺伝子の同定単離を目指す。本年度までに、メダカのクロック関連遺伝子(主にhairy遺伝子)のクローニングと発現パターンの解析を完了して、これを指標としてメダカ変異体のスクリーニングと解析を実施する系を確立する。

#### 【2】融合への取り組みの概要

・下記の項目ごとに14年度に行う予定の施策について記述する。

##### (1) 研究総括責任者の指導性

主に統括責任者(武田・現東京大学)および国立遺伝学研究所(遺伝研)のマウス研究チームのリーダー(相賀)が融合研究機関である国立医薬品食品衛生研究所(国立衛研)を頻りに訪問し、それぞれの研究機関における研究の進捗状況を報告し、意見交換を行っている。

##### (2) サブテーマ間の連携

外来研究員を含めたサブテーマ担当研究者は、遺伝研や国立衛研への訪問だけでなく学会等のあらゆる機会を捉えて討論を重ねて研究を進めている。

##### (3) 融合への取り組み

遺伝研で行っているメダカの突然変異体の単離に関しては、国立衛研の研究員および外部研究者(非常勤職員)が遺伝研に滞在し、共同で変異体のスクリーニングを行っている。また、研究成果、研究経費の執行状況を両研究機関の代表が常に把握するように努めている。

##### (4) 融合研究推進委員会における支援の取り組み

主に統括責任者（武田・現東京大学）および国立遺伝学研究所（遺伝研）の代表者（相賀）が融合研究推進委員会の各委員と必要に応じて協議して融合研究を円滑に進める。

### 3. 年次計画

研究項目	12年度	13年度	14年度	15年度	16年度
1. 中胚葉性幹細胞の成立と自己組織化のメカニズム					
(1) 中胚葉の発生と尾芽幹細胞の分化機構	立ち上げ	メダカ突然変異体のスクリーニング	スクリーニング	大規模スクリーニング	
(2) 中胚葉組織再生の分子メカニズム	尾芽幹細胞特異的及びヒレ再生遺伝子の網羅的スクリーニング		マウス相同遺伝子の単離	ノックアウトマウスの作成と解析	
2. 器官形成クロックの分子メカニズム					
(1) 器官形成クロックの分子実体	器官形成クロックの上流及び下流遺伝子の探索			ノックアウトマウスの作成と解析	
(2) コンパートメント成立機構の解明及び誘導系の確立	ニワトリを用いたセグメンター細胞の解析			組織コンパートメント誘導系の確立	
(3) 突然変異体のスクリーニングとクロック関連遺伝子の機能解析	立ち上げ	メダカ突然変異体のスクリーニング	スクリーニング	大規模スクリーニング	
所要経費（合計）	307百万円	310百万円	310百万円		

## II 平成14年度における実施体制

研究統括責任者：武田 洋幸（東京大学大学院理学系研究科 教授）

研究項目	担当機関	研究担当者
1. 中胚葉性幹細胞の成立と自己組織化のメカニズム		
(1) 中胚葉の発生と尾芽幹細胞の分化機構	国立遺伝学研究所 東京大学大学院理学系研究科  (株)水産総合研究センター養殖研究所 (株)放射線総合医学研究所 厚生労働省国立医薬品食品衛生研究所  千葉大学大学院医学研究科	相賀 裕美子 小久保 博 樹 ○武田 洋 幸 川上 厚 志 成瀬 清 荒木 和 男 石川 裕 二 井上 達 高橋 雄 高木 篤 也 北嶋 聡 古関 明 彦 磯野 協 一

研究項目	担当機関	研究担当者
(2) 中胚葉組織再生の分子メカニズム	東京工業大学大学院生命理学研究科  国立遺伝学研究所  東京大学大学院理学系研究科  (株)水産総合研究センター養殖研究所 (株)放射線総合医学研究所 厚生労働省国立医薬品食品衛生研究所	工藤 明 今井 義幸 猪早 敬二 相賀 裕美子 小久保 博樹 ○武田 洋幸 川上 厚志 荒木 和男 石川 裕二 井上 達雄 高橋 雄
2. 器官形成クロックの分子メカニズム		
(1) 器官形成クロックの分子実体	厚生労働省国立医薬品食品衛生研究所   国立遺伝学研究所  東京大学大学院理学系研究科 奈良先端科学技術大学院バイオサイエンス研究科 理化学研究所・発生再生科学総合研究センター 厚生労働省国立医薬品食品衛生研究所	井上 達雄 高橋 雄 高木 篤也 北嶋 聡 ○相賀 裕美子 小久保 博樹 武田 洋幸 高橋 淑子 近藤 滋 井上 達雄 高橋 雄 高木 篤也 北嶋 聡 古閑 明彦 磯野 協一 ○相賀 裕美子 小久保 博樹 高橋 淑子 武田 洋幸 川上 厚志
(2) コンパートメント成立機構の解明と誘導系の確立	厚生労働省国立医薬品食品衛生研究所   千葉大学大学院医学研究科  国立遺伝学研究所  奈良先端科学技術大学院バイオサイエンス研究科 東京大学大学院理学系研究科	井上 達雄 高橋 雄 高木 篤也 北嶋 聡 古閑 明彦 磯野 協一 ○相賀 裕美子 小久保 博樹 高橋 淑子 武田 洋幸 川上 厚志
(3) 突然変異体のスクリーニングとクロック関連遺伝子の機能解析	国立遺伝学研究所  厚生労働省国立医薬品食品衛生研究所   東京大学大学院理学系研究科	○相賀 裕美子 小久保 博樹 井上 達雄 高橋 雄 高木 篤也 北嶋 聡 武田 洋幸 川上 厚志 成瀬 清
3. 研究マネジメント支援業務	融合研究推進事務局（国立遺伝学研究所内）	

(注：○はサブテーマ責任者)

### Ⅲ 融合研究評価委員会・融合研究推進委員会

#### (1) 融合研究評価委員会

委 員	所	属
○赤 池 敏 宏	東京工業大学 大学院生命理工学研究科	教授
山 村 研 一	熊本大学 医学部	教授
平 野 俊 夫	大阪大学 大学院医学研究科	教授
八 杉 貞 雄	東京都立大学 大学院理学研究科	教授
Patrick Tam	オーストラリア シドニー大学 医学部	教授
Jacqueline Deschamps	オランダ 発生生物学研究所	室長
Stephen Wilson	イギリス ロンドン大学	教授

(注：○は研究評価委員長)

#### (2) 融合研究推進委員会

委 員	所	属
○堀 田 凱 樹	国立遺伝学研究所	所長
長 尾 拓	厚生労働省 国立医薬品食品衛生研究所	所長
井 上 達	厚生労働省 国立医薬品食品衛生研究所	安全性生物試験研究センター長
武 田 洋 幸	東京大学 大学院理学系研究科	教授
相 賀 裕美子	国立遺伝学研究所	教授

(注：○は研究推進委員長)