

2つの器官原基の相互作用により誘導される 器官形成の機構に関する研究

東京理科大学 基礎工学部 生物工学科
松野 健治

1. はじめに 緒言 目的 背景 序論

多くの器官形成は、上皮と間葉の相互作用によって誘導されます。膀胱、腎臓、毛、歯などがその例としてあげられます。これらの誘導現象については、古くから研究がなされており、誘導機構の分子レベルでの解明を目標とした多くの研究が進展しています。これに対して、独立に形成された二つの器官原基が相互に作用することで形成される器官があります。哺乳類においては、副腎や脳下垂体はその例です。これらの器官原基の間の相互作用を理解するためには、二つの器官原基を含んだ複雑な現象をあつかう必要があります。このため、器官原基の相互作用によって器官形成が誘導される分子レベルの機構については、あまりよく理解されていません。

ショウジョウバエの精巣は、蛹の時期に、生殖器原基と生殖腺という由来の異なる二つの器官原基から発生します。生殖器原基と生殖腺が接触すると、これらの間の相互作用によって、精巣の器官形成が誘導されます。その結果、生殖器原基から生殖腺に細胞が移動するとともに、生殖腺が、結合部側とは反対から見て反時計回りに旋回しながららせん状に伸長します。本研究では、ショウジョウバエの精巣を、二つの器官原基の相互作用に依存する器官形成のモデルと位置づけ、二つの器官原基間の相互作用の分子レベルの実体と、それに依存する器官形成の機構を理解することを目的としました。

生殖器原基と生殖腺の相互作用に関する重要な先行研究として、次の二つが挙げられます。Sternは、生殖腺の伸長には生殖器原基による誘導が必須であることを示しました(Stern, J. Exp. Zoo., 1941)。Nusseらは、筋肉前駆細胞が、Wntシグナル依存的に生殖器原基から生殖腺へと移動することが、生殖腺の伸長に必須であることを示しました(Kozopas, Gen. & Dev., 1998)。

Sternらの研究により、精巣が、由来の異なる器官原基の相互作用による器官形成の興味深いモデルとして知られるようになりました。しかし、これが、組織学的研究の困難な蛹期に起こる現象であることから、分子遺伝学的研究はほとんど行われてきませんでした。申請者は、現在では、イメージング技術や、RNA干渉法などの分子遺伝学的手法の進歩によって、生殖器原基と生殖腺の相互作用による器官形成の機構を理解できるものと考えています。

2. 方法

由来の異なる二つの器官原基の相互作用によって起こる器官形成の機構に関する研究は、どの生物種においてもあまり進展していません。申請者は、これまでの研究から、ショウジョウバエの精巣が、器官原基の相互作用による器官形成を理解するうえでの優れたモデル系であると考えています。ショウジョウバエ精巣の形成は、生殖器原基と生殖腺の相互作用によって誘導されます。精巣の形態は、反時計回りのらせん状構造をとっています。このらせん構造は、生殖器原基からの誘導シグナルによって、生殖腺が反時計回りにらせん状伸長することで形成されることが知られていました(Stern, J. Exp. Zoo., 1941)。

申請者は、ショウジョウバエの内臓の左右非対称性を逆転(鏡像化)させる突然変異として、*MyosinID(MyosinID)*を同定しています。成虫の精巣は、反時計回りのらせん構造をとります。*MyosinID*突然変異体の精巣では、この旋回の向きが逆転しています。*MyosinID*は、I型ミオシンをコードしています。申請者は、精巣の反時計回りのらせん旋回が、生殖器原基との接触で誘導される、生殖腺の旋回伸長によることを明らかにしています。本研究では、精巣の反時計回りのらせん旋回が、器官原基間の相互作用によって誘発されるプロセスで働いている遺伝子の同定を試みました。具体的には、RNA干渉を用いて、精巣の反時計回りのらせん旋回に関与する可能性がある候補遺伝子の機能をノックダウンし、このらせん旋回の方法や程度の異常を調べました。

3. 結果 研究成果

(i) 精巣のらせん旋回方向や程度を決める遺伝子の同定

*MyoID*突然変異体の精巣では、精巣のらせん旋回方向が逆転しています。我々は、ミオシン・ファミリーをコードする遺伝子が、このらせん旋回方向の決定に関与していると考えました。そこで、ショウジョウバエのゲノムに存在するミオシン・ファミリー遺伝子を、RNA干渉法を用いて網羅的にノックダウンしました。ノックダウンには、VDRCのRNA干渉系システムを用いて、各ミオシン遺伝子に対応する二重鎖RNAを生殖器原基と生殖腺で合成しました。

コントロールの*MyoID*をノックダウンした場合、精巣のらせん旋回方向が80%の頻度で逆転しました。しかし、Myosin I B、Myosin I C、Nonmuscle Myosin-II、Myosin heavy chain、Nina C、Myosin V、Myosin VI、Myosin VIIA、Myosin VII B、Myosin X V、Dachs のそれぞれをコードする遺伝子をノックダウンしても、精巣のらせん旋回は正常でした。したがって、精巣のらせん旋回方向の決定で機能する、*MyoID*以外の遺伝子を同定することはできませんでした。

(ii) 精巣のらせん旋回を誘発するシグナルの同定

生殖器原基が生殖腺のらせん状伸長を促進する機構としては、シグナル因子による誘導が想定されます。そこで、ショウジョウバエ・ゲノム遺伝子のうち、接着因子、レセプター、分泌シグナル因子などをコードする遺伝子を選別します。これらの遺伝子を、RNA干渉法を用いてノックダウンし、生殖腺のらせん状伸長が誘導されないものを探索しました。しなしながら、ノックダウンによって生殖腺のらせん状の伸長が阻害されるものをみいだすことはできませんでした。

4. 考察 まとめ

本研究計画の期間内に実施した実験では、精巣のらせん旋回方向や程度を決める遺伝子や、精巣のらせん旋回を誘発する遺伝子を同定することはできませんでした。これまでの研究でテストできたRNA干渉系システムの数に限られたものであるため、候補となる遺伝子数を増やして、より網羅性の高い遺伝子探索を行う必要があると考えられました。今後も、このアプローチに沿って研究を継続していくことで、目的の遺伝子を同定できるものと考えています。

脊椎動物においても、副腎などのように、由来の異なる二つの器官原基の相互作用によって形成される器官が存在します。上皮細胞と間葉間で起こる比較的単純な誘導については多くの研究がなされてきました。一方、器官原基の相互作用によって誘導される器官形成については、あまり研究が進展していません。したがって、本研究により、ユニークで先駆的な成果が得られるものと期待できます。本研究により、器官原基間の相互作用に関与する因子が同定でき、その作用機構が理解できれば、これらの知見が器官再生などに応用されることが期待できます。例えば、本研究の成果が、副腎などの器官の形成を人為的に誘導するための技術開発の基礎となる可能性があります。

5. 発表論文、参考文献

発表論文

- (1) Kuroda, J., Nakamura, M., Yoshida, M., Yamamoto, H., Maeda, T., Taniguchi, K., Nakazawa, N., Hatori, R., Ishio, A., Ozaki, A., Shimaoka, S., Ito, T., Iida, H., Okumura, T., Maeda, R., and Matsuno, K. Canonical Wnt signaling in the visceral muscle is required for left-right asymmetric development of the *Drosophila* midgut. *Mech. Dev.* in press (2012).
- (2) Yamakawa, T., Yamada, K., Sasamura, T., Nakazawa, N., Kanai, M., Suzuki, E., Fortini, M.E., and Matsuno, K. Deficient Notch signaling associated with neurogenic pecanex is compensated for by the unfolded protein response in *Drosophila*. *Development* 139, 558-567 (2012).
- (3) Taniguchi, K., Maeda, R., Ando, T., Okumura, T., Nakazawa, N., Hatori, R., Nakamura, M., Hozumi, S., Fujiwara, H., Matsuno, K. Chirality in planar cell shape contributes to left-right asymmetric epithelial morphogenesis. *Science* 333, 339-341 (2011).
- (4) Nakayama, M., Sato, H., Okuda, T., Fujisawa, N., Kono, N., Arai, H., Suzuki, E., Umeda, M., Ishikawa, H. O., and Matsuno, K. *Drosophila* carrying Pex3 or Pex16 mutations are models of Zellweger syndrome that reflect its symptoms associated with the absence of peroxisomes. *PLoS ONE* 6(8): e22984 (2011).
- (5) Yamada, K., Fuwa, T. J., Ayukawa, T., Tanaka, T., Nakamura, A., Wilkin, M. B., Baron, M., and Matsuno, K. Roles of *Drosophila* Deltex in Notch receptor endocytic trafficking and activation. *Genes to Cells* 16, 261-272 (2011).
- (6) 前田礼男, 谷口喜一郎, 安藤格士, 松野健治 “キラルな細胞形状の変化による左右非対称な形態形成” FIRST AUTHORSライフサイエンス 新着論文レビュー 2011年8月15日
- (7) Yamakawa, T., Ayukawa, T. and Matsuno, K. Metabolism and transportation pathways of

GDP-fucose that are required for the O-fucosylation of Notch. In Notch Signaling in Embryology and Cancer (Reichrath, J. and Reichrath, S., eds.), Landes Bioscience (2011).

(8) 前田礼男, 谷口喜一郎, 安藤格士, 松野健治 “細胞のキラルな形状が上皮組織の左右非対称な形態変化を誘発する” 細胞工学 30 (12), 1298-1230 (2011).

(9) 中澤直高, 前田礼男, 谷口喜一郎, 安藤格士, 松野健治 “上皮細胞の平面内細胞形状のキラリティによる左右非対称な組織形態形成の新たな機構” 実験医学 30 (1), 75-78 (2012).