

ボディプラン研究グループ

Vertebrate Body Plan Group

グループディレクター 相澤 慎一
AIZAWA, Shinichi

当研究グループは、脊椎動物の体がどのように進化的に獲得されたプランによって形成されているかを知りたいと願っている。動物の体造りに分節の形成様式を観てとることはゲーテ以来の形態学の基本モチーフであった。脊椎動物の体幹部は、体節に既定された分節性をもつ。しかし体節は耳胞より前には存在せず、この領域の神経管には発生過程で自立的なくびれが頭れ、ロンボメアーと呼ばれる構造をとる。また鰓弓（咽頭弓）が繰り返し存在し、2つのロンボメアーが1つの鰓弓と対をなすという分節性を有する。咽頭弓は、陸上に進出し鰓を必要としなくなった脊椎動物では様々な頭部構造の形成に転用された。そしてロンボメアー1/鰓骨弓より前には、分節の形成様式の明らかでない中脳・前脳よりなる吻側頭部領域が存在する。神経堤細胞の存在とともに体がこのような3つの部分からなることは脊椎動物の共通派生形質に他ならない。他方分子形態学的に観ると、ロンボメアー3/舌骨弓より後方の部分ではHox群遺伝子の入れ子式発現によって前後の位置価が決められていると考えられている。これに対しロンボメアー1/鰓骨弓より前の領域にはショウジョウバエ頭部ギャップ遺伝子の相同遺伝子が発現し、ロンボメアー1・2/鰓骨弓にはいずれも発現しない。

無脊椎動物を含むすべての後生動物は頭より生じ、当研究グループの研究は頭部形成にフォーカスする。SpemannとMangoldが明らかにしたようにヘッドオーガナイザーの形成はトランクオーガナイザーの形成に先立つ。しかし、頭部のみを形成することが可能なばかりでなく、胴体のみを形成することも可能で、頭部形成は、囊背形成に先立つ前後軸形成と密接不可分である。哺乳動物では前後軸は最初遠近軸に沿って形成され、90度の軸回転によって最終的な前後軸が形成される。ついでエピブラスト尾側部分で原条が形成され、ノードより吻側内中胚葉が生じ、外胚葉に吻側神経板が誘導される。吻側神経板における最初の形態学的標識は将来のロンボメアー2と3の境界に対応するpreotic sulcusで、最吻側神経板と表皮外胚葉の境界部（anterior neural ridge）および中脳と後脳の境界（峽）は、それぞれ前脳、中脳形成にlocal organizerとして働くと考えられている。前脳は間脳と終脳に分かれ、終脳は皮質と皮質下部に分かれる。原始的魚の終脳は古皮質のみよりなり、新皮質は爬虫類の一部で生まれ、哺乳動物で劇的に発達、6層構造を形成するに至った。

我々はこれまでショウジョウバエ頭部ギャップ遺伝子のマウス相同遺伝子Otx, Emxファミリーの遺伝子が、上述の頭部形成の各段階で必須の役割を果たすことを明らかにしてきた。第一期5年間では、頭部形成におけるこれら遺伝子の協働的役割をさらに明らかにし、上流・下流の遺伝子カスケードを解明することを目指す。

1. 前後軸形成の分子機構（松尾、木村、北島、相澤）
我々はOtx2遺伝子がヘッドオーガナイザー形成に、ShenらはCriptoがトランクオーガナイザー機能に必須の役割を果たしていることを明らかにしたが、両遺伝子は着床前後内部細胞塊/エピブラストで一様に発現し、前後軸形成の最初の段階で協働する。即ち、両者の発現量の増加によって両遺伝子は協働して、胚体外外胚葉の発生を誘導するとともに、原始内胚葉の最遠部位（DVE）にOtx2, Cer-1などの発現を誘導し、これにともなって原始内胚葉を胚体部分と胚体外部分に分離するためのシグナルを送る。誘導されたDVEでOtx2は近接するエピブラストでCriptoなど後方化遺伝子の発現を抑制し、その結果前後軸は最初遠近軸に沿って形成される。ついでDVEは将来の吻側に移動しAVEを形成、これに伴って後方遺伝子を発現する近位部エピブラストの細胞が反対側、将来の尾側に移動し、最終的な前後軸が成立する。Otx2はこのDVE細胞の移動にも必須の働きをする。

2. 吻側神経外胚葉（原脳）誘導の分子機構（松尾、田、須田、相澤）

吻側神経外胚葉の誘導は2段階で起こる。DVE/AVEは将来原脳となる領域に後方遺伝子の発現を抑制し、この抑制はOtx2の働きにより頭部形成に不可欠である。ついで、ノードより生じる胚体内中胚葉が吻側神経外胚葉を裏打ちし、この領域に原脳を誘導する。誘導された原脳でもまた、Otx2は一番最初から発現する遺伝子の一つであるが、その働きが無くとも原脳の誘導それ自体は起こる。Otx2はANRからのシグナルに対するcompetenceの獲得/維持に働くようで、その働きがなくなると一度形成された吻側神経外胚葉は間もなく失われる。

3. 前脳・中脳形成の分子機構（須田、中村、相澤）

先に、中脳領域の形成にはOtx1とOtx2の協働が不可欠であることを明らかにしたが、間脳の形成にはEmx2とOtx2の協働が必須である。但しpretectumのcommissure領域の形成には逆にEmx2発現が抑制されねばならない。これは3体節期でのEmx2の最初の発現領域と対応すると考えられるが、間脳形成後Emx2はzona limitansより後方のdorsal thalamus, pretectumでは発現しない。この領域の細胞の起源は明らかでなく、遺伝学的に細胞系譜を解析するための変異マウスの作成を進めた。

4. 吻側後脳・ロンボメアー1/2の成立機構（松尾、須田、村田、相澤）

Otx2は頭部神経堤細胞でも発現し、その欠損は顎前弓由来の骨要素（神経頭蓋）の欠損と三叉神経視神経枝の特

異欠損に加え下顎の欠損を生じる。Lijili/Chambon による Hoxa2 変異体表現型との比較から、我々は先にロンボメアー 1/2、顎骨弓領域を神経提細胞のデフォルト状態と提案した。Otx2/Cripto 二重変異によりヘッドオーガナイザー/トランクオーガナイザーをともに欠損するマウス胚で生じるのはロンボメアー 1/2 領域の神経外胚葉のみであった。さらに、Otx, Emx 間での多重変異マウスで中脳、間脳など吻側部が欠損する場合は必ず、ロンボメアー 1/2 領域の拡大が認められた。ロンボメアー 1/2 は哺乳動物ボディプランで特異な位置をしめしていると想定され、その形成に関わる遺伝子候補の同定を進めた。

5. 原皮質形成の分子機構 (篠崎, 須田, 中村, 相澤)

原皮質は背側中央部脈絡叢天井板に隣接して、海馬采、歯状回、CA 野、海馬支脚よりなり、脳梁膨大後野へとつながる。将来の海馬采に相当する皮質周縁部では Wnts, BMPs などのシグナル分子が発現し、原皮質形成に local organizer として働いている可能性がある。Emx2 を欠損させると歯状回の大部分が欠損することを先に報告したが、Emx1, Emx2 をともに欠損させることによって、原皮質領域全体が欠損し、これらの遺伝子は原皮質領域形成のマスター遺伝子として働くことを明らかにした。この領域形成後皮質周縁部の local organizer 機能により、原皮質の各領域の形成がなされると想定される。

6. 新皮質形成の分子機構 (篠崎, 須田, 相澤)

Emx1, Emx2 は原皮質のみならず新皮質でも発現するが、両遺伝子が欠損しても新皮質領域は正常に発生する。Emx は脊椎動物に共通に前脳形成に働く原型的遺伝子で、これに対し新皮質は脊椎動物の進化の過程で獲得された新たな構造である。新皮質領域がどのように形成されるかは依然として明らかでないが、Emx1, Emx2 はその後の哺乳動物に特有な新皮質での 6 層構造形成に必須の働きをする。層構造はまずカハールレチウス細胞, subplate neuron などのパイオニアー細胞群によるプレプレート形成に始まり、その後生じる細胞はその間に入り込みコーティカルプレートを形成、プレプレートはその上層にカハールレチウス細胞を含む分子層と下層のサブプレートに分離し、コーティカルプレートでは後から生まれた細胞はより上層に位置するという過程を経て 6 層が形成される。以上のような新皮質内辺層で生まれ、放射状の移動をするグルタメート陽性の投射ニューロンに対し、GABA 陽性の介在ニューロンは皮質下部で生まれ、皮質に移動する。Emx1, 2 はカハールレチウス細胞と subplate neuron の形成に必須で、その二重変異体ではこれらの細胞が形成されず、新皮質に層構造が全く形成されない。加えて介在ニューロンは皮質下部で生じるものの、新皮質領域に移動できない。皮質層構造の形成と介在ニューロンの移動が Emx1, 2 の下でどのように統御されているかは今後の課題である。

7. Otx, Emx 上流・下流遺伝子の探索 (山本, 村田,

黒川, 高崎, 長野, 古島, 平野, 高原, 大村, 藤田, 松尾, 相澤)

Otx2 ゲノムの 300 kb に渡って各発生段階、部位での Otx2 発現を既定する発現調節領域を同定し、その詳細解析をすすめる、またこれらを欠損するマウスの作成を行った。また、これまで作成した変異マウス、同定したエンハンサーの下での発現部位、あるいは Xenopus での相同部位を用いて、下流因子候補を同定し、変異マウス作成を進めた。

Research Subjects and Members of Vertebrate Body Plan Group

1. Anterior-Posterior Axis Formation and Head Induction in Mammal
2. Forebrain and Midbrain Development
3. Development of the Brain's Archipallium and Neopallium

Group Director

Dr. Shinichi AIZAWA

Senior Scientists

Dr. Isao MATSUO

Research Scientists

Dr. Yoko SUDA
Dr. Akihito YAMAMOTO
Dr. Nobuyoshi TAKASAKI
Dr. Takuya MURATA
Dr. Daisuke KUROKAWA
Dr. Chiharu KIMURA
Dr. Takashi NAGANO

Technical Staffs

Mr. Tsunehisa FUJITA
Ms. Kuniko KITAJIMA
Ms. Miwa NAKAMURA
Ms. Tomomi OMURA
Ms. Shoko TAKEHARA

Trainees

Mr. Kenryo FURUSHIMA
Ms. Mariko HIRANO
Mr. Kouji SHINOZAKI
Mr. E TIANG

Assistants

Ms. Ikuyo OKADA
Ms. Sayo SAITO