

非対称細胞分裂研究グループ

Cell Asymmetry Group

グループディレクター 松崎 文雄
MATSUZAKI, Fumio

個体発生は一個の受精卵に始まり、細胞分裂を繰り返しながら多様な細胞を生じる。異なる2つの娘細胞を生じる“非対称分裂”は、このような多細胞生物の発生にとって、細胞の多様性を作り出す基本的なプロセスであり、発生の様々な局面で重要な役割を果たしている。自律的に非対称な細胞分裂が起こる場合、親細胞から娘細胞へ不均等に分配される何らかの因子が存在し、それが2つの娘細胞が異なった性質を与えると考えられるが、その典型は、ショウジョウバエの神経幹細胞の非対称な細胞分裂である。我々は、神経幹細胞の分裂に伴って、転写因子 Prospero が、一方の娘細胞である二次前駆細胞に特異的に分配され、姉妹細胞で異なる遺伝子発現を実現すること、Prospero タンパクの不等分配には、Prospero に結合するアダプター因子 Miranda が必要とされ、分裂する神経幹細胞の細胞表層の一部分 (basal 側) に、Prospero を結合した Miranda が局在することによって不等分配が達成されることを明らかにしてきた。一方、運命決定因子の不等分配は、それらの因子の局在だけで成立する訳ではなく、分裂軸が運命決定因子の局在と一致することも必須である。その仕組みに働く因子として Inscuteable や Par3 ホモログ Bazooka といった因子がこのメカニズムに機能していることが判明している。これらの因子は、神経幹細胞の apical 側に局在し、神経幹細胞の分裂軸の方向を決定すると共に、その対極に集積する運命決定因子の局在にも重要な役割を果たす。このように細胞構成成分が非対称に分布するには、その背後に非対称性を創り出す極性が存在し、また、それに基づく輸送機構が働いていると考えられる。神経幹細胞の場合、分裂軸決定因子の複合体が細胞極性を創る仕組みの一翼を担っていると考えられるが、全貌は明らかでない。さらに、脊椎動物の神経発生においても、幹細胞から多数の神経細胞が非対称分裂によって生じるが、その過程で、幹細胞とその分裂の非対称性が神経の運命決定にいかに関与しているかは不明である。本研究では、ショウジョウバエと脊椎動物をモデルシステムとして、神経幹細胞の非対称細胞分裂の分子機構とその根本にある細胞極性の実体を解明し、神経系の持つ細胞運命の多様性がどのような原理に基づいて形成されるのかを理解することをめざす。さらに、その知見をもとに、幹細胞の分裂、卵割、上皮細胞などを制御する細胞極性を総合的に理解し、細胞の非対称性から多様性を生み出す発生過程の分子論を構築することをめざしている。

1. がん抑制因子の働き

Miranda の発現は、神経発生の開始以降、神経幹細胞に限局され、神経幹細胞では、細胞周期の間期の終わり (G2 期) に apical 側に集積し、分裂期に入ると basal 側の細胞膜直下 (将来姉妹細胞が分離する側) に三日月状に局在する。このような Miranda の明確な非対称分布は、神経幹細胞の分裂の非対称性の極めて良い指標となる。そこで、Miranda の局在を指標として、ショウジョウバエのゲノムのおよそ 70% をカバーする約 300 系統の染色体欠失のセットをスクリーニングした。その結果、がん抑制遺伝子 giant larvae (lgl) および discs large (dlg) の変異体で、Miranda が神経幹細胞とその姉妹細胞に等しく分配されることが判明した。分子遺伝学的解析の結果次のことを我々は明らかにした。

(1) この2つの遺伝子の変異体では、神経幹細胞の非対称分裂に際し、Miranda はもとより、同様に不等分配される Notch シグナルの抑制因子 Numb も等分配されてしまう。従って、両者は、今まで知られている全ての神経運命決定因子の局在に必要とされる。

(2) 2つのがん抑制遺伝子は神経幹細胞の細胞表層に分布し、機能する。

(3) 両がん抑制因子の関係については、dlg が lgl の局在

に必要とされることから、dlg が lgl の上位に位置すると考えられる。

(4) lgl の温度感受性変異株を用いた実験により、神経幹細胞の分裂期の開始後、まさに運命決定因子・アダプター分子複合体が basal 側に局在する過程に lgl が機能する。

(5) 遺伝的な解析と薬理的な方法から、lgl は複数の myosin 分子種の活性を制御することにより、運命決定因子・アダプター分子複合体の細胞表層への局在に働くことが示唆された。

2. 神経幹細胞の非対称分裂に機能する因子の系統的スクリーニング

染色体欠失を利用した突然変異スクリーニングは1に述べたように全染色体をサーベイするには適しているが、染色体欠失は多数の遺伝子を含むが故に、発生が神経発生の段階まで進行しないものがかなり多く見られる。この問題を克服するため、点突然変異の誘起によって、Miranda の局在異常の変異を系統的に分離することを行っている。本年度に、このスクリーニングの有効性の検討を行い、予備的な結果を得た。

(1) スクリーニングの指標：Miranda の細胞内局在をス

クリーニングの指標にする。1に述べたように、我々はすでに、染色体欠失セットに対して Miranda を指標にしたスクリーニングを行い、2種のがん抑制遺伝子の同定に成功している。本年度の予備的研究から、当研究グループがめざす非対称分裂に基本的な機構の変異を分離するマーカーとしても Miranda は大変有効であると判断した。

(2) 突然変異誘起法：点突然変異を誘起する ethylmethane sulphonate (EMS) を変異原として用いる。そのねらいは、母性効果を示す遺伝子も洩らさず同定することにある。胚発生期に機能する遺伝子の中には、その遺伝子産物が卵からも供給されるため、母性効果を示すものも多い。その場合、機能喪失型突然変異は母性効果にマスクされて、胚発生期には表現型が現れ難い。従って、染色体欠失のスクリーニングではこのような遺伝子の変異の同定は困難であった。今回のスクリーニングでは、点突然変異を誘起するため、機能欠失型の変異だけでなくドミナントネガティブな変異などの母性効果を相殺する変異を分離することが可能となる。この変異誘起法を用いることに加え、卵由来の遺伝子産物を使い尽くされる胚発生の後期および幼虫期に、表現型をスクリーニングすることにより、母性効果を示す遺伝子の変異も分離できると期待される。

(3) 予備的結果：これまでのスクリーニングで、未同定の遺伝子の変異に加え、分裂軸の制御に働く因子 *inscuteable*、運命決定因子の局在に機能するがん抑制因子 *giant larvae* など、既知の因子の変異を分離できていることから、スクリーニングがうまく機能していると考えられる。また、母性効果が強く、欠失変異の表現型が胚発生期には現れない *discs large* などの遺伝子についても、神経幹細胞の異常を示す変異として同定できていることから、点突然変異法によって母性効果遺伝子も検出するというねらいも成功しているようである。

展望

dlg および *lgl* が共に、ショウジョウバエの脳腫瘍を引き起こすがん抑制遺伝子であったことはとりわけ興味深く、ここで明らかにされた神経運命因子の局在に果たす機能と、がん抑制機能の間に深い関係のあることは間違いない。しかし、現時点では、この2つの現象の関係は明らかでなく、今後追求すべき大きな課題である。

今後、脊椎動物を実験系に加え、神経幹細胞の非対称分裂を制御する細胞極性の総体を明らかにすると同時に、多細胞構築の基本的プロセスである非対称分裂一般に共通する論理を抽出してゆこうと考えている。

誌 上 発 表 Publications

(その他)

Ohshiro T., Yagami T., Zhang C., and Matsuzaki F.: "Role of cortical tumour-suppressor proteins in asymmetric division of *Drosophila* neuroblast", *Nature* **408**, 593-596 (2000).

Research Subjects and Members of Cell Asymmetry Group

1. Study on the Roles for Cortical Tumor Suppressor Proteins in Asymmetric Divisions of Neural Stem Cells
2. Systematic Analysis of Asymmetric Division of Neural Stem Cells by Large Scale Mutagenic Screens

Group Director

Dr. Fumio MATSUZAKI

Research Scientists

Dr. Tomokazu OHSHIRO (Tohoku Univ.)

Dr. Naoyuki FUSE (Tohoku Univ.)

Dr. Yasushi IZUMI (JST)

Dr. Takako ISSHIKI

Technical Staffs

Mr. Chuan ZHANG (Tohoku Univ.)

Ms. Kanako HISATA (JST)

Ms. Asako FURUYA (JST)

Assistants

Ms. Mami ABO (JST)