

感覚器官発生研究チーム

Laboratory for Sensory Development

チームリーダー LADHER, Raj

当研究チームの究極的な目標は、器官形成を解明することである。器官形成とは、ある目的に特化した構造的、機能的な単位（器官）を形成し、統合してゆく過程である。機能的、構造的に統合されていることは、胚形成の時点で共通の祖先を持つこと、すなわち、ある臓器のほとんどの細胞が同じ前駆構造から生じるということに端を発する。我々は、特に感覚器、中でも二ワトリの聴器を、発生学における器官形成のモデルとして用いている。

器官形成は、概念的に3つの過程に分けて考えることができる。すなわち、誘導 induction（器官の元になる領域の確立）、分化 differentiation（器官独特の機能の構築）、統合 integration（器官全体が機能単位としての調和のとれたものにすること。例えば、内耳では中耳・外耳や聴覚中枢との連携。）である。これらの過程が当研究チームの興味の対象であり、器官がどのように形成されるかを明らかにすることが我々の目的である。

1. 内耳誘導に関与するシグナルの解明 (Ladher, Freter, Zou)

我々は、内耳発生に関与する多段階のシグナル相互作用を明らかにして、誘導とは何であるかを明らかにしようとしている。当初我々は、ニワトリにおいて、内耳が非神経外胚葉のある領域に中胚葉由来の FGF19 と神経外胚葉由来の Wnt8c との相互作用で形成されることを発見した。この発見は、中胚葉の限局的なシグナルが内耳の位置決定と誘導を行っているということを明確に示している。また、つい最近になって、この部分を裏打ちする内胚葉由来の第3のシグナル FGF8 が中胚葉の FGF19 の発現に必要十分であることを発見した。この内胚葉因子と中胚葉の内耳誘導因子とで形成されるパラクリン制御というコンセプトはマウスでも適応できる。すなわち、FGF8 はマウスの内耳誘導因子である FGF10 の発現に影響している。

この研究を完成させるにあたって、内耳誘導における FGF19 の役割を詳細に明らかにしようとしている。我々は最近、FGF19 が内耳の分化を阻害するということを発見した。FGF19 が初期の耳プラコードマーカを効率よく誘導することから考えると、驚くべき結果である。事実そのデータは、別のシグナル FGF3 が内耳の分化に必要であり、FGF19 が司る内耳誘導における機能は細胞を内耳に分化するために準備させることであることを示している。

2. 内耳誘導シグナルと耳原基の形態変化 (Sai)

内耳誘導シグナルに対する最初の反応の1つは陥入現象である。胚の表面を形成している外胚葉の一部が、頭部の内側へと陥入し球状のくぼみを形成する。我々は、この組織レベルでの形態変化に伴う細胞内の変化、例えば核の移動やアクチン束の形成、微小管による輸送路形成、膜の再構築といった現象を電子顕微鏡や免疫染色によって解析してきた。耳原基におけるこのような細胞レベルの変化と一連の誘導シグナルがどのように関連しているのかを明らかにしたいと考えている。

3. 有毛細胞の分化制御 (坂本)

我々は、無血清培地を用いたマウス内耳細胞培養法を開発し、内耳有毛細胞を観察している。この手法を用いて、内耳において、機械刺激を受容する細胞である有毛細胞を分化の過程のある時点にとどめておくような、様々な条件やシグナルを決定した。我々の研究の目標は、幹細胞システムを用いて有毛細胞の分化の過程を *in vitro* で再現し、効率よく有毛細胞を作製することである。

4. 感覚器官の発生における中胚葉の役割 (寺岡)

我々は以前より内耳誘導における中胚葉の役割を明らかにしてきた。さらに、他感覚器官である眼の発生について、特に眼胞から網膜への発生における中胚葉の役割についての研究を行っている。その結果、内耳とは対照的に、中胚葉は眼胞の発生に抑圧的に作用することが明らかとなった。現在この現象における中胚葉の発する抑圧シグナルの分子生物学的特徴について検討中である。

Development of sense organs

The overall aim of our research is to understand organogenesis, the construction and integration of a structural and functional unit specialised for a particular task. Such functional and structural integrity has its root in a common lineage during embryogenesis, so that most of the cells of a particular organ arise from the same precursor. We are specifically using sensory organogenesis, predominantly the ear, in the chick as a model for organogenesis in general.

Conceptually organogenesis can be subdivided into three steps: induction — the establishment of the organogenic domain, differentiation — the elaboration of the organ phenotype and integration — the orchestration of the holistic nature of the organ as part of a functional unit, i.e. in the case of the inner ear, the articulation with the middle and external ear and auditory center of the brain. These steps form the basis of the interests in the lab with the goal of building a coherent picture of the generation of organs.

1. Elucidating the signals in inner ear induction

We are investigating the hierarchical organization of signaling interactions in the development of the inner ear, and to understand what induction actually means. Initially we found that the inner ear was induced in a region of non-neural ectoderm in the embryo, from the concerted and co-operative signaling of FGF19 from the mesoderm and Wnt8c in the neural ectoderm. This finding highlights the fact that a localized signal from the mesoderm is responsible for the positioning and induction of the inner ear. We have more recently found a third signal, emanating from the underlying endoderm that is both sufficient and necessary for mesodermal Fgf19. This principle of a paracrine regulatory loop between endodermal FGF8 and the mesodermal otic inducer has been extended to mouse as well, where we have shown that FGF8 affects the expression of the otic inducer in that species, FGF10.

Complementing this work, we are elucidating an exact role for FGF19 in otic induction. We have found recently that FGF19 is inhibitory for otic differentiation, a surprising result, given that it can induce, efficiently, the expression of early otic placode specification markers. In fact the data suggests that another signal, FGF3 is required for differentiation and that the function of induction mediated by FGF19 is to recruit cells to the otic field.

2. Morphogenetic studies on the otic placode

One of the first responses to otic induction is its invagination, changing its configuration from a flat disc located on the surface of the embryo to a hollow sphere located inside the head of the embryo. Using electron microscopy and immunolocalization, we have characterized the sub-cellular events associated with such morphological events, observing alterations in the position of nuclei, formation of actin bundles, microtubule tracks and membrane remodeling events as the cells change shape. We are correlating these events with signaling events that occur in the otic placode.

3. Regulation of hair cell differentiation

We have developed a method of culturing the mouse inner ear, in defined media, and observing inner ear hair cells. Using this technique we have defined various conditions and various signals that arrest the growth of hair cells, the mechanosensory cells of the inner ear, at certain points of the differentiation pathway. Our aim is to recreate these steps in vitro, using stem cells, to efficiently generate hair cells.

4. The role of the mesoderm in the development of other sense organs

As already described, we have elucidated a role for the mesoderm in the induction of the inner ear. We have recently characterized the role of the mesoderm in the development of other sense organs; in particular the optic

vesicles that will eventually give rise to the retina. Here, in contrast to what we have found in the inner ear, the mesoderm is actually inhibitory to the development of the optic vesicle. We are currently characterizing the signals emanating from this region of the mesoderm to determine the molecular pathways that operate in this region.

Staff

Team Leader

Dr. Raj LADHER

Research Scientists

Dr. Michael TERAOKA

Dr. XiaoRui SAI

Research Associates

Dr. Tatsunori SAKAMOTO

Dr. YiHui ZOU

Technical Staff

Mr. Pabel Antonio DELGADO

Ms. Sabine FRETER

Assistants

Ms. Noriko HIROI

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

Wright T. J., Ladher R., Murre C., McWhirter J., Schoenwolf G. C., and Mansour S. L.: "Mouse FGF15 is the ortholog of human and chick FGF19, but is not uniquely required for otic induction", *Dev. Biol.* **269**, 264–275 (2004). *

Ladher R., Wright T. J., Moon A. M., Mansour S. L., and Schoenwolf G. C.: "FGF8 initiates inner ear induction in chick and mouse", *Genes Dev.* **19**, 603–613 (2005). *

(総 説)

坂本達則, 伊藤壽一: "内耳の発生機構", *Johns* **21**, 528–530 (2005).