

# 胚発生において細胞を適切な場所に再配置する収斂伸長運動の 分子メカニズムの解析

プロジェクト代表者：川村哲規（理工学研究科・助教）

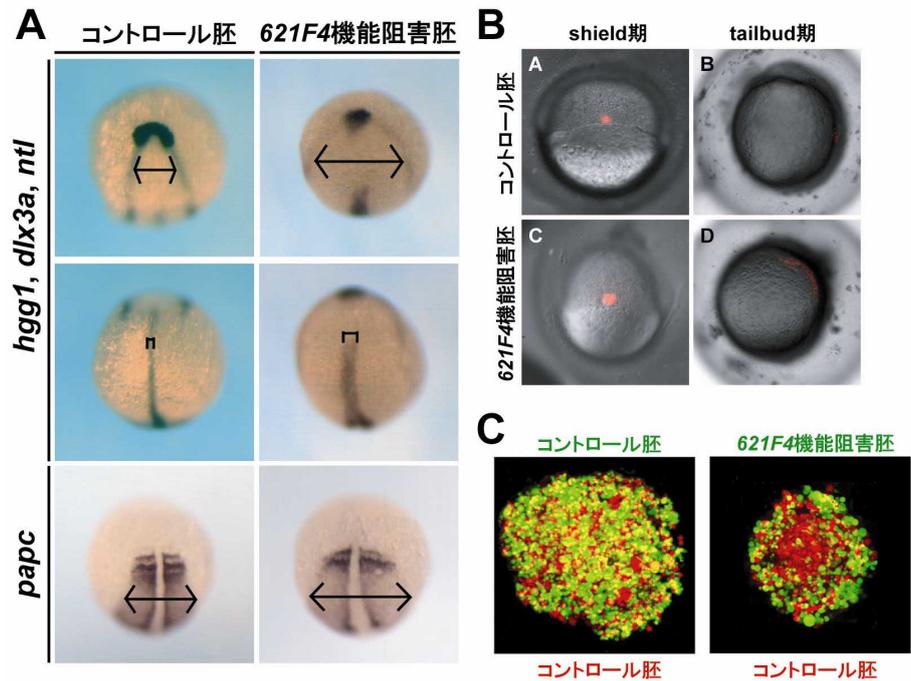
## 1. 研究目的

私たちの体を構成する多数の細胞は、決まった場所においてその機能を発揮することが重要である。そのためには主に発生の過程で、細胞は決まった時間に目的地に向かって正しく配置されることが重要である。ゼブラフィッシュ胚の原腸期において、胚全体に均一に分布していた細胞が、胚の背側方向に移動し、それに伴って前後軸に沿って伸長するという大規模な細胞の配置換えが起こる。これは収斂伸長運動と呼ばれる細胞運動で、初期発生において重要なイベントの一つであり、この制御機構に異常が生じると重篤な疾患を引き起こす。これまでに Wnt シグナルの非古典的シグナル経路である平面内細胞極性が収斂伸長運動において重要な役割を担うことが示唆されているが、その分子メカニズムについては未だ不明な点が多い。これまでに収斂伸長運動に *621F4* 遺伝子が必須の役割をもつことを見出していることから、この遺伝子産物の分子機構を明らかにすることで、収斂伸長運動にみられる細胞群の胚配置のメカニズムがどのように制御されているか、その一端を明らかにすることを目的とする。

## 2. 結果

胚が透明で個体レベルで解析するのに優れた系であるゼブラフィッシュ胚を用いたスクリーニングにより、細胞膜タンパク質をコードする *621F4* 遺伝子を同定した。この遺伝子の機能を明らかにするために、アンチセンス・モルフォリノオリゴにより機能阻害実験を行った結果、*621F4* 遺伝子を機能阻害した受精後 24 時間胚では、前後軸に沿った伸長に異常が見られた。遺伝子レベルでの発現を解析するため、Whole-mount *in situ* hybridization 法によりマーカー遺伝子の発現領域を解析した結果、コントロール胚と比べて *621F4* 遺伝子を機能阻害した胚では、神経板、脊索や未分節中胚葉がより腹側へ拡大しており、prechordal plate の前方への伸長に異常を呈していることが分かった (図 A)。このような表現系の場合、考えられる原因として、背側への収斂伸長運動に異常が生じた可能性が考えられる。そこで、実際に細胞の移動能に異常を呈しているかを明らかにするため、光刺激により緑色蛍光から赤色蛍光に不可逆的に変わる *kaede* をコードする mRNA を胚に導入し、その細胞移動能を検討した。その結果、shield 期において、特定の領域を光刺激した後、標識細胞の局在を tailbud 期において調べた結果、コントロール胚ではより背側に移動しているのに対して、*621F4* 遺伝子の機能阻害胚においては、背側方向への細胞移動はみられるがその程度が充分ではないことから、実際に *621F4* 遺伝子の機能阻害胚において、細胞の移動能に異常を呈していることが示唆された (図 B)。さらに、*621F4* 遺伝子の機能阻害胚において細胞移動能に異常が生じるのかを明らかにするため、細胞接着能について検討した。受精直後の胚に蛍光色素を注入し、胚を sphere

期まで発生させた後、トリプシンで処理し、細胞をそれぞれ混合した (図 C)。その結果、コントロール細胞同士では、両者の細胞接着能が同じことから標識細胞が均一に混じった状態で存在するのに対して、コントロール細胞と *621F4* 遺伝子の機能阻害細胞では、それぞれの標識された細胞が偏って存在することが観察され、*621F4* 遺伝子の機能阻害細胞での細胞接着能に異常が生じていることが考えられる (図 C)。以上の結果をまとめると、*621F4* タンパクは細胞膜表面に存在し、細胞接着を介することで原腸期にみられる背側への細胞移動である収斂伸長運動に必須役割を担っていることが示唆された。



(A) Whole-mount *in situ* hybridization 法により、prechordal plate の前端で発現する *hgg1*、神経板の縁で発現する *dlx3a*、脊索で発現する *ntl* の発現を解析した。(B) *kaede* mRNA をゼブラフィッシュ胚に導入し、shield 期において一定の領域を光刺激することでラベルし、tailbud 期における標識細胞の局在を観察した。(C) Hanging drop アッセイ法を用いた細胞間接着能の検討。図左：コントロール胚同士。図右：コントロール胚と *621F4* 遺伝子の機能阻害胚由来の細胞を混合培養したもの。

### 3. まとめ

本研究では、ゼブラフィッシュ胚の初期発生で見られる細胞移動現象のひとつである収斂伸長運動に着目し、*621F4* 遺伝子が細胞接着能を介して、背側への細胞移動に関与していることが示された。興味深いことに、*621F4* 遺伝子のマウスおよびヒトの相同遺伝子では多くの癌細胞で高いレベルで発現していることが報告されており<sup>1</sup>、癌細胞においても収斂伸長運動でみられた働きと同様な機構で細胞移動に関わっている可能性が考えられる。さらに、最近の報告によると、Wnt シグナル受容体である LRP6 の細胞内局在を制御することで、非古典的な Wnt シグナルを活性化させる因子であることが報告されている<sup>2</sup>。今後、我々が見出した結果と上記の結果を合わせ、*621F4* 遺伝子がどのようなメカニズムで細胞運動に関与するのかを明らかにする必要があると考えられる。

### 4. 参考文献

1. Hole, N. & Stern, P. L. Isolation and characterization of 5T4, a tumour-associated antigen. *Int J Cancer* **45**, 179-184 (1990).
2. Kagermeier-Schenk, B. et al. Waif1/5T4 inhibits Wnt/beta-catenin signaling and activates noncanonical Wnt pathways by modifying LRP6 subcellular localization. *Dev Cell* **21**, 1129-1143.