

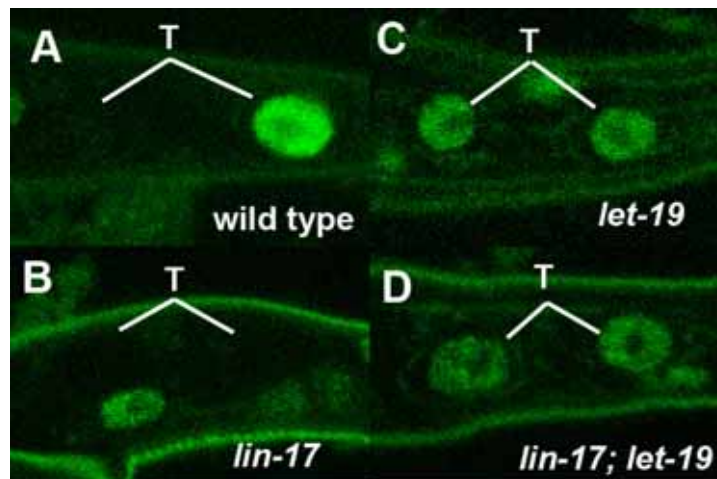
線虫において Wnt シグナルが非対称細胞分裂を制御する仕組み

2005 年 3 月 25 日

非対称細胞分裂は多細胞生物の発生に必須のプロセスである。発生は受精卵の卵割に始まり、最初はほぼ均一な細胞の集団を形成するが、ある段階から様々な種類の細胞が生じ、多様な組織が形成されていく。これは、細胞分裂によって生じた 2 つの娘細胞が異なる細胞運命をたどる「非対称細胞分裂」のおかげである。逆に言えば、非対称細胞分裂が起きなければ、胚は単一の種類の細胞からなるただの細胞塊になってしまう。

例えば、ショウジョウバエでは、神経幹細胞の非対称細胞分裂により、娘細胞の一方にのみ Prospero と呼ばれる転写因子が分配され、これにより神経母細胞への運命を決定付けられる。Prospero を受け取らなかったもう一方の娘細胞は、神経幹細胞としての性質を維持し、引き続き自己複製と神経母細胞の産生を行う。線虫 *C.elegans* の発生においても、非対称細胞分裂は様々な場面で決定的な役割を担っているが、今回の研究は T 細胞系列の分化のメカニズムに新たな知見を加えた。

細胞運命研究チームの澤斎チームリーダーらは、転写制御複合体の構成成分と予測される LET-19 及び DPY-22 が、T 細胞系列の非対称細胞分裂に必要であることを明らかにした。これらの分子は、Wnt シグナルの標的遺伝子を転写不活性化することで、T 細胞系列の細胞分裂に非対称性を与えていると考えられる。この研究は大阪大学、神戸大学及び慶応大学との共同で行われ、Development 誌に 3 月 25 日付で発表された。



tlp-1::GFP の T 細胞の娘細胞での発現：野生型では片側の娘細胞でのみ発現する (A)、*lin-17* 変異体ではどちらの細胞でも発現しないが (B)、*lin-17; let-19* 二重変異体 (D) では *let-19* 変異体 (C) と同様にどちらの細胞でも発現することから *let-19* は *lin-17* の下流で働いていると考えられる。

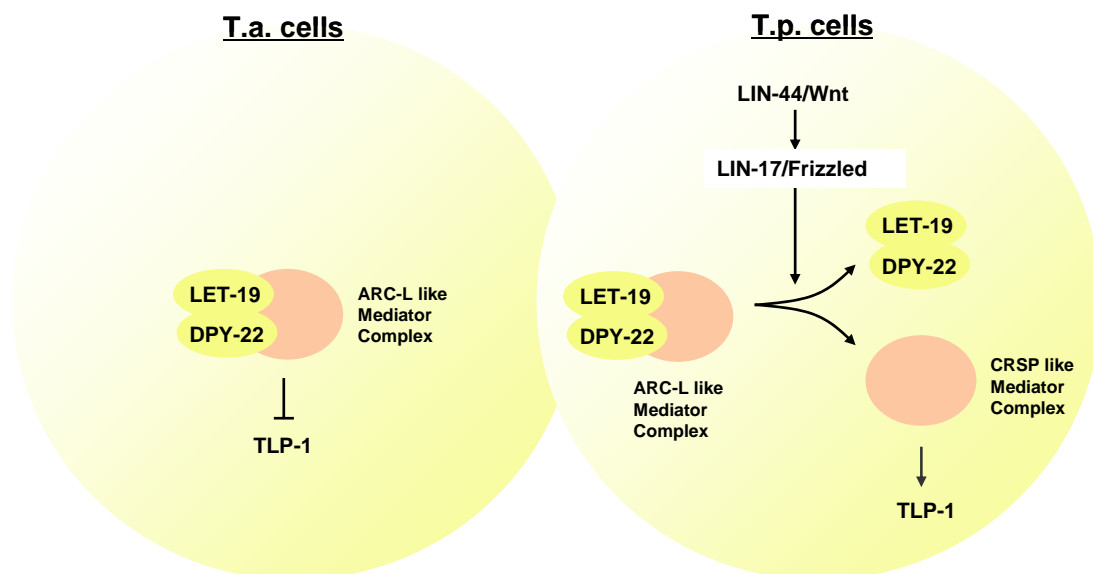
線虫では、多くの非対称細胞分裂が Wnt シグナルによって制御されていることが以前より知られている。T 細胞の分裂においても、TLP-1 と呼ばれる分子が、Wnt シグナルの制御により、2 つの娘細胞に不均等に発現していることが最近報告されていた。また、*lin-17/frizzled* 及び *lin-44/wnt* の欠損は T 細胞の非対称細胞分裂を阻害し、結果として T.p.細胞から生じるはずの phasmid socket cell を欠損することが示されている。しかし、Wnt シグナルが標的遺伝子の転写をどのように制御し、非対称分裂を実現しているのかは明らかになっていなかった。

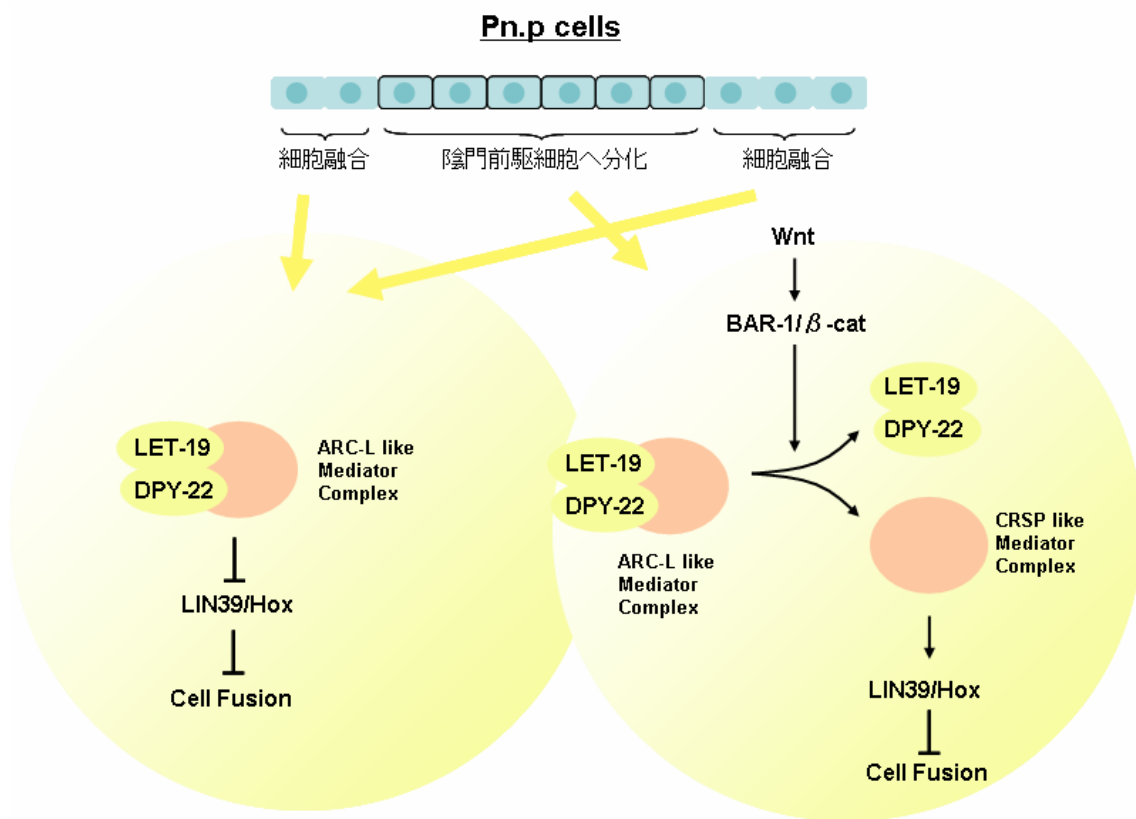
澤チームリーダーらは、phasmid socket cell を欠損する表現型を解析する過程で、*let-19* および *dpy-22* を同定した。これらの遺伝子を欠損する変異体では、*lin-17* を欠損した場合と同様に、T 細胞の分裂が非対称ではなく対称になっていることが示された。*let-19* 及び *dpy-22* がどのように非対称分裂を実現しているのかを解明するために、T 細胞の娘細胞である T.a.細胞及び T.p.細胞に非対称に発現する 2 つの遺伝子、*pop-1* 及び *tlp-1* との関係性を調べた。通常、T.p.細胞では *pop-1* 遺伝子の局在が Wnt シグナルにより抑制されている。彼らは、GFP との融合により POP-1 の局在解析を行ったところ、*let-19* および *dpy-22* のいずれを欠損しても、POP-1 の局在に変化は見られなかった。つまり、*let-19* 及び *dpy-22* が POP-1 の局在を制御している可能性は否定された。次に彼らは、T 細胞の非対称分裂に必要とされる *tlp-1* の解析を行った。TLP-1 は Wnt シグナルの下流で機能する転写因子で、T.p.細胞のみで発現していることが知られる。まず、*lin-17* の変異体を調べたところ、予想通り *tlp-1* の発現が阻害されていた。続いて、*let-19* 及び *dpy-22* の変異体での *tlp-1* の発現を調べると、いずれの場合も非対称性が失われ、T.a.細胞及び T.p.細胞の両方で発現していることが明らかとなった。さらに、*lin-17* と *let-19* の共欠損では、*let-19* 欠損の場合と同様の *tlp-1* の発現パターンを示すことが分かり、*let-19* が Wnt シグナルの下流で機能していることが明らかとなった。また、ほかの細胞系列では、*let-19* または *dpy-22* を欠損しても、*tlp-1* の発現パターンに変化は見られなかった。

次に彼らは、*let-19* 及び *dpy-22* と Wnt シグナルとの関係をさらに調べるために、Pn.p 細胞の融合について解析を行った。Pn.p 細胞は腹側で前後軸に沿って配列する 11 個の細胞 P1.p ~ P11.p を指すが、このうち前側の 2 細胞、後側の 3 細胞は細胞融合を起こし、残った中央の 6 細胞が陰門前駆細胞を形成することが知られる。また、*bar-1* と呼ばれる遺伝子は カテニンをコードし、細胞融合を抑制する LIN-39/Hox の発現の維持に働いていることが知られる。そのため、*bar-1* の変異体では、異所的な細胞融合が起こり、結果として陰門前駆細胞の減少が見られる。彼らは *let-19* 及び *dpy-22* の変異体では、細胞融合の頻度が減少することを示すとともに、これらの変異は *bar-1* 変異体の表現型、つまり異所的な細胞融合を抑制することを明らかにした。また、*let-19* の変異は *lin-39* 変異体の表現型を抑制できないことなどから、*let-19* 及び *dpy-22* は *lin-39/Hox* 遺伝子の発現を抑制していることが示された。彼らは、内胚葉誘導や DTC 細胞の形成など、Wnt シグナルが関与するほかの現象についても調べたが、*let-19* 及び *dpy-22* の Wnt シグナルへの関与は、T 細胞及び Pn.p 細胞に限定されていることが分かった。

また彼らは、*let-19* 及び *dpy-22* の遺伝子構造の解析も行い、これらの遺伝子がそれぞれ哺乳類における MED13 及び MED12 のホモログであることを明らかにした。MED13 及び MED12 は転写制御複合体の構成成分で、様々な遺伝子の転写活性化または転写抑制に関与していることが知られる。哺乳類では、CRSP 及び ARC-L と呼ばれる 2 つの転写制御複合体が知られており、CRSP は主に転写活性化に働くのに対し、MED12 や MED13 を含むより大きな ARC-L は転写抑制に働くと考えられている。彼らは、LET19 及び DPY-22 が転写制御複合体を構成する他の成分、SUR-2/MED23 や LET-425/MED6 と *in vivo* で結合していることも免疫沈降などの実験で明らかにした。これらのことから彼らは、線虫においてもこのような 2 種類の転写複合体が存在し、LET-19 や DPY-22 は ARC-L 様の抑制型転写制御複合体を形成していると考えている。

これらの結果から彼らは、LET-19 及び DPY-22 は転写制御複合体の構成因子であり、Wnt シグナルの標的遺伝子の発現を抑制することで、T 細胞の非対称分裂や、Pn.p 細胞の細胞融合を制御するモデルを提唱している。T 細胞では、Wnt シグナル非存在下では LET-19 及び DPY-22 が機能し TLP-1 の発現を抑制しているが、Wnt シグナル存在下では転写制御複合体から DPY-22 及び TLP-1 が放出されて CRSP 様の活性型となり、TLP-1 を転写活性化する。これにより、T.a. 細胞と T.p.細胞の間に非対称な TLP-1 の発現が生じる。Pn.P 細胞の融合の場合も同様に、Wnt シグナル非存在下では LET-19 及び DPY-22 が *lin-39/Hox* の転写を抑制しているが、Wnt シグナルにより *lin-39/Hox* が転写活性化され細胞融合が抑制される。そもそも Wnt シグナルや Wnt シグナルへの感受性がどのように制御されているのか解明が待たれるが、今回の研究で、Wnt シグナルがある種のスイッチとして機能し、転写制御複合体の構造を変化させることで、標的遺伝子の転写活性化を行うメカニズムが明らかになったことは非常に興味深い。





LET-19 及び DPY-22 が転写制御複合体の構成因子として機能し、Wnt シグナルの標的遺伝子を転写抑制するモデル