ノードにおける Foxa2 の発現メカニズム

2005 年 10 月 26 日

イモリやカエルなどの初期発生において、オーガナイザー（形成体）と呼ばれる胚の領域が周囲の細胞に働きかけ、次々と細胞分化や形態形成を誘導していくことは良く知られている。体の基本構造をつくり上げるこの「司令塔」とも言うべき細胞集団は、両生類のみならず哺乳類にも保存されている。マウスの場合、約 6.5 日胚の原始線条の前側先端にオーガナイザーが形成される。このオーガナイザーはまず頭部誘導に関与した後、ノード（結節）と呼ばれる特徴的な構造をとり、7 日目頃から胴部形成の誘導を開始する。ノードには脊索前駆細胞が含まれ脊索へと細胞を供給しているが、この脊索もまた、胴部の背腹軸にそったパターニングを制御するシグナルセンターとして働く。ノード特異的に発現する遺伝子は数多く見つかっているが、なかでも Foxa2 は脊索を含む多くのシグナルセンターの発生にかかわる重要な転写因子として知られている。しかし、この Foxa2 の発現がどの様に制御されているのかは未解明な点が多かった。

今回、胚誘導研究チームの佐々木洋チームリーダーらは、Tead と呼ばれる転写因子が Foxa2 遺伝子のエンハンサー領域に結合し、他の因子と共同してノードにおける Foxa2 の発現を促進していることを明らかにした。この研究は大阪大学との共同で行われ、Development 誌に 10 月 5 日付でオンライン先行発表された。

Foxa2 エンハンサーのコアエレメント(CE)によるノードでの遺伝子発現（βgal、青）

佐々木らは以前に、ノード及び脊索で特異的に機能する Foxa2 のエンハンサー領域を同定し、その機能に必須な 14 塩基対を見出していた。彼らはまず、このエンハンサーの機能を容易に解析する為に、必須配列を含む 27 塩基対のコアエレメント(CE)をレポーター遺伝子につなぎ、マウス胚における発現解析を行った。その結果興味深いことに、レポーター遺伝子であるβガラクトシダーゼの発現領域と Wnt/βカテニンシグナル経路の活性化領域が類似していることが明

問合せ：発生・再生科学総合研究センター 広報国際化室 南波直樹
〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 2-2-3
Tel: 078-306-3092 Email: namban@cdb.riken.jp

らかになった。そこでマウス胚から得られた癌細胞を用いて、Wnt シグナルと CE の活性化との関係を調べたところ、CE は間接的にではあるが、Wnt シグナル依存的に活性化されることが明らかになった。

さらに解析を続けたところ、CE に 2 つの転写因子が結合することによってこのエンハンサーが活性化されることが予想された。そこで、これら 2 つの因子を同定するために、CE 配列を用いてイーストの 1 ハイブリッドスクリーニングを行った。その結果、マウス cDNA ライブラリーから得られた陽性クローンの多くは、Tead ファミリーと呼ばれる転写因子をコードしていた。Tead ファミリーとその補因子である Yap65 の発現解析を行ったところ、6.5～8.5 日胚において Foxa2 を発現する領域を含む広い領域で発現していることが分かり、CE の活性化因子である可能性が強く示唆された。細胞レベルで Tead ファミリーと CE の活性の関係を解析したところ、Yap65 の存在下で Tead1～4 全てが CE を活性化することが分かった。また、ゲルシフトアッセイの解析などから、Tead は CE の 3′側に結合することが示唆された。一方で、Tead ファミリーによる CE の活性化は Wnt/β カテニン経路とは無関係に起きることも明らかになった。Tead ファミリーはノードや脊索以外にも広く発現していることからも、Wnt/β カテニン経路の下流で機能するもう一つの因子の存在が予想され、彼らはそれを POT(Partner of Tead)と名付けた。この因子がノード及び脊索に特異的な CE の機能を規定していると考えられる。

続いて in vivo での Tead ファミリーの機能を調べるために、機能抑制型の Tead をマウス胚に発現させる実験を行った。その結果、Tead の機能を抑制すると、Foxa2 遺伝子の発現と正常な脊索の形成が共に抑制されることが分かった。この結果は、in vivo においても Foxa2 のエンハンサーの活性化に Tead が必要であることを示している。彼らはゼブラフィッシュを用いて同様の実験を行ったところ、マウスのノードにあたる胚盾(embryonic shield)においても、Tead が Foxa2 の発現を制御しているという結果が得られた。

これらの研究から佐々木らは、ノード及び脊索における Foxa2 のエンハンサーの活性化には２つの転写因子の結合が必要で、そのうちの一つが Tead であるとしている。ノードで特異的に発現し Wnt 経路の下流で活性化するもう一つの因子、POT の同定も待たれるが、今回の研究は脊索の形成という重要な現象の一端を明らかにすると同時に、広範囲に発現する遺伝子が、他の遺伝子発現との組み合せに応じて部位特異的な機能を発揮するメカニズムの重要性を改めて示した。

問合せ：発生・再生科学総合研究センター 広報国際化室 南波直樹
〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 2-2-3
Tel: 078-306-3092 Email: namban@cdb.riken.jp