

Teashirt でバッチリ「決まる」動物の背中

平成 19 年 4 月 25 日

体軸の決定は、脊椎動物の発生初期に起こる最も重要なイベントの一つである。受精卵が分裂を繰り返すことで出来あがった細胞塊は、何らかのメカニズムによって背腹・前後・左右の軸を獲得し、それによって体の基本構造をつくる。このうち背腹軸の決定には、古典的 Wnt 経路(canonical Wnt pathway)の背腹における非対称な活性化が重要な鍵を握っている。アフリカツメガエルの場合、精子の侵入が引き起こす表層回転（植物極の細胞質が移動する現象）によって古典的 Wnt 経路の調節因子が非対称に分配され、後の背腹軸決定に関与するとされている。しかし、このようにして生じる Wnt シグナルの活性の差は比較的小さく、それだけで明確な極性を確立するには不十分と考えられてきた。

理研 CDB の尾内隆行ジュニアリサーチアソシエートおよび松尾-高崎真美研究員（細胞分化・器官発生研究グループ、笹井芳樹グループディレクター）らは、アフリカツメガエルの Teashirt 3 (XTsh3) と呼ばれるタンパク質が古典的 Wnt シグナルを増強し、背側の誘導に決定的な役割を果たしていることを明らかにした。XTsh3 は古典的 Wnt 経路の核内エフェクター因子である β カテニンの核内集積を増加させる機能があるという。この研究成果は、The EMBO Journal に 4 月 12 日付けでオンライン先行発表された。



XTsh3 をアンチセンス MO 微量注入法で抑制すると、体軸形成が阻害される（右図）

XTsh3 は、最初ショウジョウバエで発見された Teashirt (Tsh) ファミリーに属する Zn フィンガータンパク質である。ショウジョウバエの Tsh は、胸部の性質を指定するホメオティックセクター遺伝子として同定された。その後、Armadillo（ショウジョウバエの β カテニン）との結合など、Wnt 経路との相互作用も一部示唆されているが、その機能の詳細には未だ謎が多い。アフリカツメガエルは少なくとも 3 つの Tsh 関連遺伝子を持ち、どれもショウジョウバエ Tsh とは構造上遠い関係にあるが、そのうち XTsh3 は初期胚に強い発現を示す。

まず彼らは、初期胚における XTsh3 の発現パターンを in situ ハイブリダイゼーションによって詳しく調べた。すると、卵割初期の胚では母性の XTsh3 RNA が動物極側に広く発現し、初期原腸胚になると、胚に由来する XTsh3 RNA が背側辺縁帯および背側外胚葉に強く発現していることがわかった。原腸陥入が進むにつれ、背側での発現は維持されたが、腹側での発現は低下していった。次に、背側における XTsh3 の発現をアンチセンスモルフォリノによって阻害すると、体軸の形成が完全に抑制され、背側が腹側化することが明らかとなった。遺伝子発現についても調べると、Chordin や Goosecoid といった背側中胚葉マーカーの発現が低下し、腹側マーカーの発現が背側へと拡大していることがわかった。これらの結果から、XTsh3 が背側の形成に必須の機能を果たすことが強く示唆された。

それでは XTsh3 はどのようなメカニズムで背腹軸決定に関与しているのだろうか。彼らは、ショウジョウバエなどでの知見をヒントに、古典的 Wnt 経路との関連に注目して研究を進めた。その結果、Wnt 応答性遺伝子の発現が XTsh3 の発現によって強く上昇することが示された。また、XTsh3 の背側化作用は β カテニンを介する古典的 Wnt 経路に依存していることが明らかとなった。そこで、XTsh3 と β カテニンとのタンパク質レベルでの相互作用を解析すると、これらの分子が直接的に結合することが示唆された。

β カテニンは Wnt シグナルに反応して核に集積し、核内では Tcf などの転写因子と結合して Wnt 経路のターゲット遺伝子を転写活性化する。ところが、 β カテニンは核局在配列を持っていないことから、効率的に核内に留まり、機能する仕組みは謎のままだ。そこで彼らは、XTsh3 と β カテニンの核局在との関係について解析を進めた。まず、培養した外胚葉組織（アニマルキャップ）を用いて細胞内局在を調べたところ、Wnt シグナルや β カテニンの活性化とは無関係に、XTsh3 は核内に常に局在していることが分かった。続いて β カテニンとの関連を調べると、XTsh3 の発現によって β カテニンの核内集積が大きく上昇することが明らかとなった。逆に、XTsh3 機能を阻害すると、 β カテニンの核内集積は顕著に減少した。

今回の結果から、背側で発現する核タンパク質 XTsh3 は、 β カテニンの核内集積を促進することで古典的 Wnt シグナルを増強し、初期胚における背腹軸決定に決定的な役割を果たしていることが示された。笹井グループディレクターは、「XTsh3 との結合が β カテニンの核内集積を促進させる機序の解明は、今後の最も重要な課題」と語る。また XTsh3 が神経胚期以降では尾側中枢神経系などで強く発現しており、予備的な解析からこの部位の神経発生にも必須の役割を果たしていることがわかってきた。「背腹軸の決定だけでなく、広く Wnt シグナルに関わる発生現象で、XTsh3 やその関連因子が重要な機能を持っているのではないかと予測している。