

研究課題別研究評価

1. 研究課題名: 形の作り直しー再生現象の分子生物学的解析

2. 研究者名: 西川 慶子

3. 研究の狙い:

有尾両生類(イモリなど)は成体においても優れた再生力を持ち続ける。事故などで器官を失ってしまえば、それを取り戻すことができない我々ヒトとは対照的である。体の形作りのために必要な遺伝子の種類は、ヒトでもイモリでもほとんど同じであるにもかかわらず、なぜイモリには優れた再生力が備わっているのだろうか？これが本研究で明らかにしたい問題である。私は、イモリの優れた再生力の原因の一つには、脱分化という特殊な過程を経て幹細胞様の細胞(再生芽細胞)を作り出すことにあると考える。脱分化の過程および脱分化によって作り出された再生芽細胞の性質を調べ、将来の再生工学への新しい道をひらくことを目指す。

4. 研究結果及び自己評価:

研究結果

1) 再生芽細胞の形成過程で特異的に発現する遺伝子のクローニングとその発現の解析

再生芽細胞は切断端の筋管に由来すると考えられている。そこで再生芽細胞が脱分化によって生みだされる仕組みを明らかにするために、切断端付近の筋管で発現の変化する遺伝子をディフアレンシャルディスプレイを用いて網羅的に調べた。その中で興味深い発現パターンを示した遺伝子について詳しい解析を行った。この遺伝子の発現は未切断肢筋では無く、切断後に増加し、切断後 22 日目には未切断肢と同レベルまで低下した。塩基配列から、ヒトで既にクローニングされている *rad* (*ras* associated with diabetes) のイモリホモログ (*newt rad*; *nrad*) であることがわかった。レチノイン酸を用いた実験などから、*nrad* は再生過程で脱分化とよく一致した発現パターンを示し、筋管の脱分化と深い関わりを持つ遺伝子であることが示唆された。

2) 負の分化制御因子 *Id* をマーカーとした再生芽細胞の性質の解析

イモリの再生芽細胞が持つ幹細胞としての機能を明らかにするためのもう一つのアプローチとして、完全な再生を行なう動物(イモリ)と、不完全な再生しかできない動物(ツメガエル)との間で再生芽細胞の性質の比較を行なった。両者の再生芽細胞の違いは、多分化能を有し幹細胞的な機能を持つ細胞(イモリ)と一方向にしか分化しない細胞(ツメガエル)と考えられる。イモリとツメガエルの再生芽細胞の性質を比較するためのマーカーとしては負の分化制御因子である *Id* に着目し、*Id2* と *Id3* をクローニングした。再生芽における遺伝子の発現を調べると、両動物とも正常肢では *Id2* と *Id3* の発現は低く、初期-中期の再生芽では発現が非常に高いことがわかった。さらに、発現の局在を調べると *Id3* は両動物とも前軟骨凝集塊で特に高く、両動物の初期-中期の再生芽の性質はよく似ていることがわかった。ところが、再生過程の後期まで解析すると興味深いことが明らかになった。イモリでは、指伸長期においても高い *Id3* の発現が認められた。一方、同時期のツメガエルにおいては、*Id3* の発現は未切断肢のレベルまで低下していた。*Id3* の発現が前軟骨凝集塊で高いことから、ツメガエルでは軟骨の分化がより早く進むのだろう。イモリは *Id* を再生過程の後期まで発現し続けることによって、再生芽細胞は幹細胞的な機能を発揮し形態形成を円滑に行なうと予想された。

自己評価

応募時に提案した内容は、再生過程での脱分化とその維持に関わる神経由来因子の解析であった。しかし神経由来因子にこだわるよりは、脱分化そのものを中心に研究をすすめた方がより本質的であると考え、少し路線を変更した。結果的にはこの変更が功を奏して、有意義な成果を得る

ことができた。ディファレンシャルディスプレイ(DD)によって脱分化に関わる遺伝子をクローニングするという、いわばバクチ的な研究であったが、予想外にうまくいった。通常 DD は、目的の遺伝子がとれないことが多いといわれている。これに関しては、方法の改良から自分で行ったことが好結果を導いたと思う。現在は、改良した方法で他のさきがけ研究者と共同研究を始めるまでになっている。以上の結果は投稿した雑誌でも高く評価され、表紙に選ばれている。また、再生力に優れた動物と劣る動物を比較する際に Id に着目したことも、よいアイデアだったと思う。Id は発生過程の初期で細胞が未分化なときに発現していることは知られているが、逆行性の分化(脱分化)での役割については考えられていなかった。最近オリゴデンドロサイト前駆細胞が、培養下で 2 型アストロサイトを経て神経幹細胞へ逆行分化するときに、Id4 が関与することが示唆されている。イモリの脱分化とどんな関係があるか楽しみである。全体的には 3 年間という期間で研究室の立ち上げから始めて、良くやったと思う(とは言え 100 点満点とはとてもいえないが)。再生は 1-2 ヶ月かかる現象なので、時間が足りなかったというのも正直な気持ちである。

5. 領域総括の見解:

イモリの肢を切断すると、やがて肢が再生してくるが、その際に作用する遺伝子の同定を困難なディファレンシャルディスプレイ法で行い、ヒトの遺伝子 *rad* のホモログであることを突きとめた。これはみごとな成果であり、組織再生のメカニズム研究の一里塚となろう。さらに再生能の低いカエルと、高いイモリとの比較が行われている。これからの発展が楽しみである。

6. 主な論文等:

1. K. Shimizu-Nishikawa, I. Tazawa, K. Uchiyama and K. Yoshizato (1999) Expression of the helix-loop-helix type negative regulators of differentiation during limb regeneration in urodele and anuran. *Dev. Growth Differ.* 41, 731-743.

2. K. Shimizu-Nishikawa, S. Tsuji, and K. Yoshizato (2000) Identification and characterization of newt *rad* (*ras* associated with diabetes), a gene specifically expressed in regenerating limb muscle. *Dev. Dyn.* (in press).

その他 総説 3 件、学会発表 8 件、招待講演 3 件(国内学会 2 件、国際学会 1 件)、取材 3 件(テレビ、雑誌、新聞各 1 件)