

## 研究課題別事後評価結果

### 1. 研究課題名 「発生における器官・形態形成と細胞分化の分子機構」

### 2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

松本 邦弘 (名古屋大学大学院理学研究科 教授)

主たる共同研究者

西田 育巧 (名古屋大学大学院理学研究科 教授)

澁谷 浩司 (東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授)

福田 真 (京都大学大学院生命科学研究科 助手(～平成16年3月))

西田 栄介 (京都大学大学院生命科学研究科 教授(平成16年3月～))

辻 順 (Department of Environmental and Molecular Toxicology, North Carolina State University Assistant Professor(平成14年4月～))

### 3. 研究内容及び成果

発生・分化・神経系を規定するシグナル分子によるシグナル伝達ネットワークの解明は、高等脊椎動物における個体構築機構を明らかにする上で重要な研究課題である。本研究グループは、新規 MAPK カスケードの一員 TAK1 の発見・解析から、TAK1 カスケードが制御する発生・分化のシグナル伝達経路を解明し、新たな研究領域を創出してきた。これらの成果をさらに発展させ、TAK1 シグナル伝達経路の全容解明と発生・分化における役割の解明を主目的として、さらに新たなシグナル伝達分子群の発見から発生・分化・神経系を制御する分子ネットワークの解明を目指して、本研究を実施した。

その結果、(1)TAK1 を中心として、そのシグナル伝達経路の上流及び下流のシグナル伝達因子群を同定し、TAK1 カスケードの全体像と、さらにマウスをモデル動物として個体レベルにおける TAK1 の機能を明らかにした。(2)高等脊椎動物(アフリカツメガエル、ゼブラフィッシュ)、高等無脊椎動物(ショウジョウバエ)、及び線虫を用いて、新規シグナル伝達因子群の同定と機能解析を行い、発生・分化・神経系の分子機構ネットワークを明らかにした。(3)上記の研究に加え、線虫をモデル動物として個体レベルにおける発生・分化・神経系を制御する MAPK シグナル伝達経路を明らかにした。本研究の新たな展開として、線虫の MAPK シグナル伝達経路の研究過程で同定した新規シグナル伝達因子の中に、アルツハイマー病、パーキンソン病、遺伝性高血圧症などのヒト遺伝性疾患の原因遺伝子が見い出されてきた。今後、発生・分化・神経系を制御するシグナル伝達ネットワークの解明と、遺伝性疾患の分子メカニズムの根幹が明らかとなることが期待される。

#### (1) 松本、辻、西田(育)グループ

1) Wnt1 シグナルを制御する新規のシグナル伝達経路の解明: Wnt1 経路を制御する

TAK1-NLK 経路の構成因子の同定と制御機構の解明を目指した。その結果、TAK1-NLK 経路は Wnt ファミリーの中で Wnt1 とは別のグループに属する Wnt5A によって誘導される細胞内カルシウム濃度の上昇が CaMKII を活性化し、この CaMKII によって TAK1 が活性化されることを発見した。さらに、TAK1 と NLK の間で、キナーゼである HIPK2 が働くことを見出した。また、NLK の下流では Wnt1 によって活性化される転写因子 TCF が NLK によって直接リン酸化され転写活性が抑制されることを明らかにした。

2) TGF- $\beta$  シグナル伝達経路における TAK1 の役割解明: TGF- $\beta$  経路における TAK1 のターゲットの同定を行った。TAK1 結合因子として、SnoN(がん遺伝子産物で TGF- $\beta$ -Smad 経路による遺伝子発現を負に制御する因子)を発見した。TGF- $\beta$  によって活性化された TAK1 は核に蓄積し、SnoN をリン酸化し、このリン酸化が SnoN を分解に導くことを見出した。これによって、SnoN による遺伝子発現抑制が解除され、TGF- $\beta$  によって活性化された Smad による遺伝子発現が促進されると考えられる。

3) マウスをモデル動物とした TAK1 の細胞運命決定における役割解明: 哺乳動物の個体レベルにおける TAK1 の役割解明を目指した。標的組織として、TGF- $\beta$  や炎症性サイトカインの IL1、TNF がその形態形成及び恒常性において必須の役割を果たしている皮膚を選び、皮膚特異的 TAK1 の欠損マウスを作成した。その結果、TAK1 の欠損によって皮膚ケラチノサイトの細胞死が引き起こされることを見出した。この結果は、TAK1 が哺乳動物の皮膚表皮の細胞生存に必須の働きをしていることを初めて示すものである。

(2) 澁谷、松本グループ:

線虫を用いて、MAPK カスケードの構成因子群の発生・分化における役割を個体レベルで明らかにすることを試みた。その結果、JNK-1-JNK-1-MAPK カスケードとキネシンが DD 運動神経の腹側特異的なシナプス小胞の局在を制御していること、MAPK ホスファターゼ VHP-1 が MLK-1-MEK-1-KGB-1 MAPK カスケードを負に制御することで後期発生の遂行に必須であること、NSY-1-SEK-1-PMK-1 MAPK カスケードによる自然免疫機構の制御などを見出した。また、本研究の過程において、LRK-1(パーキンソン病の原因遺伝子のホモログ)の発見、JIP-1 によるアルツハイマー病原因遺伝子 APP の線虫ホモログの制御、高血圧症の原因遺伝子のホモログ WNK-1 の発生における役割解明などがあった。さらに、ヒト WNK1 結合因子として STE20 様キナーゼ SPAK を同定し、WNK1 は SPAK のキナーゼドメインの C 末側に存在する保存されたセリン残基をリン酸化すること、SPAK が 12 回膜貫通型の構造をもつ Na<sup>+</sup>-(K<sup>+</sup>)-Cl<sup>-</sup>共輸送体ファミリー NKCC1、NKCC2、NCC の N 末制御領域を直接リン酸化することを明らかにした。これらの知見は、生体内において WNK1→SPAK→共輸送体というシグナル伝達経路が存在し、この経路の制御異常が高血圧発症の一因である可能性を示唆した。

(3) 西田、福田グループ:

アフリカツメガエル初期胚をモデルとし、原腸陥入及び神経分化を制御するプロテインキナーゼについて着目し、発生生物学的・生化学的解析を行った。MAPK 経路のひとつであ

る MKK7-JNK 経路が、非古典的 Wnt 経路の下流において原腸陥入の進行に必須であること、PKC ファミリー分子 aPKC がプロテインキナーゼ Par-1 をリン酸化し、アダプタータンパク質 14-3-3 とともに Par-1 の細胞内局在を変化させることで原腸陥入を制御することを示した。また、インテグリンと相互作用するプロテインキナーゼ ILK が、細胞同士、及び細胞と細胞外マトリクスとの接着性を制御することにより、原腸陥入において重要な役割を果たしていることを示した。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

研究代表者はシグナル伝達機構の研究において、モデル実験生物系を巧みに用いて緻密な実験を極めて効率的に行うことによって既に著名な研究者として知られているが、本プロジェクト研究においては、その成果をさらに発展させると共にそれらの過程と生物の器官形成や形態形成などより個体レベルの研究に発展させようとするものである。実際その研究成果では従来の研究の進展に加えて、新規シグナル伝達因子の発見などにも到っている。また、その中にはアルツハイマー病、パーキンソン病、遺伝性高血圧賞などの原因遺伝子や関連遺伝子が見いだされており、各種の疾患の遺伝子機構の解明にあたり観念から迫る可能性を示した点は高く評価される。本研究では特に、共同研究者との連携による研究スペクトルの拡大に成功しており、CREST 事業の利点がフルに生かされている。その意味で共同研究者の寄与も高い。ただし、器官形成過程の解析などにつなげていくという当初の構想はまだ未完成の部分も多い。これらの研究成果は、Nature, Genes & Dev., EMBO J. などのトップジャーナルに多数公表されており、十分に高い成果があげられたことを示している。

##### 4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

シグナル伝達の研究そのものはきわめて基礎的な研究であるが、そこで発見されるシグナル伝達経路の遺伝子やタンパク質群は将来の創薬の対象として有望なものが多い。研究代表者はその点にも十分に配慮しており、4件の特許申請が行われている。応用への道が近いとは決して言えないが、将来の創薬とつながることも期待される。その意味でも本プロジェクトは領域の戦略目標によく合致した成果をあげている。

##### 4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

(受賞)

松本 邦弘：日産科学賞(2001年3月)

松本 邦弘：木原記念財団学術賞(2001年5月)

松本 邦弘：井上学術賞(2002年2月)