

機関番号：14603

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21770235

研究課題名(和文) 副腎形成をモデルとした神経冠細胞の移動機構

研究課題名(英文) **BMP-switching regulates lineage specification and migration of neural crest cells**

研究代表者

齋藤 大介 (SAITO DAISUKE)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教

研究者番号：90403360

研究成果の概要(和文)：発生初期にみられる神経系組織の成立機構について、神経前駆細胞の移動に注目し、その制御機構の解明に取り組んだ。末梢神経系のほぼすべてを作り上げる神経冠細胞(Neural crest cell, 神経堤細胞ともいう。以下NCCと呼ぶ)をモデルとした解析から、背側大動脈からの誘引シグナルやNCCサブタイプの選別機構について新規の知見を得た。本研究をとおして、NCCの移動や細胞系譜の選別を制御する機構の一端が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Among the neural crest cell (NCC) subtypes, I focus on the sympatho-adrenal progenitor cells (SA cells), the common progenitors giving rise to sympathetic neurons (S-cells) and adrenal medulla cells (A-cells). We found that the mechanism underlying SA cells migration toward dorsal aorta (DA), and BMP, SDF and Neuregulin is involved in this process.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

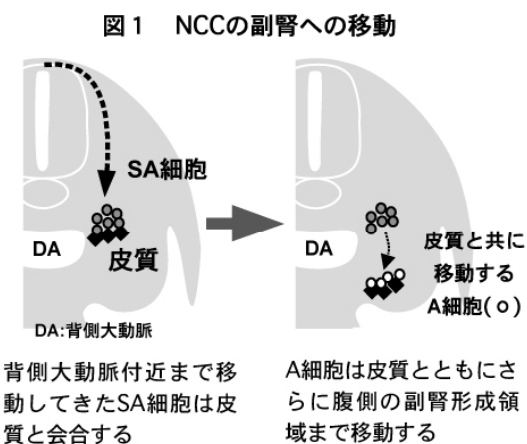
キーワード：神経堤細胞、交感神経、副腎、ケモカイン、誘引、細胞移動

1. 研究開始当初の背景

副腎は皮質と髄質という2種類の細胞群から構成される単純な器官である。そのうち髄質は、NCCのサブポピュレーションである交感神経-副腎髄質前駆細胞(Sympatho-adrenal precursor cell:SA細胞)に由来する。SA細胞

ははじめ神経管背側から背側大動脈(DA)付近まで集団として移動してくる(図1左)。その後、SA細胞集団の中でも後に交感神経(Sympathetic neuron:S細胞)に分化する細胞はその場に留まり続けるが、のちに副腎髄質(Adrenal cell:A細胞)に分化する細胞は

腹側の副腎形成領域までさらに移動を続ける (図1右)。しかしながら、SA細胞やA細胞がどのようなしくみでダイナミックに移動するのか、あるいはSA細胞の移動後、A細胞だけが選択的に移動するしくみについては、全く知られていなかった。



2. 研究の目的

私はこれまでに、トリ胚の細胞種特異的な遺伝子操作による研究から、SA細胞が背側大動脈付近に移動するためには、背側大動脈とその周辺で発現するケモカインSDF1とBMPが関わること、またA細胞のさらなる移動には、皮質のガイダンス活性が重要であることなどを見いだしてきた。これに加え、皮質細胞自身の挙動についての新たな知見も得ている。皮質細胞は、A細胞が移動を行う前のSA細胞とすでに会合しており (図1左)、その後、SA細胞の中からA細胞として選択された細胞群とともに腹側へ移動し、副腎領域にたどり着く (図1右)。このとき皮質内で発現するSDF1の下流分子 (おそらく細胞接着関連因子だと思われる) がA細胞のガイドに関わっていること、またこれと並行して、BMPもA細胞のガイドに関与する可能性を見出している。本研究ではこれら独自の知見を発展させ、SA細胞の移動機構の詳細と、A細胞と皮質の相互作用を担う分子機構に注目して解析し、器官

を構成する細胞が移動先の異なる細胞外環境によってどのように制御されるかについての全体像を把握することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ニワトリ胚への遺伝子導入方法として *in ovo* エレクトロポレーション法、および *in vivo* トランスフェクション法を用いて、神経堤細胞、背側大動脈、および体腔上皮細胞に向けてさまざまなコンストラクトを導入した。

(2) SA細胞の発生におけるCXCR4 遺伝子機能を検証するために、CXCR4 ミュータントマウスを用いた。

(3) 神経堤細胞の移動能を検証するためにニワトリ胚内に特定の遺伝子を発現する培養細胞株を移植した。また、*in vitro* 系での移動アッセイ法として、マトリゲル内に神経堤細胞由来の初代培養細胞と、特定の遺伝子を発現する培養細胞株を併置させ、移動状態をタイムラプスにてモニターリングした。

4. 研究成果

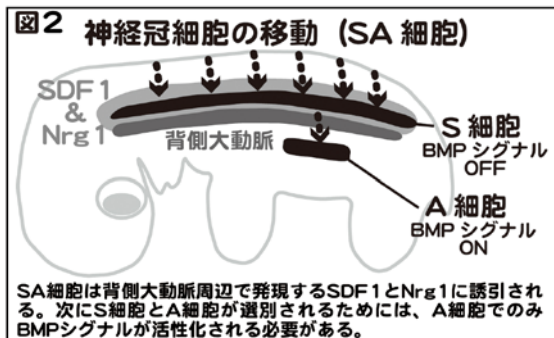
(1) NCCサブタイプの1つである交感神経-副腎髄質前駆細胞 (SA細胞) の移動機構に関して、背側大動脈がSA細胞の移動を誘引する能力をもつこと、またこの誘引能の実態が背側大動脈付近の間充織内で発現するケモカインSDF1とNeuregulin1 (Nrg1) であることを、移植実験や *in vitro* の移動アッセイによって明らかにした (図2)。さらに、背側大動脈において発現するBMP4とBMP7が、背側大動脈周辺におけるSDF1とNrg1の発現に必要であることを見つけた。

今後は、背側大動脈で発現し、SDF1とNrg1の発現誘導を行う分子を特定したい。

(2) 次に、背側大動脈まで辿り着いたSA細胞集団が、S細胞とA細胞に選別される機構に

ついて、次のことを明らかにした。背側大動脈に辿り着いた直後のSA細胞ではBMPシグナルが活性化しているが、やがてこれらのシグナルは消失した。さらに発生が進んでSA細胞からA細胞が選別される時期になると、A細胞でのみBMPシグナルが再活性化された。BMP受容体の変異型を用いた解析から、BMPシグナルの活性/不活性化の違い（BMP-switching）が、S細胞とA細胞の空間的な選別に重要であることを見出した（図2）。さらに、このBMP-switchingは、細胞外因子 Crossveinless2 によって制御されていることも見出した。本研究をとおして、NCCの移動や細胞系譜の選別を制御する機構の一端が明らかになった。

今後は、どのような機構でS細胞だけで Crossveinless2 が発現するのか、およびA細胞の移動機構について明らかにしたい。



5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計4件）

① 横田泰宏、齋藤大介、田所竜介（他1名、2番目）、Genomically integrated transgenes are stably and conditionally expressed in neural crest cell-specific lineages、Developmental Biology誌、353巻、382-395、2011、査読有

② 吉野剛史、齋藤大介、田所竜介（他1名、2番目）、In vivo gene manipulations of epithelial cell sheets: a novel model to study epithelial-to-mesenchymal transition、Development, Growth and Differentiation誌、53巻、378-388、2011、査読有

③ 渡邊忠良、佐藤有紀、齋藤大介（他2名、3番目）、Ephrin B2 coordinates the formation of a morphological boundary and cell epithelialization during somite segmentation、Proc. Natl. Acad. Sci. USA誌、106巻、7467-7472、2009、査読有

④ 大畑絵美、田所竜介、佐藤有紀、齋藤大介（他1名、4番目）、Notch signal is sufficient to direct an endothelial conversion from non-endothelial somitic cells conveyed to the aortic region by CXCR4、Developmental Biology誌、335巻、33-42、2009、査読有

〔学会発表〕（計4件）

① 齋藤大介、大畑絵美、村井英隆、高瀬悠太、高橋淑子、BMP-switching regulates lineage specification and migration of neural crest cells、The 16th International Conference of the International Society of Differentiation、2010.11.15、奈良

② 齋藤大介、大畑絵美、村井英隆、高瀬悠太、高橋淑子、BMP-switching regulates lineage specification and migration of neural crest cells、Society for Developmental Biology 69th Annual Meeting、2010.8.7、アメリカ・ニューメキシコ州・アルバカーキ

③ 齋藤大介、大畑絵美、村井英隆、高瀬悠太、高橋淑子、BMP-switching regulates lineage specification and migration of neural crest cells、第43回日本発生生物学学会年会、2010.6.21、京都

④ 齋藤大介、大畑絵美、村井英隆、高瀬悠太、高橋淑子、BMP switching regulates migration and subtype segregation of neural crest cells、CDB Symposium 2010、2010.3.24、神戸

〔図書〕（計1件）

① 齋藤大介、田所竜介、高橋淑子、発生と幹細胞：神経冠細胞の移動機構、最新医学社「幹細胞研究の最近の進歩（後編）-組織幹細胞-、最新医学、2009、1315-1327

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページアドレス

<http://bsw3.naist.jp/takahashi/takahashi.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 大介 (SAITO DAISUKE)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイ
エンス研究科・助教

研究者番号：90403360