

動物の皮膚模様形成メカニズムの分子レベルでの解明

●近藤 滋

名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻

＜研究の目的と進め方＞

発生に伴うパターン形成現象の中でも、皮膚模様形成はモデル実験系としての価値が高い。その理由は

1) 皮膚の模様は内部構造とはまったく異なるので、自律的なパターン形成であることが明白。

2) 人工的に乱されても自己修復を行うような、動的な性質を持っている

である。

これらの特徴から、皮膚の模様は Turing の反応拡散系による定常波パターンであると考えられる。実際に、いろいろな魚類で模様変化を記録すると、反応拡散の理論予測と一致することが証明されているが、いまだに分子レベルでの解明はなされていない。どのような分子機構が TuringPattern を作っているのかわかれれば、パターン形成の分野への影響は大きい。また、Turing の原理は、分子間の相互作用によって生まれる「波」の性質が作り出すパターンであり、単なる分子の性質ではなく「システム」そのものであるため、システム研究の観点から見ても、重要な先導的役割を果たすだろう。

以上の観点に立ち、我々はゼブラフィッシュを用いて、縞模様形成原理の解明を分子レベルで目指している。

＜2008 年度の研究の当初計画＞

2008 年度は、ゼブラフィッシュでこれまでにクローニングした 2 種の模様変異遺伝子の機能解析を中心に行うことにした。

2 種の模様変異遺伝子のうちレオパード遺伝子（模様が斑点に変化）は *c x 4 1.8*（コネキシン）を、ジャガー遺伝子（縞模様の幅がほぼ倍になる）は *kir7.1*（内向き整流 K チャンネル）をコードしている。それぞれについて、トランスジェニック魚を作成し、F0 での模様の回復には成功していたが、F1, 2 はまだあったため、詳細な解析ができていなかったもので、まずこれを行うことを目標とした。

次に、それぞれの遺伝子に、色素細胞（2 種）に特異的なプロモータの支配下で発現させ、どの細胞でその遺伝子が働くことが、縞模様形成に必要なかを解析しようとした。

さらに、2 つの遺伝子を異所的に発現させることで、どのような模様変異が起きるかを調べた。

2 種の遺伝子産物の、分子としての活性を調べる目的で、遺伝子を *H e q 1 0 9* 細胞、色素細胞に発現させ、ギャップジャンクションとしての活性、K チャンネルとしての活性、さらにそれらの分子の変異が、色素細胞に与える影響について調べる。

以上の解析を通じて、2 種の遺伝子変異が、模様に対してどの

ようにして影響を与えるかについての情報を得、特にどのような分子が反応拡散系を成立させるキーなのかを推定することを目標にした。

＜2008 年度の成果＞

最初に、それぞれの遺伝子固有のプロモーターにつないでインジェクションし、F1 個体を作ることで、どちらの遺伝子も遺伝子導入により完全に模様を正常な縞模様に戻せることを確認した。

次に、色素細胞特異的なプロモーターにつなぎ発現させることで、ジャガー（K チャンネル）は黒色素細胞での発現があれば十分であること、レオパードは黒・黄色素細胞両方での発現が、模様変異に必要であることがわかった。このことから、2 つ遺伝子は、色素細胞の性質を変化させることで模様に変異を起こしていることが解った。

さらに、正常な魚に過剰量の *kir7.1* 遺伝子を発現させると、再び幅広い模様変異を起こすことも解った。また、レオパード遺伝子を黒色素細胞だけに発現させた場合、縞の幅が逆に狭くなるという予想外の変化が起きた。これらの理由に関しては現在検討中である。

Kir7.1 の変異遺伝子産物を、パッチクランプ法で調べてみると、K の透過性が悪くなり、その結果として静止膜電位が過分極側にシフトしていることがわかった。また、*c x 4 1.8* の遺伝子を改変した遺伝子でのレスキュー実験から、ギャップジャンクションを作らずに、ヘミチャンネルとして働けば、模様変異をかなり回復させることがわかった。

いずれの遺伝子も「チャンネル」としての機能が模様形成に深く関わっていることを示している。まだ、断定できるわけではないが、コネキシンを通過する何らかの低分子（たとえば ATP）が、反応拡散のキー分子との印象を得ており、今後その仮説の下に検証実験を行っていく。

＜国内外での成果の位置づけ＞

模様と反応拡散の関係については、国内外共に本研究課題が占状態である。2008 年度は、欧文の専門誌から多数の総説の依頼を受け、うち 2 誌に掲載した。また、数学、物理の学会からの招待も受けている。

1.Kondo S. How animals get their skin patterns: fish pigment pattern as a live Turing wave. *Int.J.Dev.Biol* (2008)

2.Shirota H.,and Kondo S. Theoretical analysis of mechanisms that generate the pigmentation pattern of animals. *Seminors in Cell and Developmental Biology*: 2008 Oct 19.

＜達成できなかったこと、予想外の困難、その理由＞

これまでも続けてきたプロジェクトであるが、インビトロでの色素細胞の維持が難しく、細胞を取り出しての相互作用解析が行えずにそれが実験の進行のネックとなっている。現在主に行っているトランスジェニック法では、F1の成魚まで待たないと結果を見る子tができず、ひとつのコンストラクトに対して最低でも7ヶ月の日数を要するため、極めて進行が遅くなっている。

＜今後の課題＞

今後は、チャンネルを通るどの分子が反応拡散のキー分子かを中心に化石を行っていきたい。特に色素細胞に影響を与える低分子のスクリーニングを行い、これまでとは異なった方向からの研究を加えることで、Turing波形成の分子メカニズムの同定を進めたい。

＜成果公表リスト＞

1) 論文

1.0901161152

Takahashi G.,and Kondo S.:Melanophores in the stripes of adult zebrafish do not have the nature to gather,but disperse when they have the space to move. Pigment Cell Research. Volume 21 Issue 6:677-686