

# ショウジョウバエ脳形成の遺伝子システム

●多羽田 哲也 ◆佐藤 純  
 東京大学分子細胞生物学研究所

## <研究の目的と進め方>

ショウジョウバエ脳に発現する遺伝子の発現パターンと機能の解析から中枢神経系の形成メカニズムを明らかにする。

1. 視覚神経節は、1細胞レベルの解像度で全体の構成を解析できる優れた実験系である。この特徴を生かし、細胞間コミュニケーションに焦点を当て、構築論理を解明する。現在までにDppがラミナ神経節の形成に必須であること、Wnt4が背腹軸に沿った視神経の投射を制御すること、最外側の視覚神経節であるラミナ神経で発現するSim転写因子が、視神経軸索とその投射ターゲットであるラミナ神経の細胞間コミュニケーションに必須であること、メダラ神経芽細胞が神経上皮から規則正しいメカニズムで形成されること（proneural waveと名付けた）、NotchおよびSTATシグナルがこのproneural waveの推進に必要であり未知の細胞非自律性（ドミノ効果と名付けた）を示すこと等を明らかにしてきた。特にproneural waveの推進による神経芽細胞の形成は、今まで知られているどのような中枢の神経形成過程とも異なっており、神経形成機構の解明に新たな知見を加えるものである。NotchおよびSTATの役割を明らかにすることで、proneural waveを推進するメカニズムの解明に近づく。

2. 匂い学習記憶に必須なMushroom Body (MB)の発生メカニズムを探ることにより機能ドメインを明らかにし、記憶形成メカニズムの解明の一助にする。また、遺伝子発現パターンの解析から哺乳類脳との相同性を明らかにする。MBにおける記憶形成メカニズムの遺伝学的スクリーニングが可能であることから、この相同性は記憶形成メカニズムの共通基盤の理解に資することが期待される。MBに発現する遺伝子をもとに、その形成機構を明らかにする。

## <2007年度の研究の当初計画>

### 1. 視覚系におけるメダラ神経の形成機構の解明

メダラ神経芽細胞が神経上皮から規則正しく形成されることを明らかにしており、そのメカニズムの分子基盤を明らかにする。特に、JAK/STATシグナルの機能を明らかにする。

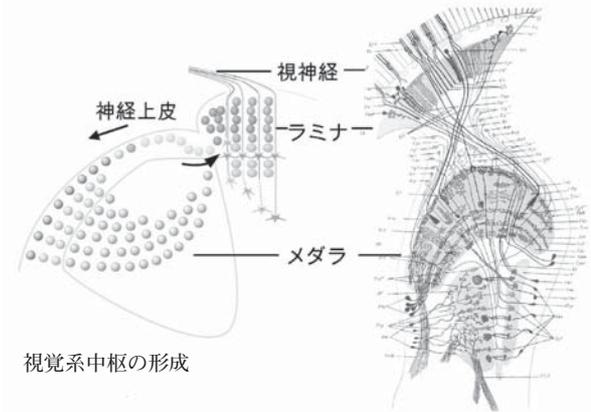
### 2. MBの形成メカニズムの解明

エンハンサートラップ系統の作製および収集を行い、MBに発現する遺伝子およびその発現パターンを解析し、それをもとに変異系統を作製し、その表現型解析を通して形成メカニズムを明らかにする。

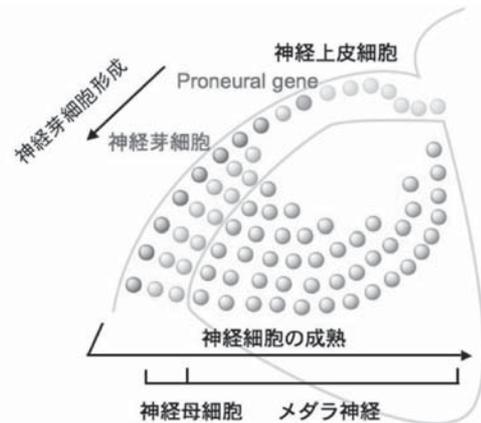
## <2007年度の成果>

### 1. 視覚中枢の形成機構

(1) ショウジョウバエの成虫の視覚系中枢（次図右）はラミナとメダラの神経節を持つ。この神経節は3令幼虫期（左図）に形成される。このとき両者は共通の神経上皮から作られる。今年度の研究は様々なメダラ神経を産み出すメダラ神経芽細胞の形成に焦点をあて、そこに働くJAK/STATシグナルの機能を明らかにした。



視覚系中枢の形成

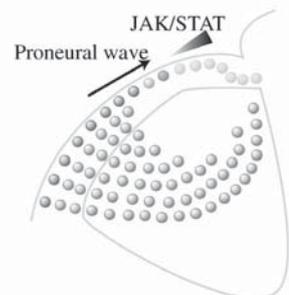


メダラ神経の形成

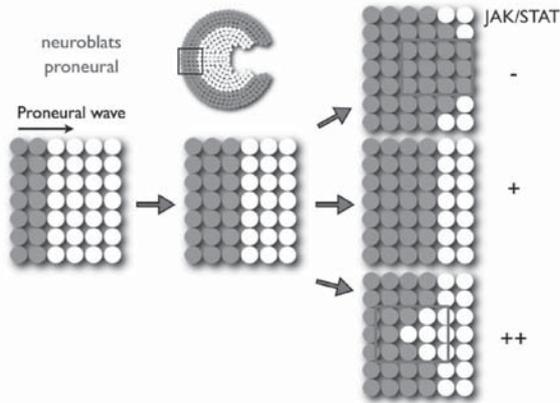
メダラ神経の形成は神経上皮細胞が増殖することに始まる。次に、最外側（上図では左端下）に位置する神経上皮細胞がProneural遺伝子群に属する遺伝子を発現し、その細胞は直ぐに神経芽細胞となる。ひとたび神経芽細胞となると不等分裂により神経母細胞さらにはメダラ神経を産み出す。これを時系列で追ってみると、最外側から始まるProneural遺伝子の発現は1細胞ずつ内側へ向かって神経上皮細胞列を上っていく。それは神経芽細胞を形成する波が規則正しく一方向に動いていくようであり、proneural waveと名付けた。

(2) JAK/STATシグナルの働き

JAK/STATシグナルのリガンドUpdが神経上皮のラミナ側で発現していることを見出した。STAT結合配列を上流に持つリポーター遺伝子の発現から、JAK/STATシグナルはラミナ寄りの神経表皮で活性が高いことがわかった。



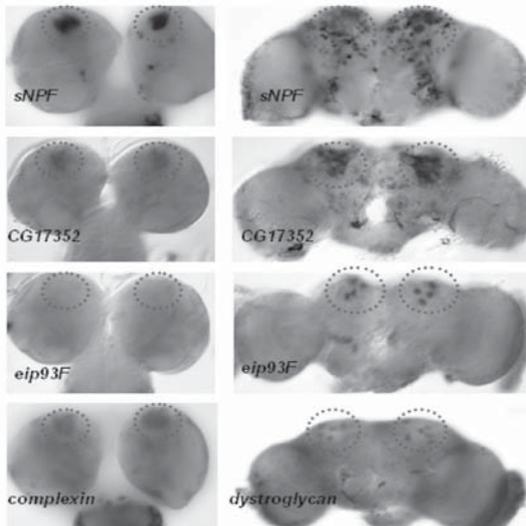
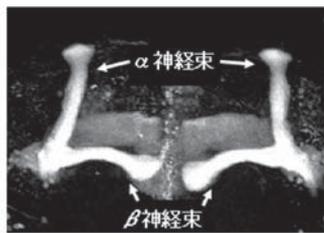
JAK/STATシグナルの機能喪失変異クローンを作成すると proneural wave の進行が進み、逆に機能獲得変異クローンでは proneural wave の進行が遅くなることを見出した (下図)。



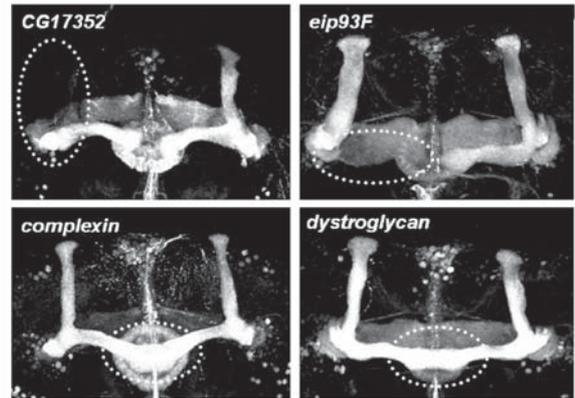
proneural waveは神経表皮を、何らかの機構により進んでいく。JAK/STATシグナルはこの進行を負に制御することにより、神経芽細胞の形成を調節していることが明らかになった。JAK/STATシグナルの大きな機能喪失変異クローンを作るとメダラ神経の領域が本来ラミナに成るべき部分にまで拡大される表現型がみられる。ラミナとメダラ神経は共通の神経上皮から形成されることから、proneural waveの進行を調整することにより、メダラ神経の産生を調節することはラミナとメダラ神経の形成のバランスをとる面からも重要なことと思われる。

## 2. 嗅覚中枢の形成機構

ショウジョウバエの Mushroom Body (MB) は嗅覚学習の中枢と考えられており、記憶学習のモデルシステムとあして多くの知見が得られている。この構造の形成機構を明らかにするためにエンハンサートラップシステムをスクリーニングし、MBで発現のみられる約200系統を得た。これらの挿入部位のマッピングを終え、近傍の転写単位の探索を行った。下図は in situ hybridization により幼虫および蛹における発現を検出した例である。



これらの遺伝子の変異をもとに機能解析を始めた (下図)。



### <国内外での成果の位置づけ>

メダラ神経節の形成機構解析の過程で、神経上皮細胞から神経芽細胞が規則正しく形成されるメカニズムを見出した。これはいかなる中枢神経系にも知られていなかったものであり、神経幹細胞形成を詳細に解析することが可能になった。哺乳動物の脳神経やショウジョウバエの生殖系列においても JAK/STAT シグナルが幹細胞あるいは前駆細胞の維持に機能していることが報告されていることから同シグナルは幹細胞形成一般に機能している可能性がある。このシグナルの強度で細胞の分化プロセスを規定することによって幹細胞の発生を標準化することを提唱したい。

Mushroom body 形成に関しては、重要な構造であるにも関わらず、これの大まかな構造を規定する基本的なシグナルさえ同定されていない。今後、この研究を進展させていくなかで、明らかにしていきたい。

### <達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

MBで発現を示す200以上のエンハンサートラップを解析したが、その中で、実際に近傍に当該遺伝子を同定することができたのは、少数であった。MBでの発現を規定するエンハンサー配列が何らかのリピート配列と相同性があり、高いバックグラウンドを示すのかも知れない。

### <今後の課題>

メダラ形成において、proneural wave 推進のシグナルを同定することに主眼をおきたい。Notchシグナルの働きを解析することが不可欠であると考えている。今までのところ明確な解が得られていないが、他のシグナル系とのクロストークを含めて明らかにしていきたい。

また、Mushroom body の形成機構解析に関しては上記のスクリーニングで得られた遺伝子群と Wnt シグナルを中心に、形成メカニズムを明らかにしていきたい。

### <成果公表リスト>

#### 1) 論文/プロシーディング

- 0801281846 Yasugi, T., Umetsu, D., Murakami, S., Sato, M., and Tabata, T.: *Drosophila* optic lobe neuroblasts triggered by a wave of proneural gene expression that is negatively regulated by JAK/STAT. Development, in press