

## 咽頭弓からの胸腺形成と先天性異常の発症機構

大久保 直<sup>1</sup>, 高田 慎治<sup>2</sup>

脊椎動物の主なリンパ器官である胸腺は、胎生期の咽頭弓内胚葉に由来する。胸腺の発生は、第3咽頭弓と第4咽頭弓の間のくびれた部位（咽頭嚢）から内胚葉上皮細胞の突出として始まり、その後、内胚葉から切り離された上皮細胞塊に、血管の進入とともに未分化なT前駆細胞が入り込んでくる。そして徐々に成長しながら胸腺原基は機能的にも分化し、最終的に心臓付近まで移動する。ヒトの先天性心疾患であるディジョージ症候群の患者では、咽頭弓の形成不全により心血管系の異常のみならず胸腺の無形成あるいは低形成といった異常が見られる。本総説では、咽頭弓からの胸腺形成過程を概説するとともに、ディジョージ症候群の原因遺伝子である Tbx1 とその新規調節因子 Ripply3 の機能について紹介する。

### 1. はじめに

胸腺は、脊椎動物において自己非自己を認識するTリンパ球の増殖と分化、排除を行い、多様なレパートリーを生み出す重要な1次リンパ器官である。Tリンパ球前駆細胞（thymocyte）が、分化成熟するには胸腺上皮細胞との細胞間相互作用が必須である。Tリンパ球の分化成熟の分子機構は非常に解明が進んでいるが、胸腺そのものの発生、あるいは胸腺上皮細胞の増殖と分化に関しては、まだ不明な部分が多い。Tリンパ球前駆細胞は、血管から胎生期の胸腺内に入り込み、皮質と髄質にとどまる。このTリンパ球前駆細胞の移入は、胸腺上皮細胞の複雑な3次元構造が重要である<sup>1)</sup>。このように、胸腺上皮細胞の構造が正しく構築されないと、様々な重要疾患、免疫不全や自己

免疫疾患を引き起こすと考えられている。

胸腺の形成過程を見たとき、いくつかの重要かつ特徴的なプロセスが存在する。まず、はじめに胸腺の形成位置が決定され、そこから出芽、成長、上皮からの分離・移動、そして機能的な分化・成熟といった一連のプロセスが進行していく。これまでの様々なノックアウトマウスの解析から、どのプロセスに異常が出るかといった知見が蓄積されつつある。本項では、まず胸腺発生の基本的な概念と、その遺伝的制御機構について概説し、さらに、咽頭弓形成異常に起因するヒトの先天性免疫異常（ディジョージ症候群）の原因遺伝子 Tbx1 の機能とその新規調節因子 Ripply3 を中心に、咽頭弓と胸腺形成の密接な関連性を紹介する。

### 2. 咽頭弓からの胸腺形成

咽頭弓（pharyngeal arch：PA、または鰓弓 branchial arch）は、脊椎動物の胎児期に一時的に現れる分節様の組織で、左右5-7対形成される進化的にもよく保存された構造である<sup>2)</sup>。各咽頭弓には、内部には未分化の中胚葉系の細胞だけでなく、血管内皮細胞（心臓流出路と背側大動脈を結ぶ3対の鰓弓動脈）、神経堤細胞が存在し、それらを内胚葉と外胚葉の上皮細胞が包んでいる（図1）。魚類の咽頭弓は顎や鰓列へと発生する。一方、他の高等脊椎動物の咽頭弓は、ダイナミックな変化をとげ様々な組織や器官へと分化していく。哺乳類では、第1, 2咽頭弓は、主に上顎お

<sup>1</sup>北里大学医学部実験動物学（252-0374 相模原市南区北里1-15-1）

<sup>2</sup>自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター（444-8787 岡崎市明大寺町字東山5-1）

Molecular mechanism of thymus development from the pharyngeal arch

Tadashi Okubo (School of Medicine, Kitasato University, 1-15-1 Kitasato, Minami-ku, Sagami-hara 252-0374, Japan) and Shinji Takada (Okazaki Institute for Integrative Bioscience, 5-1 Higashiyama, Myodaijichou, Okazaki 444-8787, Japan)

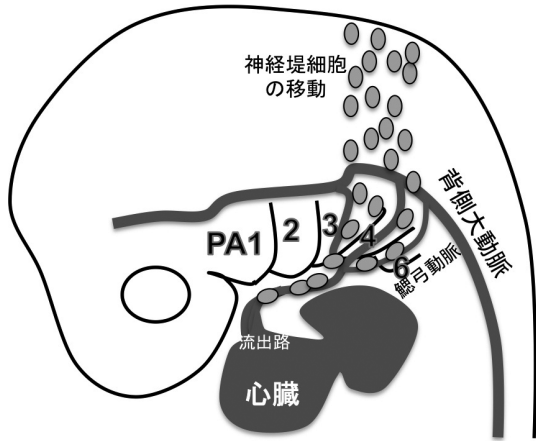


図1 脊椎動物の咽頭弓の構造  
第1咽頭弓 (PA1), 第2咽頭弓(2), 第3咽頭弓(3), 第4咽頭弓(4), 第6咽頭弓(6). PA3, 4, 6における神経堤細胞の移動経路と鰓弓動脈の走行.

よび下顎を形成するが、後方の第3, 4, 6咽頭弓は、頸部組織や心臓流出路, そして副甲状腺等の内分泌器官やリンパ器官の形成に関わっている<sup>3)</sup>. ちなみに第5咽頭弓は、哺乳類では退化しており, 痕跡的ではっきりとした分節構造は見られない (図1).

種によって異なるが, ヒトやマウスの胸腺は, 第3咽頭弓内胚葉 (前腸) の上皮の一部 (咽頭嚢) から生み出される. ニワトリでは第3と第4咽頭嚢から生じる. 魚類ではすべての咽頭嚢から胸腺原基が生じ, 鰓に胸腺が形成される. 最近無顎類のヤツメウナギでも鰓に胸腺様の組織が存在することが示されている<sup>4)</sup>.

胸腺原基は, もともと一層である咽頭嚢 (内胚葉) の上皮が発芽するように突出することでその形成が始まる (図2). 興味深いことに, 胸腺原基に隣接して副甲状腺の原基も第3咽頭嚢から生じる. また, 鰓後体 (カルシウム恒常性に関わる内分泌器官) は第4咽頭嚢から突出する. マウ

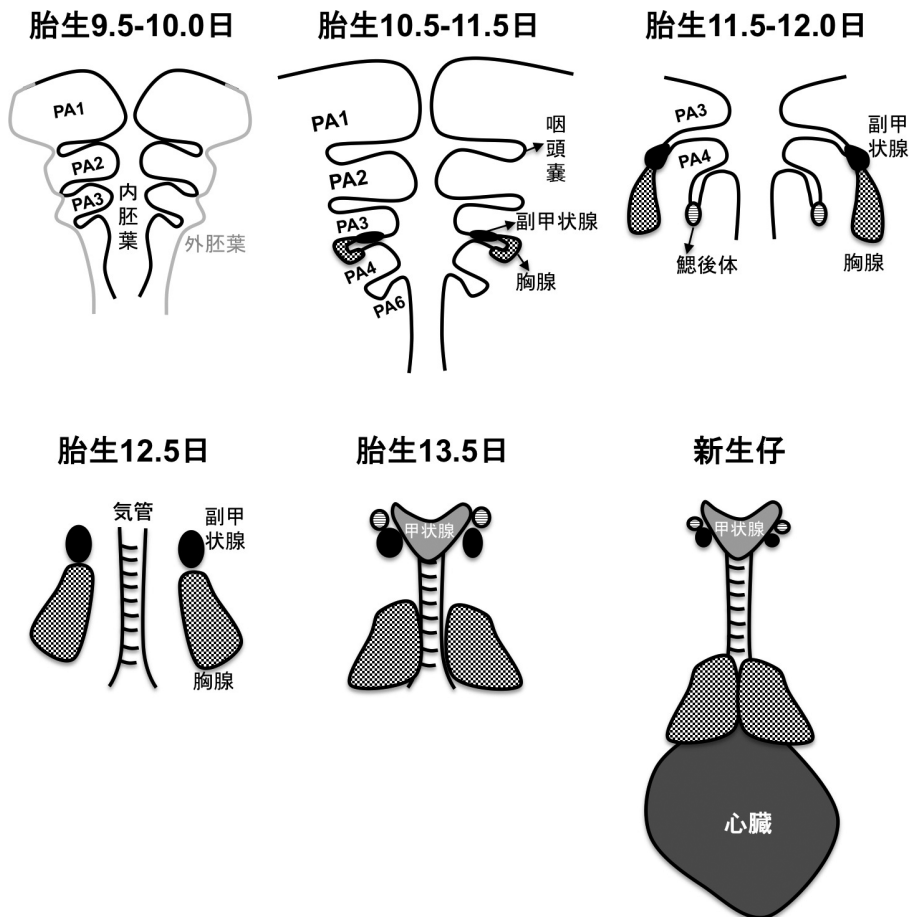


図2 咽頭弓の分節化と咽頭嚢からの胸腺の発生  
胎生 9.5-10.0 日：第3咽頭弓まで分節化がおこる。胎生 10.5-11.5 日：第3咽頭嚢に胸腺と副甲状腺の原基が形成される。胎生 11.5-12.0 日：胸腺と副甲状腺が咽頭から切り離される。第4咽頭嚢から鰓後体が形成される。胎生 12.5 日：胸腺と副甲状腺は後方へ移動しはじめる。胎生 13.5 日：胸腺と副甲状腺は分離し, 胸腺はより後方へ移動する。新生仔：新生仔期までに胸腺は心臓付近まで到達する。

スでは、突出した胸腺上皮の周りには間葉系の細胞や神経堤細胞が存在し、将来胸腺の皮膜を構成する。神経堤細胞の胸腺形成における役割については後述する。

他の前腸内胚葉由来の器官である肺や膵臓の原基は内胚葉上皮が間葉組織に突出したあと、伸長分岐を繰り返し、樹状の管腔構造を形成する。ところが、胸腺や副甲状腺の原基は、内胚葉上皮が突出したあと、上皮から切り離されて、腹側そしてさらに後方へ移動しながら成長し、それぞれの目的地（種特異的な位置）へと移動する。哺乳類の胸腺は、前述したように心臓上部へ移動し、一方副甲状腺は途中で胸腺から分離し、甲状腺の内部か隣接する場所へ移動する（図2）。

胸腺の発生起源に関しては、当初ニワトリ・ウズラを用いた実験モデルから、内胚葉や外胚葉、そして神経堤細胞の関与が示唆されていたが<sup>5)</sup>、最終的には咽頭嚢の内胚葉のみで機能的な胸腺を構築できることがわかっている<sup>6)</sup>。実際 Gordon らは、胎生 9.0 日の第 3 咽頭弓の内胚葉を腎皮膜へ移植し、機能的な胸腺が形成されたことを示している。また、マウスの全胚培養によりラベルされた咽頭弓外胚葉を追跡すると、胸腺上皮には分化せず、むしろ咽頭嚢と接する外胚葉の細胞はアポトーシスを起こすことがわかっている<sup>6)</sup>。また、胎生 12.5 日あるいは新生児の胸腺上皮は、皮質と髄質両方の上皮への分化能を持ち、おそらく内胚葉由来の共通の幹細胞から分化してくると考えられる<sup>7)</sup>。

### 3. 胸腺形成における神経堤細胞の寄与

神経堤細胞は、神経管の背側に由来し、様々な組織へ移動し、末梢神経や間葉系細胞へと分化する多能性細胞である。咽頭弓領域にも多くの神経堤細胞が流入し、それぞれの咽頭弓ごとに神経堤細胞の分化の系譜は明確に分かれることが知られている。特に後方の第 3-6 咽頭弓を通過する神経堤細胞は、心臓流出路を形成する重要な集団である（図 1）。また、Wnt1-cre/Rosa26-eYFP マウスを用いた細胞系譜解析から、胎生 13.5 日には、胸腺の被膜に eYFP 陽性の神経堤由来の細胞が集積することが示された。また、成体では神経堤由来の細胞は間葉系の細胞として、胸腺内

にも入り込み、最終的に皮膜や血管系の細胞へ分化することが明らかとなっている<sup>8)</sup>。さらに、後述するように、神経堤細胞は、胸腺の移動にも関与している可能性が示唆されている。ただし、神経堤細胞は、咽頭弓の分節形成への関与は低いことがニワトリ胚を用いた実験から示唆されている<sup>9)</sup>。

### 4. 胸腺形成に関わる遺伝子

マウスでは第 3 咽頭嚢が、胸腺が特異的に形成される場所であることは前述したが、胸腺の初期マーカーである FoxN1 が発現し始める胎生 11.5 日頃よりも前に、胸腺への分化運命は決定していると考えられている。FoxN1 は、forkhead 型の転写因子で、初期の胸腺上皮に発現し、FoxN1 ノックアウトマウスでは、初期胸腺は形成されるが、次第にアポトーシスを起こし胸腺上皮を欠いている。結果として、T リンパ球の分化が起きない。自然発症突然変異体として nude マウスや nude ラットが知られているが<sup>10)</sup>、それらで見られる異常は点突然変異による FoxN1 の機能欠損が原因である。これらの結果は、FoxN1 は、胸腺への運命決定に機能するというよりはむしろ器官特異的な分化に必要であると示唆される。

FoxN1 以外にも、これまでに多くのノックアウトマウスの解析から、胸腺形成に関与する遺伝子が明らかになってきている。様々な転写因子やシグナル分子が胸腺形成に関わっていることが示唆されているが、胸腺への運命決定に関する明確な因子はまだ定まっていない。一方、咽頭弓の形成異常は胸腺の無形成や低形成を引き起こす場合が多い。つまり、咽頭弓形成と胸腺形成は非常に密接な関係にあるといえる。例えば転写因子、Hoxa3<sup>11)</sup>、Pax9<sup>12,13)</sup>、Eyal<sup>14)</sup>、Six1/4<sup>15)</sup>、Tbx1<sup>16)</sup>、Hes1<sup>17)</sup>等は、咽頭弓あるいは咽頭嚢の形成に関わっていると考えられる。それらの転写因子の咽頭弓および胸腺形成における機能については、簡単に表 1 にまとめた。本稿の後半では、特に Tbx1 と咽頭弓形成、胸腺形成について概説する。

### 5. ヒトの先天性免疫不全疾患とマウスモデル

ディジョージ症候群は、出生時に胸腺が欠如しているか

表 1 咽頭弓および胸腺形成に関与する遺伝子

遺伝子名	発現部位	機能および変異体の表現型	文献
FoxN1	第 3 咽頭嚢, 胸腺上皮	胸腺上皮の分化	10
HoxA3	咽頭弓内胚葉および神経堤細胞	咽頭嚢の形成, 初期胸腺の形成	11
Eyal	咽頭弓領域 (内, 中, 外胚葉)	咽頭嚢の形成, 胸腺の無形成	14
Six1/4	咽頭弓領域 (内, 中, 外胚葉)	咽頭弓 (嚢) の形成, 初期胸腺の形成	15
Pax9	咽頭弓内胚葉, 咽頭嚢	咽頭弓の形成, 胸腺の分離異常, 低形成	12, 13
Tbx1	神経堤細胞以外の咽頭弓領域 (内, 中, 外胚葉)	咽頭弓の形成, 胸腺の低形成あるいは無形成	16
Hes1	神経堤細胞	咽頭弓の形成, 胸腺の低形成あるいは無形成	17
Ripply3	咽頭弓 (内, 外胚葉)	咽頭弓の形成, 胸腺の低形成および咽頭からの分離異常	41

未発達な状態で生まれてくるために起こる先天性免疫不全疾患である。ディジョージ症候群は、常染色体異常が原因で起こる病気だが、多くの場合孤発性で遺伝性のもは少ない。また胸腺の異常に加えて、心臓大動脈系、副甲状腺、顔面にも異常が起こる。胸腺は、Tリンパ球の正常な発達に必要な不可欠であることから、ディジョージ症候群ではTリンパ球の数が足りずに、感染症への抵抗力が損なわれる。さらに副甲状腺が生まれつき欠如しているため、カルシウム値の低下が発生し、筋肉の痙攣や強直が引き起こされる。

すでに、ディジョージ症候群、円錐動脈幹異常顔貌症候群 (CAFS) の発症原因が第22番染色体長腕 (22q11.2) 領域の欠損であるということが判明してから20年が経過しようとしている。その発症率は、およそ4,000人に1人で、多くの場合22q11領域基部の3 Mbあるいは1.5 Mbの欠損が起こっている。その領域においてTBX1は、ディジョージ症候群の最も有力な原因遺伝子であることがわかっている<sup>18)</sup>。またディジョージ症候群のなかでも、染色体の転座や、欠損が見られないケース (点突然変異) も少なからず存在する<sup>19,20)</sup>。このような染色体や遺伝子レベルでの変異がどのように組織の異常を引き起こすのかは、マウスの疾患モデルや培養細胞を用いた機能解析によってこの10年あまりで次々と明らかになってきた。

マウスの16番染色体の基部は、ヒト22q11と相同領域で、その欠損 (Df1) マウスは、ヒト22q11欠損症のはじめのモデルとなった。Df1ヘテロマウスは、第4咽頭弓の低形成を示し、胸腺や副甲状腺も低形成あるいは無形成であった。マウスDf1領域には、まさにTbx1のみならずヒトの典型的な欠損領域に存在する多くの遺伝子を含んでいる。第4咽頭弓の低形成は、大動脈弓の形成には極めて重要で、大動脈弓離断B型でみられるような異常を引き起こす。後に考察するが、心血管系の発生や胸腺の形成はTbx1の発現レベルに対して非常に感受性が高く<sup>21)</sup>、遺伝的背景にも影響を受けやすい。これらの組織の発生は、基本的には、Tbx1+/-マウスとDf1ヘテロマウスではほとんど差が見られない<sup>22)</sup>。一方、Tbx1-/-マウスは胎生致死か新生仔致死となり、その表現型はTbx1+/-よりもさらに重篤な表現型である総動脈幹残存 (persistent truncus arteriosus) を示し、後方の第3, 4, 6咽頭弓分節異常に由来する。また鯉弓動脈の欠損、胸腺と副甲状腺の欠損あるいは低形成、小耳症、そして顔面異常を呈する。また、Tbx1の機能は進化的にもよく保存されており、ゼブラフィッシュ (van gogh mutant) やアフリカツメガエルにおいてもTbx1の咽頭弓形成への関与が報告されている<sup>23,24)</sup>。

## 6. 組織特異的および時期特異的な Tbx1 の必要性

Tbx1は、咽頭弓の外胚葉、内胚葉、および中胚葉系の

細胞、そして、二次心臓予定域に発現するが、神経堤細胞には発現がみられない。Tbx1の組織特異的な役割もコンディショナルノックアウトにより検討されている。例えばMesp1-Creを用いて、中胚葉系特異的なTbx1の欠損を行ったところ、胎生後期の表現型はTbx1-/-と非常に類似しており、胸腺の欠損や心臓流出路の異常、耳の低形成を示す。また、第3, 4, 6咽頭弓を欠き、第2咽頭弓も低形成であることからTbx1-/-胚の咽頭弓の表現型とも似ている<sup>25)</sup>。これらの結果から、中胚葉に発現するTbx1は、咽頭弓の分節化に必要と考えられる。3対の鯉弓動脈がないのは、咽頭弓分節がないためだと思われる。しかし、中胚葉特異的にTbx1を発現させ、Tbx1欠損胚のレスキュー実験を行うと、第4咽頭弓の異常や胸腺の欠損はレスキューできないが、流出路の中隔壁はレスキューされることがわかった<sup>25)</sup>。中胚葉レスキュー胚では、神経堤細胞の移動の部分的な異常が見られることから、おそらく胸腺の表現型に関しては内胚葉上皮におけるTbx1の機能が必要だと考えられる。実際、FoxG1-CreあるいはFgf15-Creマウスを用いて、咽頭弓内胚葉でTbx1をコンディショナルに欠損させると、第4咽頭弓の異常や胸腺の欠損が見られたことから、内胚葉におけるTbx1も必要であることがわかった<sup>26,27)</sup>。このようにTbx1は、各胚葉で特異的な役割をもつことが明らかになってきている。

Tbx1は、マウスの発生過程において異なる時期に様々な器官の構築に必要とされることもわかってきている。タモキシフェン誘導型のCreを用いて、時期特異的なTbx1の欠損を行ったところ、鯉弓動脈の発生で、もっとも初期で必要とされるのは胎生7.5-8.5日頃であった<sup>28)</sup>。実際、この時期はTbx1遺伝子座にCreERを挿入したノックインノックアウトマウスとRosa26-LacZレポーターマウスを用いた細胞系譜追跡実験でも、第4鯉弓動脈の内皮や咽頭弓外胚葉がラベルされる時期と一致する。また心臓流出路の中隔壁の形成には、胎生8.5-9.5日、そして胸腺についてはE8.5-11.5日、口蓋裂については胎生11.5-12.5日頃にTbx1が必要とされるようだ。このように心臓流出路と胸腺の形成に対しては、Tbx1の必要とされる時期が異なるようである。

## 7. マウス胚は Tbx1 の発現レベルに感受性が高い

Baldiniらは、精力的にTbx1の様々な低形質 (Hypomorphic) の対立遺伝子をもちいることで、Tbx1の異なる発現レベルの個体を生み出し、表現型の違いを明らかにしている<sup>29)</sup>。第4咽頭弓の低形成は、Tbx1の発現レベルが野生型の70%に低下すると引き起こされる。20%まで低下すると流出路の異常、口蓋裂はnull変異の時のみ見られる。胸腺はおおよそ30%より低下すると、低形成から無形成に劇的に変化する。このように組織ごとの異常の出現に

は明らかな閾値があり、致死性に関しては、mRNAの発現レベルが16%より低下すると一気に起きやすくなることが示されている<sup>29)</sup>。

さらに、Tbx1の過剰発現に対してもマウス胚は、非常に感受性が高い。例えば、ヒトTBX1の遺伝子を余剰にもつBACトランスジェニックマウスは、Tbx1ヘテロマウスの表現型を部分的にレスキューできるが、BACトランスジェニックマウスそのものは、異所性の胸腺を示す<sup>30)</sup>。また、コンディショナルなTbx1の過剰発現は、機能付与型の表現型を示し(mRNAの約40%の上昇)、胸腺の低形成や心室中隔壁欠損などの表現型を示す<sup>31)</sup>。こういった遺伝子の量的な差異による影響は、少なからずヒトの22q11の欠損と重複によく似た状況で、何らかの関連性があるかもしれない。様々な患者で、TBX1を含む遺伝子の重複が見られ、表現型は欠損変異よりはマイルドであるが、心血管系の異常や胸腺に異常を示すことがある<sup>32~34)</sup>。

以上のように、詳細な遺伝学的解析からTbx1は、時期特異性、組織特異性、そして発現量依存的に機能が厳密にコントロールされており、そのバランスが少々崩れただけで、心血管系や胸腺の異常を引き起こすことがわかってきている。

### 8. Tbx1と相互作用する新規転写調節因子 Ripply3

Tbx1は、転写活性化因子として様々な下流遺伝子の発現を制御することがわかってきている。また、Tbx1と相互作用し転写活性を調節する因子も明らかになりつつある。それらの因子に関しては紙面の都合上Scamblerらの総説等を参照して頂きたい<sup>18)</sup>。

近年、我々を含む幾つかの研究グループにより、未分節中胚葉に発現し、体節形成に関わるT-box転写因子の調節因子としてRipplyが発見された<sup>35,36)</sup>。Ripply遺伝子は、脊椎動物で非常に良く保存されており、少なくとも三つの相同遺伝子が存在することがわかっている。そのうち、Ripply1と2に関しては、マウスやゼブラフィッシュなど様々な種において体節の分節化に関与することが明らかになった<sup>37~40)</sup>。一方、筆者らはRipply3遺伝子が発生過程において咽頭弓の内胚葉とそれに隣接する外胚葉で発現することを見いだした。Ripply3遺伝子は、特に咽頭弓の内胚葉と外胚葉で強く発現し、発生とともに徐々に後方の咽頭弓領域に発現部位がシフトしていくことがわかった(図3)。

そこで筆者らは、機能を解明する目的でRipply3のノックアウトマウスを作製し、その表現型の解析を行った<sup>41)</sup>。その結果、胎生9.5~10.5日のRipply3<sup>-/-</sup>胚では第3, 4咽頭弓がほとんど形成されず、第2咽頭弓よりも後ろ側はほとんど内胚葉と外胚葉の上皮からなっていた(図3)。従って、心臓流出路と背側大動脈をつなぐ第3, 4鰓弓動

脈も存在しないことがわかった。その代わりに、本来退行するはずの第2鰓弓動脈が残存していた。胎生12日以降は、大動脈弓とそれに付随する総頸動脈と鎖骨下動脈の異常なりモデリングと心室中隔壁欠損を示し、生後まもなくチアノーゼにより致死となった。一方、興味深いことに胸腺は低形成であり、かつ咽頭からの分離異常がみられた(図4)。Ripply3<sup>-/-</sup>マウスにおける胸腺の分離異常は、おそらく神経堤細胞の数の減少と第3, 4咽頭弓の著しい低形成による構造上の問題に起因すると考えられた。ただし、Ripply3<sup>-/-</sup>新生仔の胸腺におけるTリンパ球は正常にCD4+CD8+ダブルポジティブへ分化していた。また興味深いことに、Ripply3<sup>-/-</sup>胚においてGcm2陽性の副甲状腺は形成されているが、異所的に咽頭領域に残っており、胸腺との分離も起こらず、甲状腺方向への移動もみられなかった。

### 9. Ripply3の作用機構

これまでの研究から、RipplyファミリーはTbox転写因子の調節に関わることが示唆されていたことから<sup>35,36,40)</sup>、咽頭弓領域に発現するTbx1とRipply3の機能的な関係を解析した。Tbx1の転写活性に及ぼすRipply3の影響を調べるため、培養細胞を用いてTbx結合配列に依存する転写をLuciferase遺伝子を用いたレポーターアッセイを行ったところ、Tbx1の転写活性化をRipply3は顕著に抑制した。また、免疫沈降法によりTbx1およびRipply3タンパク質の相互作用を解析したところ、Tbx1とRipply3はT-boxドメインを介して相互作用することを見いだした。さらに、生体内でRipply3によって制御される遺伝子の候補としてPax9を見出した。実際、Pax9の発現はRipply3<sup>-/-</sup>胚で異所的に増加していた(図5)。またマウスのPax9プロモーター(3.7 kb)に対するTbx1の転写活性化をRipply3は抑止することがわかった(図5)。以上の結果から、Ripply3はTbx1の転写活性を時空間的に調節する新規の転写調節因子であり、Pax9やまだ未知の下流因子の発現を時空間的に制御することによって、特に第3, 4咽頭弓の形成とそれらに由来する様々な臓器の形成に重要な機能を持つことが示唆された。今後、Ripply3遺伝子の上流制御機構、および下流標的因子の探索は、先天性疾患発症の原因究明につながるものと期待される。

### 10. 咽頭からの胸腺の分離と移動

上述したように、Ripply3欠損マウスでは胸腺が咽頭から移動できず、しかも低形成であるという特徴的な表現型が見られた。野生型マウスの胎生11.5日には、咽頭嚢より生じた胸腺の原基は一時的に外胚葉の上皮とも接している。その後外胚葉からの分離は、ほぼ内胚葉からの分離と同時に起こる。そして胎生11.5~12.0日に咽頭から一對の

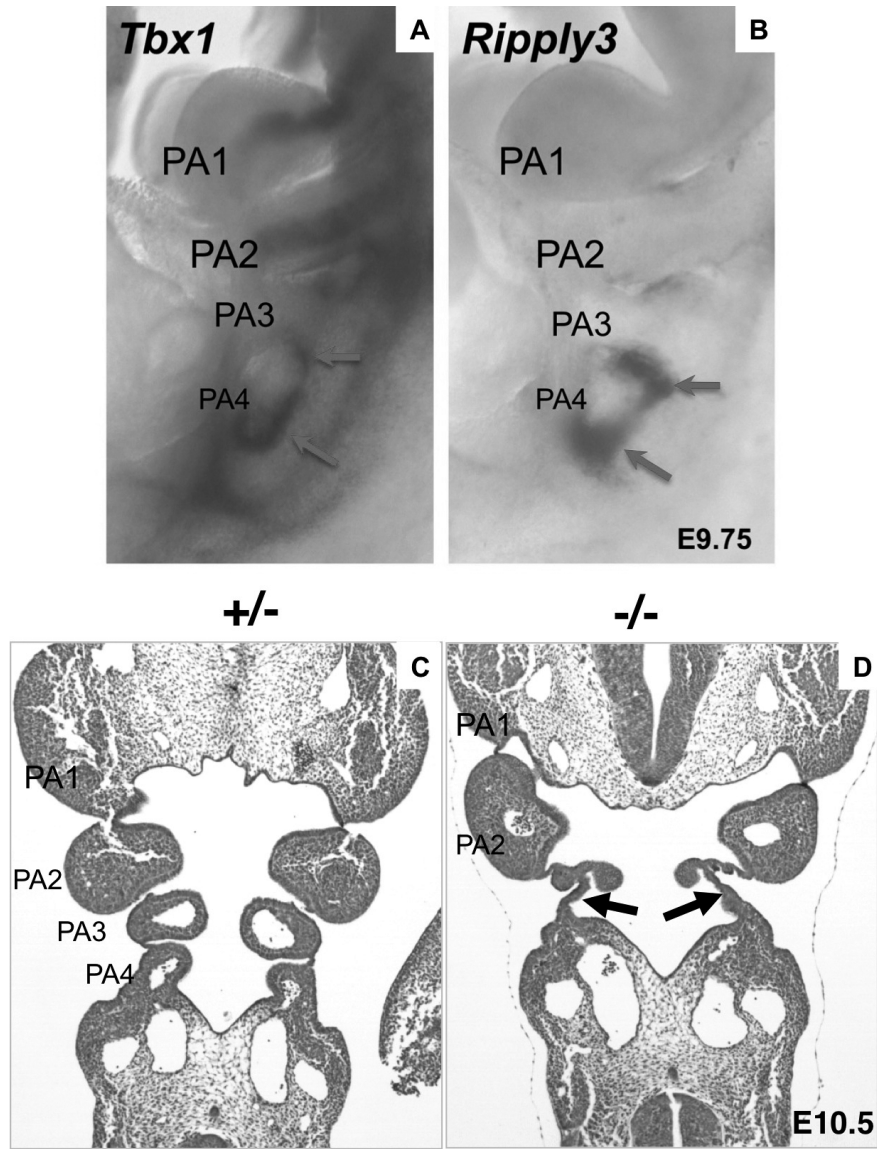


図3 咽頭弓における *Tbx1* と *Ripply3* の発現と *Ripply3* 欠損マウス胚の表現型  
 (A, B) 胎生 9.75 日の咽頭弓における *Tbx1* と *Ripply3* の mRNA 発現 (ホールマウント in situ hybridization). 矢印は第 3, 4 咽頭嚢を示す.  
 (C, D) 胎生 10.5 日の *Ripply3* +/- マウスと -/- マウスの咽頭弓の表現型の比較. 矢印は第 3, 4 咽頭弓の異常を示す. (文献 41 から転載)

原基が切り離される。この原基は咽頭から切り離された後、胸腔内を後方そして中央部に異動し、最終的に心臓の上部にたどり着く(図2)。実は、この胸腺の移動の分子メカニズムに関しては、ほとんどわかっていない。また形態形成の観点からもうひとつ興味深いのは、副甲状腺との分離である。胎生 11.5 日に、左右の咽頭を離れた胸腺と副甲状腺のペアは、その後すぐに胸腺は後方へ移動するのに対し、副甲状腺は胸腺と離れ、甲状腺の方向へ移動する。

一方、様々なミュータントマウスにおいて、副甲状腺ではなく胸腺の分離異常が観察される。つまりこのことは、

胸腺の方がより咽頭と最後までつながっていることを示している。たとえば、*Splotch* 変異体 (*Pax3* の変異体) では、胸腺の咽頭からの分離異常が見られる<sup>42)</sup>。これはおそらく神経堤細胞の減少が原因と考えられる。*Shh* の変異体も胸腺への初期分化 (initiation) は正常だが、咽頭から分離が見られない<sup>43)</sup>。また、*Fgf* 関連分子の *FRS2α* の変異体では、咽頭弓の構造にはほとんど影響は見られないが、胸腺の移動が異常になる<sup>44)</sup>。さらに、神経堤細胞特異的な *HoxA3* 欠損では、胸腺と副甲状腺が咽頭に残り、この表現型は明らかに細胞非自律的である<sup>45)</sup>。この変異体における胸腺の分離は、アポトーシスによって仲介されているこ

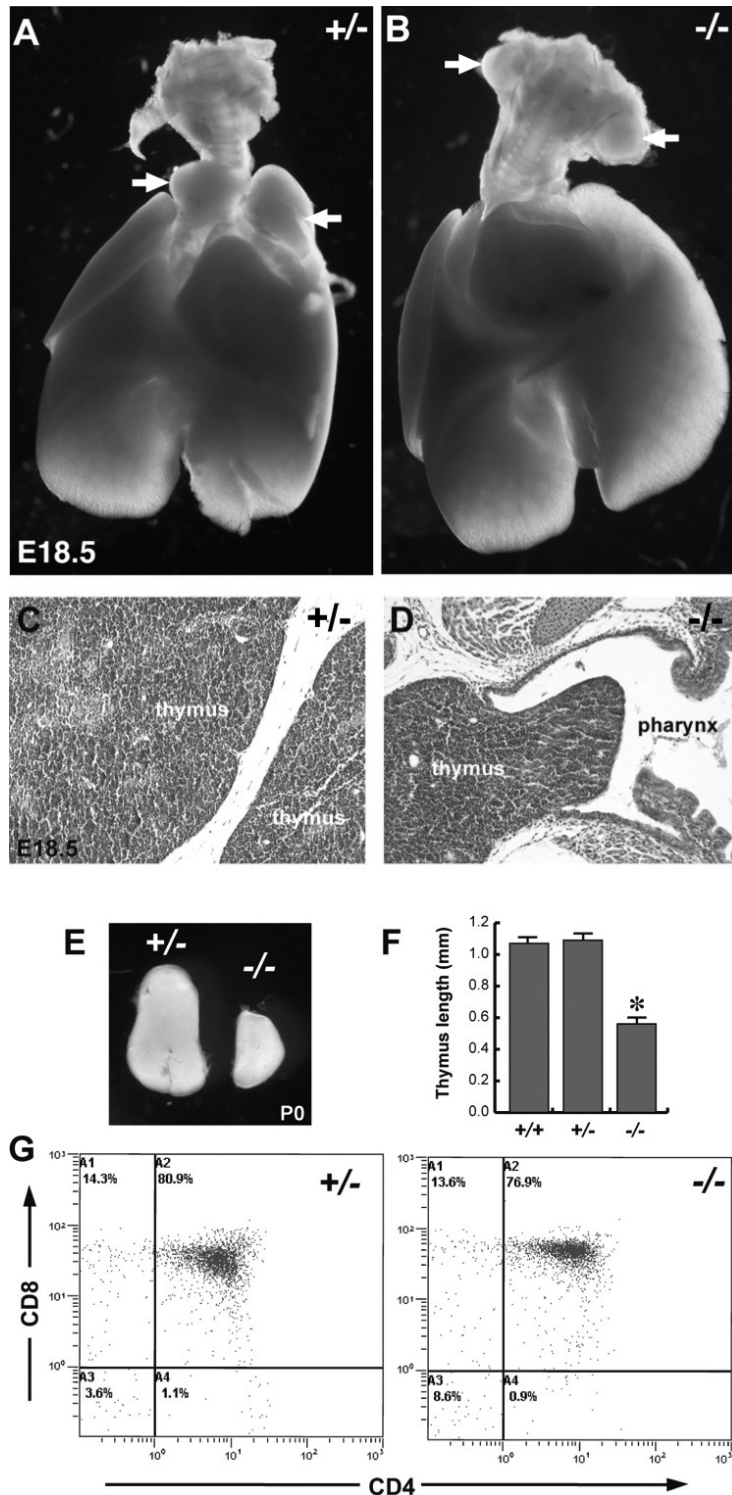


図4 Ripply3欠損マウスの胸腺の表現型

(A, B) 胎生18.5日のRipply3<sup>+/-</sup>と<sup>-/-</sup>マウスの胸腺の形成位置の比較。矢印は胸腺を示す。(C, D) Ripply3<sup>+/-</sup>と<sup>-/-</sup>マウスの胸腺の組織学的解析。<sup>-/-</sup>では胸腺が咽頭に突出して存在する。(E, F) 新生仔Ripply3<sup>+/-</sup>と<sup>-/-</sup>マウスの胸腺のサイズの比較。(G) セルソーターによるRipply3<sup>-/-</sup>胸腺のTリンパ球の分化マーカー(CD4, CD8)の発現解析。(文献41から転載)



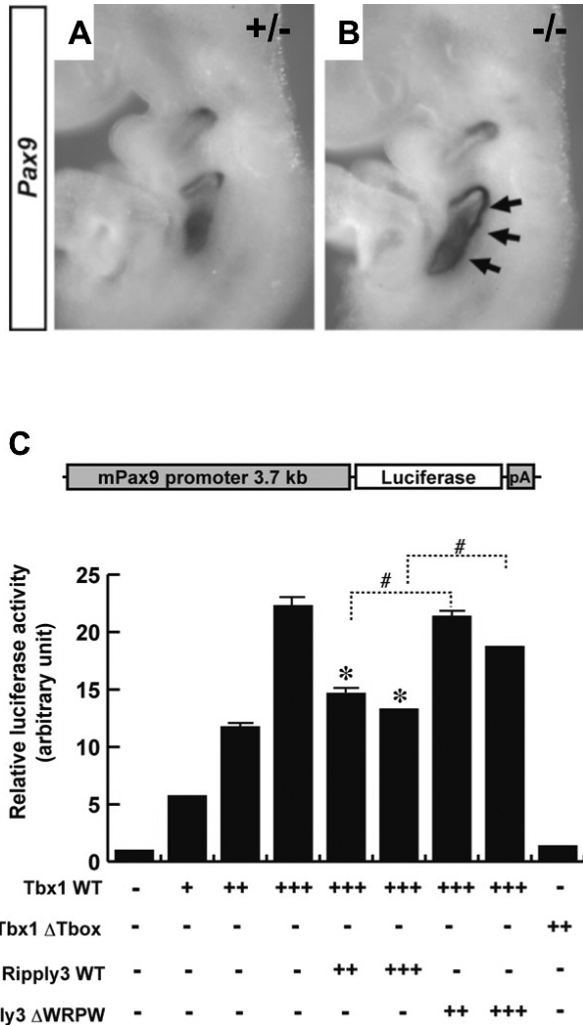


図5 転写調節因子としてのRipply3の機能 (A, B) 胎生9.5日のRipply3<sup>+/-</sup>と<sup>-/-</sup>マウス胚におけるPax9の発現の比較。矢印はPax9が上昇している箇所。(C) マウスPax9プロモーターに対するTbx1とRipply3の作用をLuciferaseアッセイにより解析。Ripply3の野生型(WT)はTbx1の活性を抑制するが、WRPWモチーフを欠くRipply3は抑制活性を失う。\*, # 有意差p<0.001。(文献41から転載)

とが示唆されている<sup>6)</sup>。このことは、神経堤細胞が胸腺分離やアポトーシスへ及ぼす影響を考える上で興味深い。

咽頭からの分離は遅延したり、あるいは分離しなかったりするが、両者の場合どちらも異所的な胸腺といった表現型として現れてくる。しかし、分離の遅れが単に移動の遅れにつながるとは限らない。何らかの特定な時期に適切なシグナルにさらされなかったことが原因となっているといった可能性も考えられるし、また構造的に移動できないという問題もあるのかもしれない。さらに、一旦形成された胸腺が移動せず、その後細胞死によって徐々に消滅するというケースもPax9の変異体で見られる<sup>13)</sup>。

神経堤由来の間葉系細胞が胸腺の移動を制御しているという報告はいくつか存在する。神経堤細胞自体が移動性の

性質をもつことから、それらが牽引しているとも考えられている。実際、神経堤細胞特異的なephrinB2の欠損により、胸腺の移動が阻害され、異所的に形成されることが最近わかった<sup>46)</sup>。ephrinB2を欠損させた神経堤細胞は、in vitroでの移動能も低下しているが、実際胸腺内に移入している神経堤細胞の数は正常である。神経堤細胞の胸腺移動に関わる機能はまだ不明な点が多いが、現在のところ、ephrinB2の欠損マウスのみが、上皮からの分離が正常であるにもかかわらず、胸腺の移動だけが異常になるという表現型を示す。ただし、咽頭からの分離異常なのか、移動の異常なのかを区別するには、注意深く胎生11.5-12.5日頃の胸腺の表現型を見ることが必要である。また、本来の場所に胸腺がない場合でも、咽頭領域に異所的に胸腺が存在する場合もあり、表現型の解釈には注意が必要である。一方、野生型マウスでも頸部に異所的に機能的で小さな胸腺が存在することが最近報告された<sup>47)</sup>。その発生学的な起源についても今後興味深い課題であろう。

### 11. おわりに

ここまで、咽頭弓の形成と胸腺の密接な関係について、またディジョージ症候群を例に先天性異常の発症原因のメカニズムを紹介してきた。咽頭弓は、胎児期に一時的に形成される構造であるにも関わらず、その些細な形成異常が後にさまざまな器官の形成に影響を及ぼしてしまう。胸腺はもちろんのこと心臓や内分泌器官の形成にもその影響は波及する。従って、胸腺形成を考えるうえでも咽頭弓の形成(分節)機構を理解することは非常に重要だと考えられる。また、ヒトの先天性疾患は原因が分かっていないものも多い。今後は、複雑な咽頭弓形成の全容をRipply3という遺伝子の機能を足がかりにさらに明らかにしていくことができるかもしれない。一方でTbx1以外にも咽頭弓形成に関わる遺伝子が明らかになってきている。それゆえ、病態の理解や致死率の軽減のためにも疫学的な調査も進めて行く必要があると考えられる。

### 文 献

- Boehm, T. (2008) *Curr. Opin. Immunol.*, 20(2), 178-184.
- Graham, A. (2001) *J. Anat.*, 199 (Pt 1-2), 133-141.
- Grevellec, A. & Tucker, A.S. (2010) *Semin. Cell Dev. Biol.*, 21(3), 325-332.
- Bajoghli, B., Guo, P., Aghaallaei, N., Hirano, M., Strohmeier, C., McCurley, N., Bockman, D.E., Schorpp, M., Cooper, M.D., & Boehm, T. (2011) *Nature*, 470(7332), 90-94.
- Le Douarin, N.M. & Jotereau, F.V. (1975) *J. Exp. Med.*, 142, 17-40.
- Gordon, J., Wilson, V.A., Blair, N.F., Sheridan, J., Farley, A., Wilson, L., Manley, N.R., & Blackburn, C.C. (2004) *Nat. Immunol.*, 5(5), 546-553.
- Rossi, S.W., Jenkinson, W.E., Anderson, G., & Jenkinson, E.J.



- (2006) *Nature*, 441(7096), 988–991.
- 8) Foster, K., Sheridan, J., Veiga-Fernandes, H., Roderick, K., Pachnis, V., Adams, R., Blackburn, C., Kioussis, D., & Coles, M. (2008) *J. Immunol.*, 180(5), 3183–3189.
  - 9) Veitch, E., Begbie, J., Schilling, T.F., Smith, M.M., & Graham, A. (1999) *Curr. Biol.*, 9(24), 1481–1484.
  - 10) Nehls, M., Pfeifer, D., Schorpp, M., Hedrich, H., & Boehm, T. (1994) *Nature*, 372(6501), 103–107.
  - 11) Manley, N.R. & Capecchi, M.R. (1995) *Development*, 121(7), 1989–2003.
  - 12) Peters, H., Neubuser, A., Kratochwil, K., & Balling, R. (1998) *Genes Dev.*, 12(17), 2735–2747.
  - 13) Hetzer-Egger, C., Schorpp, M., Haas-Assenbaum, A., Balling, R., Peters, H., & Boehm, T. (2002) *Eur. J. Immunol.*, 32(4), 1175–1181.
  - 14) Xu, P.X., Zheng, W., Laclef, C., Maire, P., Maas, R.L., Peters, H., & Xu, X. (2002) *Development*, 129(13), 3033–3044.
  - 15) Zou, D., Silvius, D., Rodrigo-Blomqvist, S., Enerback, S., & Xu, P.X. (2006) *Dev. Biol.*, 298(2), 430–441.
  - 16) Jerome, L.A. & Papaioannou, V.E. (2001) *Nat. Genet.*, 27(3), 286–291.
  - 17) van Bueren, K.L., Papangeli, I., Rochais, F., Pearce, K., Roberts, C., Calmont, A., Szumska, D., Kelly, R.G., Bhattacharya, S., & Scambler, P.J. (2010) *Dev. Biol.*, 340(2), 369–380.
  - 18) Scambler, P.J. (2010) *Pediatr. Cardiol.*, 31(3), 378–390.
  - 19) Yagi, H., Furutani, Y., Hamada, H., Sasaki, T., Asakawa, S., Minoshima, S., Ichida, F., Joo, K., Kimura, M., Imamura, S., Kamatani, N., Momma, K., Takao, A., Nakazawa, M., Shimizu, N., & Matsuoka, R. (2003) *Lancet*, 362(9393), 1366–1373.
  - 20) Stoller, J.Z. & Epstein, J.A. (2005) *Hum. Mol. Genet.*, 14(7), 885–892.
  - 21) Zhang, L.F., Gui, Y.H., Zhong, T., Wang, Y.X., Qian, L.X., Dong, Y.X., Jiang, Q., Sun, S.N., & Song, H.Y. (2007) *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 45(4), 267–271.
  - 22) Lindsay, E.A., Vitelli, F., Su, H., Morishima, M., Huynh, T., Pramparo, T., Jurecic, V., Ogunrinu, G., Sutherland, H.F., Scambler, P.J. et al. (2001) *Nature*, 410(6824), 97–101.
  - 23) Piotrowski, T., Ahn, D.G., Schilling, T.F., Nair, S., Ruvinsky, I., Geisler, R., Rauch, G.J., Haffter, P., Zon, L.I., Zhou, Y., Foott, H., Dawid, I.B., & Ho, R.K. (2003) *Development*, 130(20), 5043–5052.
  - 24) Ataliotis, P., Ivins, S., Mohun, T.J., & Scambler, P.J. (2005) *Dev. Dyn.*, 232(4), 979–991.
  - 25) Zhang, Z., Huynh, T., & Baldini, A. (2006) *Development*, 133(18), 3587–3595.
  - 26) Zhang, Z., Cerrato, F., Xu, H., Vitelli, F., Morishima, M., Vincentz, J., Furuta, Y., Ma, L., Martin, J.F., Baldini, A., & Lindsay, E. (2005) *Development*, 132(23), 5307–5315.
  - 27) Arnold, J.S., Werling, U., Braunstein, E.M., Liao, J., Nowotshin, S., Edelmann, W., Hebert, J.M., & Morrow, B.E. (2006) *Development*, 133(5), 977–987.
  - 28) Xu, H., Cerrato, F., & Baldini, A. (2005) *Development*, 132(19), 4387–4395.
  - 29) Zhang, Z. & Baldini, A. (2008) *Hum. Mol. Genet.*, 17(1), 150–157.
  - 30) Merscher, S., Funke, B., Epstein, J.A., Heyer, J., Puech, A., Lu, M.M., Xavier, R.J., Demay, M.B., Russell, R.G., Factor, S., Toyooka, K., Jore, B.S., Lopez, M., Pandita, R.K., Lia, M., Carrion, D., Xu, H., Schorle, H., Kobler, J.B., Scambler, P., Wynshaw-Boris, A., Skoultschi, A.I., Morrow, B.E., & Kucherlapati, R. (2001) *Cell*, 104(4), 619–629.
  - 31) Vitelli, F., Huynh, T., & Baldini, A. (2009) *Genesis*, 47(3), 188–195.
  - 32) Ensenaer, R.E., Adeyinka, A., Flynn, H.C., Michels, V.V., Lindor, N.M., Dawson, D.B., Thorland, E.C., Lorentz, C.P., Goldstein, J.L., McDonald, M.T., Smith, W.E., Simon-Fayard, E., Alexander, A.A., Kulharya, A.S., Ketterling, R.P., Clark, R. D., & Jalal, S.M. (2003) *Am. J. Hum. Genet.*, 73(5), 1027–1040.
  - 33) Carelle-Calmels, N., Saugier-veber, P., Girard-Lemaire, F., Rudolf, G., Doray, B., Guerin, E., Kuhn, P., Arrive, M., Gilch, C., Schmitt, E. Fehrenbach, S., Schnebelen, A., Frebourg, T., & Flori, E. (2009) *N. Engl. J. Med.*, 360(12), 1211–1216.
  - 34) Tan, T.Y., Gordon, C.T., Amor, D.J., & Farlie, P.G. (2010) *Clin. Genet.*, 78(3), 201–218.
  - 35) Kawamura, A., Koshida, S., Hijikata, H., Ohbayashi, A., Kondoh, H., & Takada, S. (2005) *Dev. Cell*, 9(6), 735–744.
  - 36) Kawamura, A., Koshida, S., & Takada, S. (2008) *Mol. Cell Biol.*, 28(10), 3236–3244.
  - 37) Morimoto, M., Kiso, M., Sasaki, N., & Saga, Y. (2006) *Dev. Biol.*, 300(2), 687–698.
  - 38) Chan, T., Kondow, A., Hosoya, A., Hitachi, K., Yukita, A., Okabayashi, K., Nakamura, H., Ozawa, H., Kiyonari, H., Michiue, T., Ito, Y., Asashima, M. (2007) *FEBS Lett.*, 581(14), 2691–2696.
  - 39) Kondow, A., Hitachi, K., Ikegame, T., & Asashima, M. (2006) *Int. J. Dev. Biol.*, 50(5), 473–479.
  - 40) Takahashi, J., Ohbayashi, A., Oginuma, M., Saito, D., Mochizuki, A., Saga, Y., & Takada, S. (2010) *Dev. Biol.*, 342(2), 134–145.
  - 41) Okubo, T., Kawamura, A., Takahashi, J., Yagi, H., Morishima, M., Matsuoka, R., & Takada, S. (2011) *Development*, 138(2), 339–348.
  - 42) Griffith, A.V., Cardenas, K., Carter, C., Gordon, J., Iberg, A., Engleka, K., Epstein, J.A., Manley, N.R., & Richie, E.R. (2009) *Dev. Biol.*, 327(1), 216–227.
  - 43) Moore-Scott, B.A. & Manley, N.R. (2005) *Dev. Biol.*, 278(2), 323–335.
  - 44) Kameda, Y., Ito, M., Nishimaki, T., & Gotoh, N. (2009) *Dev. Dyn.*, 238(3), 503–513.
  - 45) Chen, L., Zhao, P., Wells, L., Amemiya, C.T., Condie, B.G., & Manley, N.R. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 107(23), 10555–10560.
  - 46) Foster, K.E., Gordon, J., Cardenas, K., Veiga-Fernandes, H., Makinen, T., Grigorieva, E., Wilkinson, D.G., Blackburn, C.C., Richie, E., Manley, N.R., Adams, R.H., Kioussis, D., & Coles, M.C. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 107(30), 13414–13419.
  - 47) Terszowski, G., Muller, S.M., Bleul, C.C., Blum, C., Schirmbeck, R., Reimann, J., Pasquier, L.D., Amagai, T., Boehm, T., & Rodewald, H.R. (2006) *Science*, 312(5771), 284–287.