



ショウジョウバエにおける左右非対称性形成の遺伝学的解析

1. はじめに

左右相称動物の多くは、外見上は左右対称であるが、その内臓器官は左右非対称な形態をとる。左右非対称性の形成についての研究は、脊椎動物で特に進んでおり、多くの知見が得られている。たとえばマウスにおいては、結節（ノード）に存在する単繊毛が時計回りに回転することにより、胚体外液の左方向への流れ（ノード流）ができる¹⁾。ノード流モデルでは、これが左右軸形成の最初のステップであると考えられている。ノード流によって形成された左右極性は、*nodal*, *lefty*, *Pitx2* などの遺伝子の左右非対称な発現を誘導し、これによって内臓器官の左右非対称な形態がつくられると考えられている。また、*Nodal* や *Lefty* などの TGF- β ファミリータンパク質の左右非対称性形成への関与は、ゼブラフィッシュ、ニワトリ、アフリカツメガエルにおいても報告されており、左右軸の形成機構が、脊椎動物間でよく保存されていると考えられている²⁾。

一方、無脊椎動物における左右軸の形成機構は、ほとんど理解されていない。線虫やモノアラガイなどの旧口動物では、卵割初期から左右非対称性が観察されることから、ノード流モデルとは異なる機構で左右性が形成されていると推測される。筆者らは、旧口動物における左右非対称性の形成機構を明らかにするために、ショウジョウバエの左右性に異常を示す突然変異体を探索・同定した。本稿では、筆者らが同定した二つの突然変異体を紹介し、これらの解析から明らかになった知見について概説する。

2. 左右非対称性を反転させる *Myo 31 DF* 突然変異

ショウジョウバエは、成虫脳、消化管、精巣、雄性外生殖器において、ステレオタイプな左右非対称性を示すこと

が報告されている。筆者らは、これらの中でも、左右非対称な形態を最初にとる胚消化管に着目した。ショウジョウバエ胚の消化管は、大きく分けて、前腸、中腸、後腸の三つの領域から構成され、それぞれが、ステレオタイプな左右非対称性を示す（図 1A, C）³⁾。胚消化管の左右非対称性を異常にする突然変異体を網羅的に探索したところ、およそ 80% の頻度で、中腸と後腸の左右非対称性が逆転する *Myosin 31 DF* (*Myo 31 DF*) 突然変異体を同定した（図 1B, D）⁴⁾。また、統計学的な解析を行ったところ、*Myo 31 DF* 突然変異体において見られる中腸と後腸の左右非対称性の異常は、ランダム化ではなく、左右性の反転であることがわかった。つまり、ショウジョウバエの左右非対称性の初期状態は逆位であり、野生型では、*Myo 31 DF* 遺伝子が初期状態の逆位を逆転させていると考えられる。*Myo 31 DF* 突然変異体胚は、成虫まで生存可能であり、生殖も可能である。成虫期における *Myo 31 DF* 突然変異体の内臓器官を調べたところ、消化管や精巣の左右性や、雄性外生殖器の回転方向が反転していることが明らかになった^{4,5)}。また、興味深いことに、RNA 干渉法を用いた実験から、胚の時期における左右非対称性は、蛹の時期に再構築されることが示唆された⁴⁾。

3. ミオシン I ファミリータンパク質とアクチン細胞骨格による左右非対称性の形成機構

Myo 31 DF は、アクチン細胞骨格上をプラス端方向に移動するモータータンパク質をコードしている。アクチン細胞骨格の左右非対称性の形成への関与を検証するために、*moesin* のアクチン結合ドメインと GFP の融合タンパク質 (*moesin-GFP*) を後腸上皮細胞で強制発現させた。その結果、野生型胚と *Myo 31 DF* 突然変異体胚における *moesin-GFP* の発現は、ともに、中腸と後腸の左右非対称性をランダム化することが明らかになった⁴⁾。このことから、*Myo 31 DF* による左右非対称性の形成は、アクチン細胞骨格に依存していることが示唆された。

ショウジョウバエには、ミオシン I ファミリーに属するモータータンパク質として、*Myo 31 DF* 以外にも、*Myosin 61 F* (*Myo 61 F*) と *Myo 95 E* が存在する。このうち、*Myo 31 DF* と高い相同性を持ち、後腸で発現していることが報告されている *Myosin 61 F* の左右非対称性の形成への関与を調べた。*Myo 61 F* を後腸上皮細胞で強制発現させたところ、ほぼ全ての個体で、中腸と後腸の左右性の反転が観察された⁴⁾。一方、*Myo 31 DF* を強制発現させても、中腸と後腸の左右性は正常なままである。これらの結果か

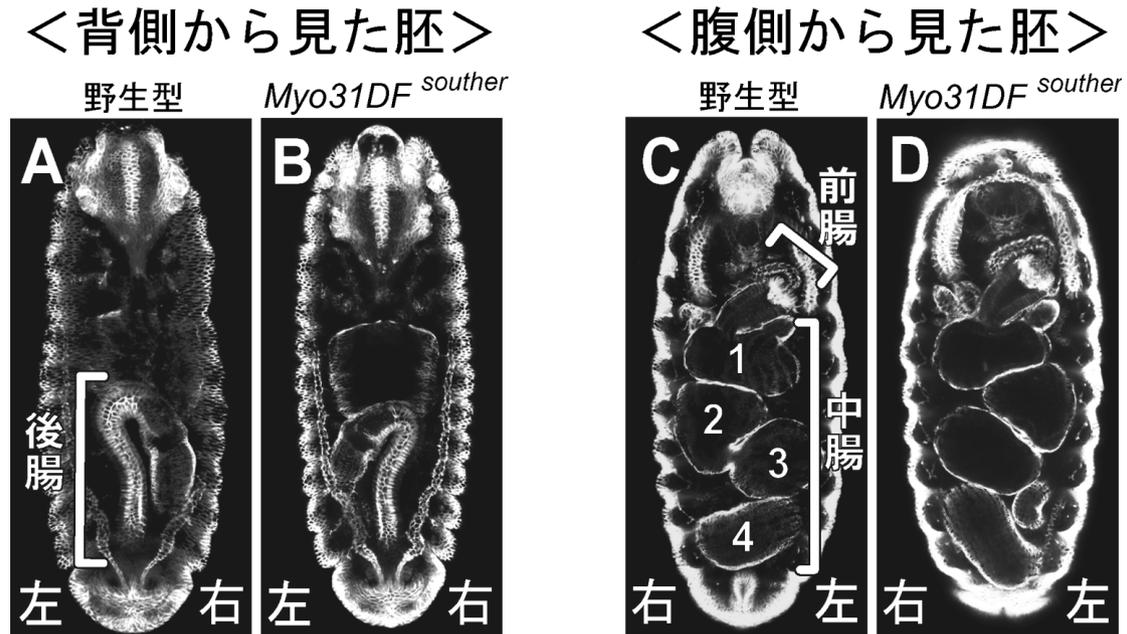


図1 野生型胚と *Myo31DF* 突然変異胚における消化管の左右非対称性 (A, B) 野生型胚 (A) と *Myo31DF* 突然変異ホモ接合体胚 (B) を背側から観察したときの後腸。 (C, D) 野生型胚 (C) と *Myo31DF* 突然変異ホモ接合体胚 (D) を腹側から観察したときの前腸と中腸。 *Myo31DF* 突然変異ホモ接合体胚においては、中腸と後腸の左右性が反転している。一方、前腸に関しては、左右性は正常である。

ら、*Myo31DF* と *Myo61F* は、左右非対称性を形成するうえで拮抗的に機能していると推測された。

筆者らは、ショウジョウバエの左右非対称性の形成機構に関して、以下のような二つのモデルを提唱している (図2)。一つは、*Myo31DF* と *Myo61F* が、アクチン細胞骨格に左右方向の極性を与えるというモデルである (図2A)。もう一つは、さらに上流のメカニズムによって形成されたアクチン細胞骨格の左右極性にしたがって、*Myo31DF* と *Myo61F* が、それぞれ反対の機能をもつ左右性決定因子を運んでいるというモデルである (図2B)。いずれの場合においても、*Myo31DF* と *Myo61F* によって形成された上皮細胞の左右極性は、後腸上皮細胞が再編成される際の細胞移動に左右の偏りを与え、左右非対称な形態が獲得されると考えている。

4. ショウジョウバエ胚消化管の左右非対称性の形成と正中線構造

脊椎動物の左右非対称性の形成において、正中線構造は重要な役割をはたしていることが知られている。たとえばマウスの場合、左右軸形成の最初のステップだと考えられているノード流は、正中線上に存在する結節で起こる¹⁾。

また、将来、神経底板になる構造も正中線上に存在し、その領域で発現する *Lefty-1* が、左側特異的に発現している *Nodal* が右側へ拡散するのを防ぐバリアとして働いていると考えられている⁶⁾。興味深いことに、マウスの神経底板と機能的に類似している構造が、ショウジョウバエにも存在している。ショウジョウバエの正中線上には、*midline* 細胞とよばれる細胞が2細胞幅で存在し、その分化は *single-minded (sim)* 遺伝子の機能に依存している。*sim* は、basic helix-loop-helix ドメインと、タンパク質間相互作用に関わる二つの PAS ドメイン (*Period clock*, *Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator*, *Single-minded* の頭文字から名付けられた、これらに共通する約 100 アミノ酸残基のドメイン) をもつ転写因子をコードしている⁷⁾。*sim* 突然変異胚において、消化管の左右非対称性を観察したところ、前腸、中腸前方部、中腸後方部、後腸の四つの領域で、それぞれ独立に左右非対称性の異常が観察された (前腸 15.0%、中腸前方部 24.7%、中腸後方部 20.2%、後腸 25.7%)⁸⁾。つまり、*Myo31DF* 突然変異体の場合とは異なり、左右非対称性を示す消化管の全ての領域で左右非対称性が異常になった。このことは、ショウジョウバエの左右非対称性の形成においても、脊椎動物の場合と同様に、正

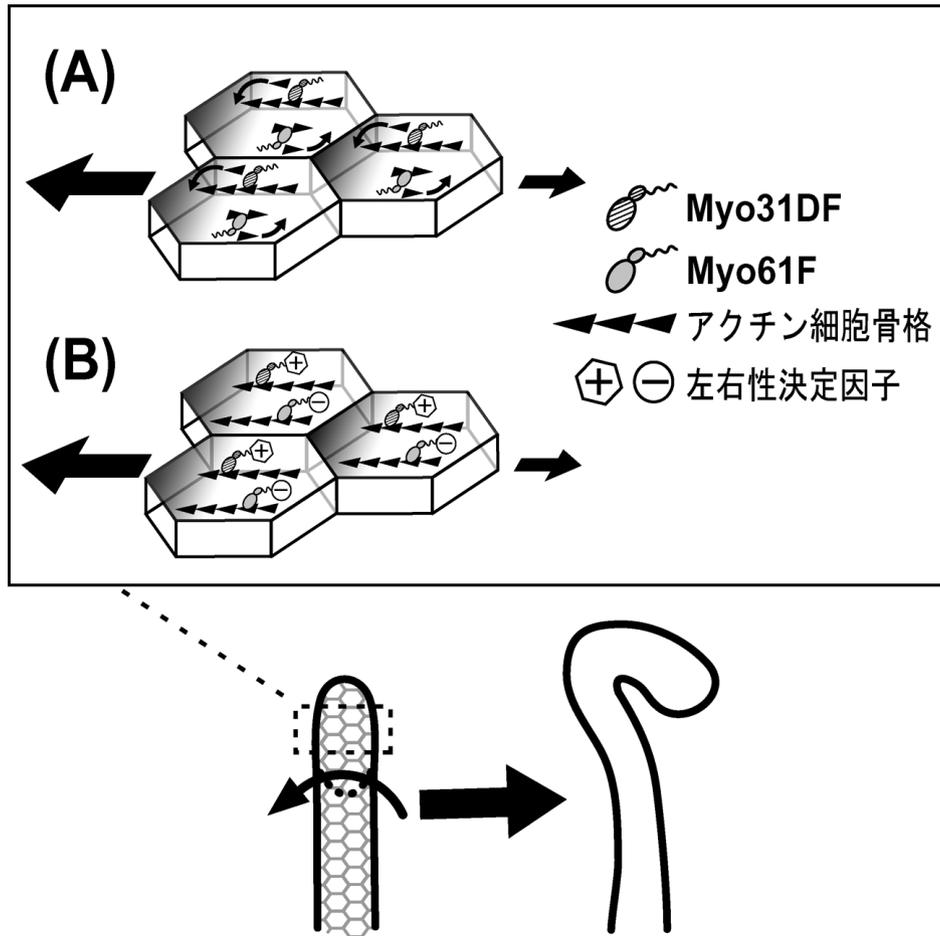


図2 ミオシンIファミリータンパク質とアクチン細胞骨格による左右非対称性を形成する二つのモデル

(A) このモデルでは、Myo31DFとMyo61Fによって、左右方向にそれぞれ逆の極性をもつアクチン細胞骨格が形成される。(B) このモデルでは、他の機構によってあらかじめ形成された、左右極性をもつアクチン細胞骨格上を、Myo31DFとMyo61Fが反対の活性をもつ左右性決定因子を積荷として輸送している。野生型においては、Myo31DFの方がMyo61Fよりも相対的に強い活性をもっているが、Myo31DF突然変異体やMyo61Fの強制発現では、Myo61Fの活性が相対的に強くなり、左右非対称性が反転すると考えられる。

中線構造が重要な役割をはたしていることを示唆している。しかしながら、ショウジョウバエにおいては、*nodal* や *lefty* の相同遺伝子は存在しないと考えられている⁹⁾。また、左右非対称性に発現する遺伝子は、現在までのところ、ショウジョウバエにおいては一つも報告されていない。これらのことから、脊椎動物とショウジョウバエの正中線構造は、左右非対称性の形成において重要な機能をもっているが、そこで機能している機構は異なると考えている。

5. おわりに

動物にみられる左右非対称性は、左右差がランダムである左右反対称性 (antisymmetry) と、左右差がどちらかに偏っている指向的左右非対称性 (directional asymmetry) の二通りに大別することができる。系統発生的な解析により、指向的左右非対称性は、左右対称な状態から直接進化する場合と、左右反対称性に左右極性の情報が加わることで進化する場合があることが示唆されている¹⁰⁾。また、系統学的な解析は、これらの指向的左右非対称性の進化が、

頻繁に起こるものであることを示している。このことから、筆者らは、生物の左右非対称性は、いくつかの異なる機構によって形成される可能性が高いと考えている。

動物界における左右非対称性の形成機構の多様性に加えて、普遍性の高い左右非対称性の形成機構が存在している可能性もある。たとえば、線形動物に属する線虫においては、卵割初期の極性形成にアクチン細胞骨格の再編が重要な役割を果たしている。6細胞期における細胞の配置に左右非対称性が観察され、顕微操作により細胞の配置を逆転させると、以降の卵割は鏡像になり、左右性が逆転した個体が発生する¹¹⁾。また、軟体動物に属するモノアラガイでは、2細胞期の紡錘体の傾きに左右非対称性が観察されることが知られている¹²⁾。この紡錘体の左右非対称な傾きは、アクチン細胞骨格に依存して誘発されていることが示されている¹³⁾。したがって、本稿で紹介したモータータンパク質であるミオシンIとアクチン細胞骨格による左右非対称性の形成機構は、線虫やモノアラガイなどの旧口動物における左右非対称性の形成にも関わっている可能性がある。これは、ノード流に依存した脊椎動物の左右非対称性の形成機構とは異なっていると考えられる。

筆者らは、Myo31DFとMyo61Fが拮抗した機能をもっていると考えているが、この拮抗作用が起こる分子レベルの機構に関してはいまだ不明なままである。今後、これらミオシンIの機能的な差を生み出している要因を明らかにすることで、旧口動物における左右非対称性の形成機構を理解することができるのではないかと考えている。

- Hirokawa, N., Tanaka, Y., Okada, Y., & Takeda, S. (2006) *Cell*, 125, 33–45.
- Mercola, M. & Levin, M. (2001) *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 17, 779–805.
- Hayashi, T. & Murakami, R. (2001) *Dev. Growth Differ.*, 43, 239–246.
- Hozumi, S., Maeda, R., Taniguchi, K., Kanai, M., Shirakabe, S., Sasamura, T., Spéder, P., Noselli, S., Aigaki, T., Murakami, R., & Matsuno, K. (2006) *Nature*, 440, 798–802.
- Spéder, P., Ádám, G., & Noselli, S. (2006) *Nature*, 440, 803–807.
- Meno, C., Shimono, A., Saijoh, Y., Yashiro, K., Mochida, K., Ohishi, S., Noji, S., Kondoh, H., & Hamada, H. (1998) *Cell*, 94, 287–297.
- Nambu, J.R., Lewis, J.O., Wharton, K.A., Jr., & Crews, S.T. (1991) *Cell*, 67, 1157–1167.
- Maeda, R., Hozumi, S., Taniguchi, K., Sasamura, T., Murakami, R., & Matsuno, K. (2007) *Mech. Dev.*, 124, 204–217.
- Boorman, C.J. & Shimeld, S.M. (2002) *Bioessays*, 24, 1004–1011.
- Palmer, A.R. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 14279–

14286.

- Wood, W.B. (1991) *Nature*, 349, 536–538.
- Crampton, H. (1894) *Ann. NY Acad. Sci.*, 8, 167–170.
- Shibasaki, Y., Shimizu, M., & Kuroda, R. (2004) *Curr. Biol.*, 14, 1462–1467.

前田 礼男, 穂積 俊矢, 谷口 喜一郎,
奥村 高志, 松野 健治
(東京理科大学基礎工学部生物工学科)

A genetic analysis of left-right asymmetry in *Drosophila melanogaster*

Reo Maeda, Shunya Hozumi, Kiichiro Taniguchi, Takashi Okumura and Kenji Matsuno (Department of Biological Science and Technology, Tokyo University of Science, 2641 Yamazaki, Noda, Chiba 278–8510, Japan)

脳形成における DCX ファミリーの機能

大脳皮質は厳密に制御された神経細胞の増殖、移動、成熟過程により形成される。脳室帯において神経幹細胞である放射状グリア (radial glia) や transient amplifying cell より分裂し誕生した神経芽細胞は、その発生時期により、決められた位置へと移動する。大脳皮質主要構成神経細胞である錐体細胞などは放射状グリアの放射状突起にそって放射方向へ移動することによって皮質層に到達する (radial migration)。この際、分裂時期のより遅い神経細胞は脳表層側に順に位置し、inside-out の配列パターンをとる。一方、GABA (γ -aminobutyric acid) 陽性神経細胞は大脳基底核原基の脳室帯で誕生し、接線方向への移動により大脳皮質へ到達する (tangential migration)。定位置にたどり着いた神経芽細胞は軸索や樹状突起を形成し標的細胞とシナプスを形成することにより正しいネットワークが構築される。本稿では doublecortin (DCX) およびその類縁分子の脳形態形成における様々な機能について最近の知見を概説する。

1. DCX と神経細胞移動

DCX は重度の精神遅滞および難治性てんかんを伴う X 染色体連鎖性滑脳症やダブルコルテックス・皮質下帯状ヘテロトピアの原因遺伝子産物として同定された。男性患者では大脳皮質形成過程における神経細胞移動異常により、