

発生・分化，神経系を制御するシグナル伝達ネットワーク

松本邦弘

(名古屋大学大学院理学研究科)

多細胞生物の発生・分化は，様々な外界のシグナル分子によって時間空間的に制御されている。これらの細胞外シグナルは細胞膜受容体によって認識された後，細胞内シグナル伝達経路を経て核内に到達し，細胞応答を引き起こす(図1)。発生・分化を規定するシグナル分子によるシグナル伝達ネットワークの解明は，脊椎動物における形態形成・器官形成の成立機構を明らかにする上で重要な研究テーマである。近年の多細胞生物における個体構築の分子機構に関する研究から，形態形成・器官形成の過程には，

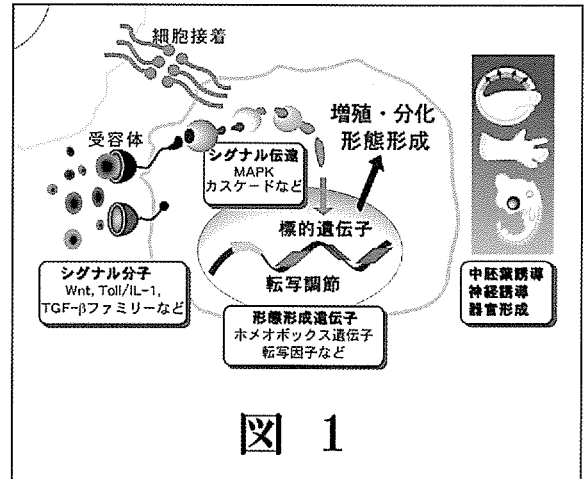


図 1

は，線虫，ショウジョウバエから高等脊椎動物に至るまで，種を越えて共通なシグナル分子による統一的な機構が存在することが明らかになってきた。従って，線虫やショウジョウバエをモデル動物とした発生・分化を規定するシグナル分子によるシグナル伝達ネットワークの解明は，脊椎動物における形態形成・器官形成の制御機構解明に大きく寄与することが期待される。さらに，線虫とショウジョウバエでは，全ゲノム配列が決定されたことから，このゲノム情報を基盤としてシグナル伝達機構を分子遺伝学的に解析することが可能となった。一方，シグナル伝達研究は，増殖因子受容体のシグナル伝達経路でERK型MAPキナーゼ (MAPK) カスケードの存在を明らかにし，さらにERK型とは異なるJNK型，p38型MAPKカスケードが，高等脊椎動物において発生，分化，アポトーシス等を制御していることが明かとなり，MAPKカスケードに関する研究はシグナル伝達研究の中心的な地位を占めるようになった。脊椎動物における形態形成・器官形成の成立機構を明らかにする上で重要な研究課題である。一方，シグナル伝達研究は，増殖因子受容体のシグナル伝達経路でERK型MAPキナーゼ (MAPK) カスケードの存在を明らかにし，さらにERK型とは異なるJNK型，p38型MAPKカスケードが，高等脊椎動物において発生，分化，アポトーシス等を制御していることが明かとなり，MAPKカスケードに関する研究はシグナル伝達研究の中心的な地位を占めるようになった。本シンポジウムでは，MAPKカスケードを中心に，線虫をモデル動物とした発生・分化及び神経系を制御するシグナル伝達メカニズムについて，以下の3つの項目について議論する。

(1) TAK1-NLKカスケードとWntシグナル伝達経路とクロストーク

哺乳類のMAPKカスケードを制御する新規シグナル伝達因子TAK1 (MAP3K) は，Xenopusや哺乳類の培養細胞での解析から，発生・分化の制御において重要な役割を担っている

ことが予想される。そこで、線虫をモデル動物として個体レベルにおけるTAK1シグナル伝達経路の機能解析を行った。その結果、TAK1はMAPK様因子NLKとカスケードを構成し、胚発生における内胚葉誘導に関与することが明らかになった(図2)。線虫の内胚葉誘導は、4細胞期のP2細胞からのシグナルとEMS細胞の前後極不均等分裂により決定される。すなわち、EMS細胞が分裂すると前側のMS細胞は中胚葉系に、後側のE細胞はP2細胞からのシグナルにより内胚葉系へと分化する。この内胚葉誘導は

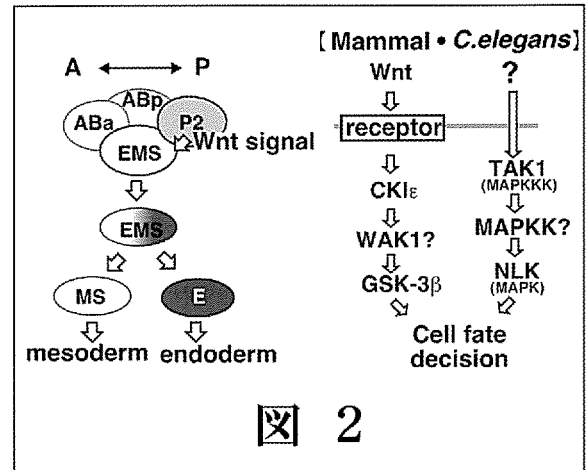


図 2

Wntシグナル伝達経路により制御されていることが知られていたが、TAK1-NLKカスケードがWntシグナル伝達経路とクロストークすることにより、初期胚発生時の細胞運命決定を制御していることが明らかとなった。さらに、動物細胞においても、TAK1-NLKカスケードがWntシグナル伝達経路とクロストークすることが確認された。従って、線虫と動物細胞において、TAK1を介した新規MAPKカスケードが、Wntシグナル伝達経路と関連しながら発生・分化を制御していると結論される。

(2) p38MAPKカスケードによる神経細胞の左右非対称的運命決定の制御

線虫におけるp38型MAPKカスケードの機能解明を行った。その結果、線虫のp38 MAPKカスケードは、発生過程における神経細胞の左右非対称的運命決定を制御することが明らかになった(図3)。線虫の神経細胞のうち化学物質を受容する左右2つのAWC嗅覚神経では、7回膜貫通型受容体が左右どちらか一方の神経でのみ非対称的に発現する。この左右非対称性は、発生過程において2つのAWC神経細胞の軸索の接触によって活性化されるシグナル伝達経路によって制御されている。このシグナル伝達経路が、ASK1 (MAPKKK) -SEK1 (MAPKK) -p38 MAPKカスケードにより制御されることが明らかになった。さらに、このカスケードは、Caチャンネルを介したCalmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) により活性化される。さらに、高等脊椎動物においても、Caチャンネル-CaMKII-p38 MAPK系というシグナル伝達経路の存在が明らかになった。果たして、この経路が動物細胞において非対称性制御に関与するのに興味深い。

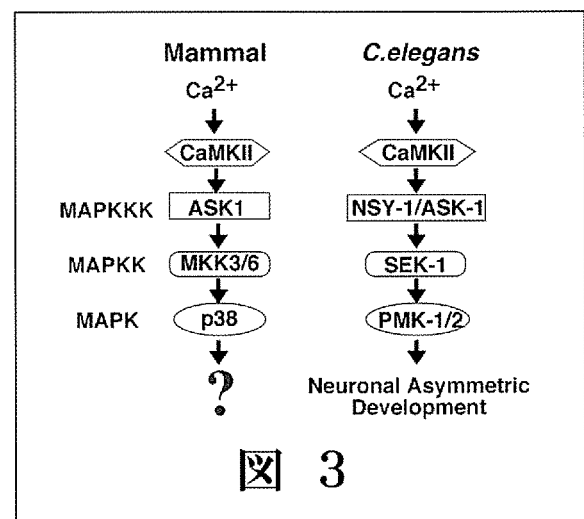
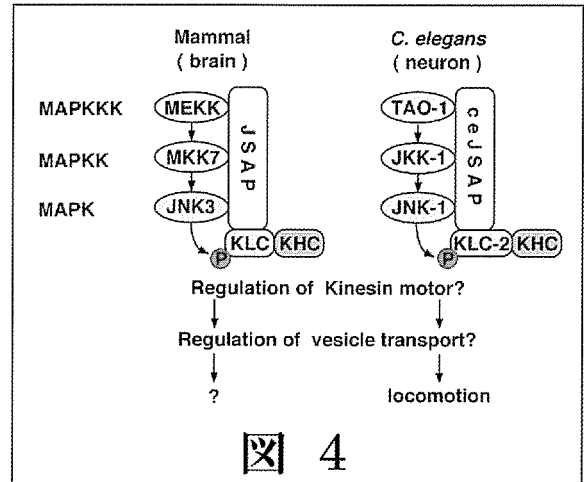


図 3

(3) JNK MAPKカスケードによる神経系の制御

線虫におけるJNK MAPKカスケードは、D型GABA産生神経を介した運動調節において機能

している。動物細胞においてJNKカスケードのscaffold因子として働くと考えられているJSAPのhomolog, CeJSAP, を分離した。CeJSAPとJNK-1の欠損変異体が、共にD型神経細胞におけるプレシナプスマーカーの局在異常を示すことが明らかになった。この局在異常は、シナプスにおけるvesicle transportの異常を反映していることから、線虫のJNKカスケードは、神経細胞でのvesicle transportの制御に関与していると考えられる。事実、線虫のJNKカスケードで作用する因子として、



kinesin light chainが同定されたズ (図4)。果たして、高等脊椎動物においても、JNK MAPKカスケードがキネシンを介したvesicle transportに関与するのであろうか？

本研究では、線虫をモデル動物として、発生過程における細胞運命、細胞極性、非対称性を制御するMAPKシグナル伝達経路の解明を行った。線虫においても、MAPKカスケードが発生・分化・形態形成の制御に関与することが明らかとなり、高等脊椎動物におけるMAPKカスケードによる発生・分化の制御機構を解明する上で良いモデル系になるものと考えられる。今後、線虫、ショウジョウバエ、高等脊椎動物でのMAPKカスケードによる細胞運命、細胞極性、非対称性の制御において、果たしてinputとoutputに共通性があるのか、また形態形成や神経系における細胞極性、非対称性制御において普遍的な機構が存在するのかという問題に、ヒントを出せるであろう。これらの研究成果は、高等脊椎動物の発生過程における形態形成・器官形成プログラムの解明に大きく貢献するものと期待される。

主要文献リスト

- (1) Yamaguchi, K., Shirakabe, K., Shibuya, H., Irie, K., Oishi, I., Ueno, N., Taniguchi, T., Nishida, E. & Matsumoto, K. Identification of a member of the MAPKKK family a potential mediator of TGF- β signal transduction. *Science*, **270**: 2008-2011 (1995).
- (2) Shibuya, H., Yamaguchi, K., Shirakabe, K., Tonegawa, A., Gotoh, Y., Ueno, N., Irie, K., Nishida, E. & Matsumoto, K. TAB1: an activator of the TAK1 MAPKKK in TGF- β signal transduction. *Science*, **272**: 1179-1182 (1996).
- (3) Ichijo, H., Nishida, E., Irie, K., Dijke, P., Saitoh, M., Moriguchi, T., Takagi, M., Matsumoto, K., Miyazono, K. & Gotoh, Y. Induction of apoptosis by ASK1, a mammalian MAPKKK that activates SAPK/JNK and p38 signaling pathways. *Science*, **275**: 90-94 (1997).
- (4) Kurokawa, M., Mitani, K., Irie, K., Matsuyama, T., Takahashi, T., Chiba, S., Yazaki, Y., Matsumoto, K. & Hirai, H. The oncoprotein Evi-1 represses TGF- β signalling by inhibiting Smad3. *Nature*, **394**: 92-96 (1998).
- (5) Ninomiya-Tsuji, J., Kishimoto, K., Hiyama, A., Inoue, J., Cao, Z. & Matsumoto, K. The kinase TAK1 can activate the NIK-I κ B as well as the MAP kinase cascade in the IL-1 signalling pathway. *Nature*, **398**: 252-256 (1999).
- (6) Meneghini, M., Ishitani, T., Carter, C., Hisamoto, N., Ninomiya-Tsuji, J., Thorpe, J., Matsumoto, K. & Bowerman, B. MAP kinase and Wnt pathways converge to downregulate an HMG-domain repressor in

- C. elegans*. *Nature*, **399**: 793-797 (1999).
- (7) Ishitani, T., Ninomiya-Tsuji, J., Nagai, S., Nishita, M., Menegini, M., Barker, N., Waterman, M., Bowerman, B., Clevers, H., Shibuya, H. & Matsumoto, K. The TAK1- NLK-MAPK related pathway antagonizes signalling between β -catenin and the transcription factor TCF. *Nature*, **399**: 798-802 (1999).
 - (8) Adachi-Yamada, T., Fujimura-Kamada, K., Nishida, Y. & Matsumoto, K. Distortion of proximodistal information causes JNK-dependent apoptosis in *Drosophila* wing. *Nature*, **400**: 166-169 (1999).
 - (9) Nishiwaki, K., Hisamoto, N. & Matsumoto, K. A metalloprotease disintegrin that control cell migration in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, **288**: 2205-2208 (2000).
 - (10) Sagasti, A., Hisamoto, N., Hyodo, J., Tanaka-Hino, M., Matsumoto, K. & Bargmann, C. I. The CaMKII UNC43 activates the MAPKKK NSY-1 to excute a lateral signaling decision required for asymmetric olfactory neuron fates. *Cell*, **105**: 221-232 (2001).
 - (11) Tadauchi, T., Matsumoto, K., Herskowitz, I. & Irie, K. Post-transcriptional regulation through the HO 3'-UTR by Mpt5, a yeast homolog of Pumilio and FBF. *EMBO J.*, **20**: 552-561 (2001).
 - (12) Suzuki, N., Buechner, M., Nishiwaki, K., Hall, D. H., Nakanishi, H., Takai, Y., Hisamoto, N. & Matsumoto, K. A putative exchange factor for Rho/Rac is required for development of the excretory cell in *C. elegans*. *EMBO Rep.*, In press (2001).
 - (13) Wakayama, T., Kondo, T., Ando, S., Matsumoto, K. & Sugimoto, K. Piel, a protein interacting with Mec1, controls cell growth and checkpoint responses in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.*, **21**: 755-764 (2001).
 - (14) Takaesu, G., Ninomiya-Tsuji, J., Kishida, S., Li, X., Stark, G. R. & Matsumoto, K. Interleukin-1 (IL-1) receptor-associated kinase leads to activation of TAK1 by inducing TAB2 translocation in the IL-1 signaling pathway. *Mol. Cell. Biol.*, **21**: 2475-2484 (2001).
 - (15) Takaesu, G., Kishida, S., Hiyama, A., Yamaguchi, K., Shibuya, S., Irie, I., Ninomiya-Tsuji, J. & Matsumoto, K. TAB2, a novel adaptor protein, mediates activation of TAK1 MAPKKK by linking TAK1 to TRAF6 in the IL-1 signal transduction pathway. *Mol. Cell*, **5**: 649-658 (2000).
 - (16) Naiki, T., Shimomura, T., Kondo, T., Matsumoto, K. & Sugimoto, K. Rfc5, in cooperation with Rad24, controls DNA damage checkpoints throughout the cell cycle. *Mol. Cell. Biol.*, **20**: 5888-5896 (2000).
 - (17) Kishimoto, K., Matsumoto, K. & Ninomiya-Tsuji, J. TAK1 mitogen-activated protein kinase kinase is activated by autophosphorylation within its activation loop. *J. Biol. Chem.*, **275**: 7359-7364 (2000).
 - (18) Suzanne, M., Irie, K., Glise, B., Agnes, F., Mori, E., Matsumoto, K. & Noselli, S. The *Drosophila* p38 MAPK pathway is required during oogenesis for asymmetric development. *Genes & Dev.*, **13**: 1464-1474 (1999).
 - (19) Yamaguchi, K., Nagai, S., Ninomiya-Tsuji, J., Nishita, M., Tamai, K., Irie, K., Ueno, N., Nishida, E., Shibuya, H. & Matsumoto, K. XIAP, a cellular member of the inhibitor of apoptosis protein family, links the receptors to TAB1-TAK1 in the BMP signaling pathway. *EMBO J.*, **18**: 179-187 (1999).
 - (20) Kawasaki M., Hisamoto N., Iino Y., Yamamoto M., Ninomiya-Tsuji, J. & Matsumoto, K. A *Caenorhabditis elegans* JNK signal transduction pathway regulates coordinated movement via type-D GABAergic motor neurons. *EMBO J.*, **18**: 3604-3615 (1999).
 - (21) Kondo, T., Matsumoto, K. & Sugimoto, K. Role of a complex containing Rad17, Mec3, and Ddc1 in the DNA damage checkpoint pathway. *Mol. Cell. Biol.*, **19**: 1136-1143 (1999).
 - (22) Adachi-Yamada, T., Nakamura, M., Irie, K., Tomoyasu, Y., Sano, Y., Mori, E., Goto, S., Ueno, N., Nishida, Y. & Matsumoto, K. p38 mitogen-activated protein kinase can be involved in transforming growth factor β superfamily signal transduction in *Drosophila* wing morphogenesis. *Mol. Cell. Biol.*, **19**: 2322-2329 (1999).
 - (23) Inagaki, M., Schmelzle, T., Yamaguchi, K., Irie, K., Hall, M. N. & Matsumoto, K. PDK1 homologs activate the Pkc1-MAP kinase pathway. *Mol. Cell. Biol.*, **19**: 8344-8352 (1999).