Wnt and BMP signaling cooperate with Hox in the control of Six2 expression in limb tendon precursor

（Wnt 及び BMP シグナリングは Hox と協調して四肢腱前駆体における Six2 発現を制御する）

白石 （山本） 洋一

要約

四肢の腱は、筋と骨格を連結して力の伝達を行う組織である。腱の形状と数は四肢の遠位部と近位部では異なっており、自脚（手部 / 足部）には軛脚（前腕部 / 下腿部）よりも多くの腱が存在する（図1）。このような遠近軸に沿った腱パターンの差異は四肢の運動に必須であるが、遠位部においてより多くの腱形成を実現する機構に関する知見は無い。そこで白石は領域特異的な腱パターン形成を担う分子機構の解明を目的とした。

白石は まず、四肢腱前駆体及び腱に特異的な分子マーカーを同定した。転写因子 *Six2* は四肢腱において発現し、その発現は腱前駆体と考えられる肢芽間充織細胞より引き続いていた。そこで白石は *Six2* をマーカーとし、四肢腱パターン形成の領域特異性を制御する機構の解明を行った。

発現解析の結果、*Six2* の発現は常に 四肢の軟骨と外胚葉の間隙において認められ、外胚葉性頂堤近傍や指間部では認められなかった。軟骨では分泌性シグナル因子 BMP のアンタゴニストである Noggin が、また外胚葉性頂堤や指間部では BMP が発現している。肢芽において Noggin または BMP の局所投与を行ったところ、*Six2* 発現の亢進と抑制を各々引き起こした。また外胚葉では異なる分泌性シグナル因子 Wnt が発

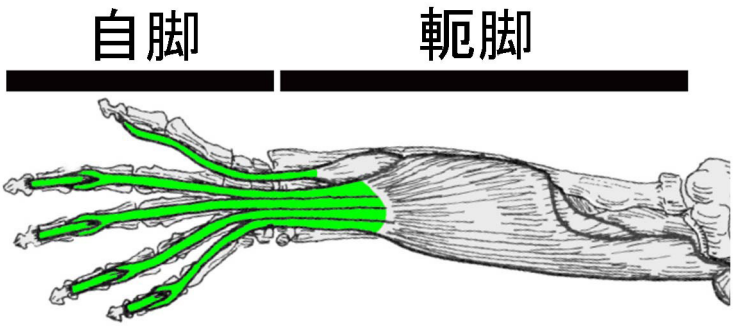

図1.
自脚には軛脚よりも多くの腱（緑色）が存在する。

現しているが、外胚葉の除去や Wnt アンタゴニストの投与は *Six2* 発現を抑制した。さらにレトロウイルスベクターによる *Wnt* の異所的強制発現は異所的な *Six2* 発現を誘導した。これらのことから、*Six2* の発現領域の決定には軟骨由来の Noggin と外胚葉由来の Wnt シグナルが重要であると考えられる。

Wnt 強制発現による *Six2* 発現誘導は自脚特異的に認められたことから、白石は自脚特異的な *Six2* 発現制御機構の存在を想定し、これを担う因子の候補として自脚特異的 *Hox* 遺伝子を挙げた。発現解析の結果、自脚特異的 *Hox* 遺伝子である *Hoxa-13* の発現は腱前駆体の *Six2* 発現と重複し、両者の近位境界は重複していた。また自脚特異的 *Hox* 遺伝子の異所的強制発現は、ニワトリ肢芽軛脚間充織において異所的な *Six2* 発現を誘導した。　さらに、自脚で発現する 4 つの *Hox* 遺伝子を欠く *Hoxa-13*$^{-/-}$;*HoxD*$^{del/del}$ マウス胚では、自脚背側の *Six2* 発現が欠失した。これらのことから自脚特異的 *Hox* 遺伝子は、*Six2* 発現に必要であると言える。

加えて、前述の Wnt 単独強制発現と異なり、*Hoxa-13/Wnt* 二重強制発現は軛脚において異所的 *Six2* 発現を誘導したことから、Hox と Wnt の協調的作用が示された。また さらに、*Wnt* 単独強制発現自脚及び *Hoxa-13/Wnt* 二重強制発現軛脚における異所的 *Six2* 発現誘導が軟骨非依存的であったことから、自脚特異的 *Hox* 遺伝子は BMP シグナリングの抑制を介して *Six2* 発現を正に制御することが示唆された。

以上の結果より白石は、自脚特異的 *Hox* 遺伝子が軟骨及び外胚葉由来の因子と協調して、自脚腱前駆体における *Six2* 発現を調節していることを明らかにした（図2）。本研究により、自脚に固有の腱パターン形成の分子機構の一端が示された。

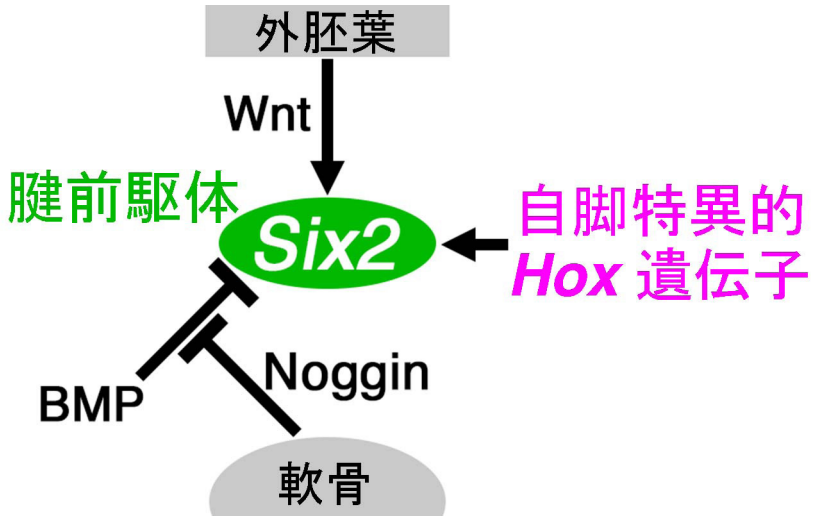

図2.
自脚特異的 *Hox* 遺伝子が軟骨及び外胚葉由来の因子と協調して、自脚腱前駆体の *Six2* 発現を調節している。図中の矢印は正の、またＴ字は負の制御を示す。