

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

| | | | | | |
|--|---|----------|----------------------|------------------|---------------|
| 研究テーマ (和文) AB | カエルの四肢再生から挑む、立体的器官の再生能力回復へのチャレンジ | | | | |
| 研究テーマ (欧文) AZ | A challenge for enhancement of regenerative capacity in three-dimensional organs by studying limb regeneration of frogs | | | | |
| 研究氏 代 表 名 者 | カカナ CC | 姓)ヨコヤマ | 名)ヒトシ | 研究期間 B | 2017 ~ 2019 年 |
| | 漢字 CB | 横山 | 仁 | 報告年度 YR | 2019 年 |
| | ローマ字 CZ | Yokoyama | Hitoshi | 研究機関名 | 弘前大学 |
| 研究代表者 CD 所属機関・職名 | 弘前大学 農学生命科学部・准教授 | | | | |
| <p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>両生類のモデル生物であるアフリカツメガエルは幼生の時期には四肢原基(肢芽)を切断しても完全な四肢を再生する。しかし変態にともなって四肢の再生能力は低下し、変態後の成体は1本の棒状軟骨しか再生できない。この原因としては、四肢の前後軸形成を制御する shh 遺伝子が成体の再生芽では発現しないため、再生における前後軸形成ができなくなっていることが考えられる。四肢における shh の発現は遠位エンハンサーである MFCS1 によって調節される。研究代表者らはこれまでに MFCS1 エンハンサーの活性を可視化できる遺伝子組換え(Tg)個体の系統(MFCS1-GFP)を樹立し、成体の再生ではエンハンサー活性が見られないことを明らかにした。</p> <p>本研究は低下した MFCS1 の活性を回復させることで shh の発現を回復させ、最終的には成体で低下した四肢再生の能力を回復させることを目標とした。まず MFCS1 を活性化させる方法の手がかりを得るために、shh の発現が異所的に誘導されて四肢が前後に重複する移植実験(肢芽の先端部を 180° 回転させる)を MFCS1-GFP の Tg 個体で行った。回転によって MFCS1 の活性が異所的に誘導される例が観察され、活性化が見られた例では四肢が重複し、活性化が見られない例では重複が起きなかった。したがって MFCS1 の活性化と四肢の前後軸形成との対応が両生類において更に裏付けられた。また四肢の発生、幼生における再生、成体における再生の3つの間で MFCS1 の活性化のパターンと関連する遺伝子発現を観察したところ、四肢の発生と幼生における再生との間で MFCS1 の活性化のパターンに差異があり、発生と再生との間で shh の転写調節の機構に差異があることが分かった。さらに MFCS1 の活性の調節への関与が予想される遺伝子のうち、あるものは幼生と成体での発現に明確な差があることを明らかにした。</p> | | | | | |
| キーワード FA | 四肢 | 再生 | shh (sonic hedgehog) | MFCS1 (ZRS、Rr29) | |

(以下は記入しないでください。)

| | | | | | | | | | | | | | |
|------------|--|--|--|--|-----------|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 助成財団コード TA | | | | | 研究課題番号 AA | | | | | | | | |
| 研究機関番号 AC | | | | | シート番号 | | | | | | | | |

| 発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。） | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------|---|-------------------|--|---|---|---|--------------------|---|--|
| 雑誌 | 論文標題 ^{GB} | Skin regeneration of amphibians: A novel model for skin regeneration as adults | | | | | | | | |
| | 著者名 ^{GA} | Yokoyama et al. | 雑誌名 ^{GC} | Development Growth and Differentiation | | | | | | |
| | ページ ^{GF} | 316~325 | 発行年 ^{GE} | 2 | 0 | 1 | 8 | 巻号 ^{GD} | 60(6) | |
| 雑誌 | 論文標題 ^{GB} | Chromatin dynamics underlying the precise regeneration of a vertebrate limb - Epigenetic regulation and cellular memory | | | | | | | | |
| | 著者名 ^{GA} | Hayashi et al. | 雑誌名 ^{GC} | Seminars in Cell and Developmental Biology | | | | | | |
| | ページ ^{GF} | 16~25 | 発行年 ^{GE} | 2 | 0 | 2 | 0 | 巻号 ^{GD} | 97 | |
| 雑誌 | 論文標題 ^{GB} | Insights regarding skin regeneration in non-amniote vertebrates: Skin regeneration without scar formation and potential step-up to a higher level of regeneration | | | | | | | | |
| | 著者名 ^{GA} | Abe et al. | 雑誌名 ^{GC} | Seminars in Cell and Developmental Biology | | | | | | |
| | ページ ^{GF} | ~ | 発行年 ^{GE} | | | | | 巻号 ^{GD} | E-pub (DOI:10. 1016/j. semcdb. 2019. 11. 014) | |
| 図書 | 著者名 ^{HA} | | | | | | | | | |
| | 書名 ^{HC} | | | | | | | | | |
| | 出版者 ^{HB} | | 発行年 ^{HD} | | | | | 総ページ ^{HE} | | |
| 図書 | 著者名 ^{HA} | | | | | | | | | |
| | 書名 ^{HC} | | | | | | | | | |
| | 出版者 ^{HB} | | 発行年 ^{HD} | | | | | 総ページ ^{HE} | | |

欧文概要^{EZ}

In *Xenopus laevis*, a model organism of amphibian, a tadpole regenerates a complete limb if its limb primodium (limb bud) is amputated. A tadpole gradually loses its regenerative capacity as metamorphosis proceeds. A young adult frog after metamorphosis regenerates only a single cartilaginous spike when its limb is amputated. In tetrapods, the key gene, *shh* regulates the anterior-posterior (AP) axis formation of a developing limb. Since *shh* is not expressed in a regenerating blastema of a *Xenopus* young adult, the lack of *shh* expression is supposed to cause the failure of the AP axis formation in a regenerating blastema, resulting in a single spike regeneration. The expression of *shh* in a developing limb bud is regulated by a long-range enhancer, MFCS1. Yokoyama and colleagues has already established a transgenic *Xenopus* line that visualizes the activity of MFCS1 enhancer (MFCS1-GFP). MFCS1 activity was not found in the blastema of a young adult.

In this project, we aimed at recovery of *shh* expression in the blastema of a young adult *Xenopus* through re-activation of MFCS1 enhancer, leading to enhancement of regenerative capacity in young adult limb. To elucidate the activation mechanism of MFCS1, we rotated the tip of limb buds in MFCS1 Tg tadpoles at 180°—this rotation induces ectopic *shh* expression and results in limb duplication along the AP axis. When ectopic MFCS1 activity was induced after rotation, the limb duplicated. When ectopic MFCS1 activity was not induced after rotation, the limb did not duplicate. These results therefore further underlie the correlation between MFCS1 activity and the AP axis formation of a limb in an amphibian. Then, we found that the pattern of MFCS1 activity is somewhat different between developing limb bud and regenerating blastema in tadpoles. We also found that some gene, which is expected to regulate MFCS1 activity, is expressed in blastema of a tadpole, but not expressed in blastema of a young adult.