【解説】

ボディパターニングと器官形成におけるBMPの多元的な役割

変異マウスからその機能を探る

岸上哲士，三品裕司

骨形成因子(BMP)が骨や軟骨を誘導する活性は、今から30年以上も前に見いだされていた。しかし過去10年足らずの変異マウスの解析によって、生体内でBMPが骨の形成のみならず、中胚葉誘導から眼、手足、心臓などの器官形成といった、発生のあるゆる局面に関わっていることが明らかになった。生体内におけるBMPの多元的な働きに迫るための、組織特異的ノックアウト法やダブルノックアウトマウス法などの遺伝学的戦略と、BMPの機能について考察する。

1個の受精卵から、どのような遺伝情報をもとにして個体の形や各器官が形成されていくのだろうか？BMP (bone morphogenetic protein, 骨形成因子) は、骨や軟骨を誘導する活性因子として同定された。しかしこの10年足らずの研究から、BMPファミリーが骨の形成のみならず、個体の発生を通じてそのボディパターニングや器官形成においても重要な役割を果たすことが示されてきた。現在、個体発生の分子機構を明らかにする上で、BMPの働きを理解することはますます重要になってきている。本稿では、哺乳類におけるBMPの機能

について、変異マウスから得られた知見を紹介し、またBMPの機能解析のために用いられている遺伝学的な戦略について、筆者らが行なっている組織特異的ジーンターゲットティング法を含めて紹介する。

BMP 研究の歴史

BMPの歴史は、1965年にUristが、ラットの骨抽出液を筋組織や皮下に移植して骨形成が誘導されることを見いだしたことに始まる⁽¹⁾。その生理活性の発見から23年経った1988年に、ウシの骨抽出液から4つの異なるBMP (BMP 1, 2, 3, 4) が分離され、1次構造が報告された⁽²⁾。その1次構造から、BMP 1を除くBMP 2, 3, 4がTGF β (transforming growth factor β) スーパーファミリーに属することが明らかにされた (BMP 1はメタロプロテアーゼの一種であり、BMPファミリーには属さない)。その後多くの似た構造をもつタンパク質が次々と単離され、これまでに約20種類のBMPが報告されている⁽³⁾。現在BMPファミリーは、TGF β スーパーファミリーの中で最大のサブファミリーを形成するに至っている (図1)。

BMPs Function Multidimensionally during the Patterning and Organogenesis of the Mouse Embryo—What We Learned from BMP Knockout Mice
Satoshi KISHIGAMI, Yuji MISHINA, 米国国立環境衛生研究所

図 1 ■ BMP は TGF β ファミリーの中で最大のサブファミリーを形成する (文献3) より作成)

□で囲んだ BMP は、BMP 特異的な Smad シグナルを活性化する。太字は BMP/GDF ファミリーを示す。

AMH : anti-Müllerian hormone, CDMP : cartilage-derived morphogenetic protein, GDF : growth and differentiation factor, GDNF : glial cell-derived neurotrophic factor, MIS : Müllerian inhibiting substance, OP : osteogenic protein, Vg1 : Vegetal-1, Vgr : Vg-related.

BMP のシグナル伝達

BMP は他の TGF β スーパーファミリーのメンバーと同様に、二量体として細胞外へ分泌される分泌タンパク質であり、細胞膜上にある2つの異なるセリン/スレオニンキナーゼ型受容体を介して、そのシグナルが細胞内に伝えられる。それらは I 型受容体、II 型受容体と呼ばれ、ともに BMP のシグナル伝達に必須である。

TGF β スーパーファミリーをリガンドとする I 型受容体として、現在までに activin receptor-like kinase (ALK)1~7 の 7 種類が報告されている。これらのうち、ALK2(ActRI), ALK3(BMPRIA), ALK6(BMPRIb) の 3 種類が BMP の I 型受容体として働く。また、II 型受容体としては 5 種類が報告されており、これらのうち 3 種類(BMPRII, ActRIIA, ActRIIB)が BMP の II 型受容体として働く。ただし、BMP II 型受容体(BMPRII)は BMP にのみ結合するが、アクチビン IIA 型受容体(ActRIIA)とアクチビン IIB 型受容体(ActRIIB)は、BMP とアクチビンの両方に結合してシグナルを伝える

ことが知られている^(4,5)。細胞外に分泌された BMP が受容体に結合すると I 型と II 型の受容体が複合体を形成し、II 型受容体が I 型受容体の細胞内ドメインをリン酸化することにより I 型受容体を活性化する。活性化された I 型受容体は、BMP 特異的な Smad である Smad 1/Smad 5/Smad 8 をリン酸化する。細胞質内でリン酸化された各 Smad は、Smad 4 と結合した後に核に移行し、他の転写因子と協調して特異的な遺伝子の発現制御を行なう⁽⁴⁾。これらの BMP シグナル経路は、抑制的に働く Smad 6 と Smad 7 により負に制御されている(図 2)。また Smad 依存的なシグナル経路に加えて、MAP キナーゼ (mitogen activated protein kinase) 経路も BMP シグナルにより活性化されることが報告されている⁽⁹⁾。今後、個々の BMP の機能を知る上で、それぞれの BMP が伝えるシグナルの違いについてさらに詳細に解析する必要がある。

さらに BMP のシグナルは、細胞外でも BMP に直接結合するアンタゴニスト Noggin や Chordin により抑制的に制御されることが知られている⁽⁶⁾。このように、

図 2 ■ BMP の細胞内情報伝達

BMP シグナルは様々なレベルでそのシグナルが制御されている(図2)。

BMP の突然変異マウスとジーンターゲット

古くから知られている突然変異マウスの中から、その原因遺伝子として同定された *Bmp* 遺伝子がある。たとえば、短肢突然変異 (*brachypodism*) や短耳突然変異 (*short ear*) は、それぞれ *Gdf5* と *Bmp5* の変異であることが報告されている。表現型として、短肢突然変異マウスでは四肢の短縮や指骨の異常が、また短耳突然変異では耳介の低形成や胸骨の変形、剣状突起の分岐、第13肋骨対の欠損などの骨格異常がそれぞれ観察される。これらは、BMP が実際の生体内で骨の形成と発達に関わっていることを示す重要な例となった⁽⁷⁾。

一般に、突然変異マウスの遺伝子解析では、胎生致死を示す変異に関しては発見されにくい。また変異についても、その染色体上に他の遺伝子を含む大きな欠失があったり、あるいは点変異であるため、その遺伝子産物の活性が十分に明らかでない場合があり、原因遺伝子の解析に時間がかかることがある。1980 年代の後半に

表 1 ■ BMP および受容体遺伝子変異マウスの主な表現型

遺伝子名	表現型
リガンド	
<i>Bmp2</i>	羊膜・漿膜の形成異常, 心臓の発生異常
<i>Bmp4</i>	原腸形成の異常
<i>Bmp5</i>	耳介の低形成, 胸骨・肋骨の異常 (= <i>short ear</i>)
<i>Bmp6</i>	胸骨における骨化の遅延
<i>Bmp7</i>	眼・腎臓の低形成, 骨格の異常
<i>Bmp8a</i>	精子形成の異常
<i>Bmp8b</i>	精子形成の異常
<i>Gdf5</i>	四肢の短縮, 指骨の異常 (= <i>brachypodism</i>)
<i>Gdf7/Bmp12</i>	精囊形成不全, 水頭症(低頻度)
<i>Gdf1</i>	肺右側相同, 内臓逆位, 心奇形
<i>Gdf10</i>	特に異常を認めず
<i>Bmp3/osteogenin</i>	大腿骨における骨量の増加
<i>Gdf9</i>	卵胞形成の異常
<i>Gdf9b/Bmp15</i>	排卵数の減少
<i>Gdf8/Myostatin</i>	骨格筋の肥大
<i>Gdf11/Bmp11</i>	肋骨・脊椎の異常
I 型受容体	
<i>Bmpr1A/Alk3</i>	原腸形成の異常
<i>Bmpr1B/Alk6</i>	指骨の異常
<i>Actr1/Alk2</i>	原腸形成の異常
II 型受容体	
<i>Bmpr2</i>	原腸形成の異常
<i>Actr2A</i>	精巣・卵巣の異常, 下顎骨の低形成(低頻度)
<i>Actr2B</i>	肺右側相同, 心奇形, 肋骨・脊椎の異常

ES 細胞を用いたジーンターゲット法が確立されて以来⁽⁸⁾, 目的の遺伝子のみを正確に破壊したノックアウトマウスの作製が可能になった。そして1995 年以降, BMP やその受容体, さらに Smad などのシグナル伝達因子のノックアウトマウスが相次いで報告されてきた(表1)。

初期発生における BMP の働き

Bmp 遺伝子欠損マウスの作製以前から、その遺伝子発現様式やショウジョウバエおよびアフリカツメガエルなどの実験により、BMP の初期発生における働きが示唆されていた。まず1995 年に、BMP 4 のノックアウトマウスが報告されたが、その表現型は6~9 日目胚(ちょうど中胚葉が誘導されて心臓などの器官形成が始まる時期)で致死になり、様々な表現型を示した。最も重篤な胚では中胚葉の形成がまったく認められず、シリンダー状胚の段階で発生が止まり、また発生が進んだ場合でも体の後半を欠き、中胚葉の形成不全を示した⁽⁹⁾。さらに、BMP 2 のノックアウトマウスでも9 日目で致死となり、羊膜および漿膜の形成異常や心臓の形態異常が観察された。一方、BMP の I 型受容体である ALK 3 のノック

用語解説

ノックアウトマウス： 目的とする任意の遺伝子を破壊するノックアウトマウスの作製技術は、生殖系列に分化できるES細胞の樹立と、標的遺伝子の相同組換えという2つの技術からなり、1989年に最初のノックアウトマウスが報告された。昨年「アメリカのノーベル賞」といわれるラスカー賞を、この技術革新に貢献した、Evans, Capecchi, Smithesの3人の教授が受賞されたことは記憶に新しい⁽⁸⁾。

組織特異的ジーンターゲティング法： 遺伝子破壊による発生初期での胎生致死を回避して、発生を通じた遺伝子の多様な役割を知るために、特定の時期と組織でのみ遺伝子を破壊する方法。遺伝子破壊を行ないたい組織と時期に合った特異的なプロモーターを選び、それにより発現がコントロールされるCre遺伝子をもつマウス(通常トランスジェニックマウス)を用意する。このマウスを標的遺伝子内の2個所に*loxP*と呼ばれる配列を挿入したマウスと掛け合わせることで、組換え酵素Creが発現した細胞でのみ*loxP*で挟まれた部分がCreによってゲノムから切り出され、標的遺伝子が破壊される(図3)⁽¹⁶⁾。

アウトマウスは7日目に致死となり、中胚葉はまったく誘導されず、リガンドであるBMP2とBMP4のいずれのノックアウトマウスよりも、表現型としてはより重篤であった⁽¹⁰⁾。最近、BMPのII型受容体のノックアウトマウスが、やはり中胚葉をまったく誘導できず致死になり、ALK3と表現型が非常に似ていることが報告された⁽¹¹⁾。このように、BMPとその受容体のノックアウトマウスの研究から、哺乳類においてBMPシグナルが中胚葉誘導とその運命決定に大きく関わっていることが明らかにされた。今後、組織特異的ジーンターゲティング法などにより、さらに各発生段階におけるこれらの遺伝子の役割が解明されると期待される(後述)。

体節のパターニングとBMP

BMPのノックアウトマウスの中で、*Hox* 遺伝子(前後軸に沿ったパターン形成に関わる一群のホメオボックス遺伝子。マウスやヒトではAからDの4つのクラスターをもつ)の発現パターンに異常を示すものがある。このことは、BMPが骨の発生分化において、軟骨誘導や骨化により直接骨の形を決めるという従来の考え方に加えて、*Hox* 遺伝子を制御することによって、体節のアイデンティティを確立し骨の形を決定するという、新たなBMPの機能を示唆している⁽⁷⁾。

GDF(growth and differentiation factor)11のノッ

クアウトマウスは、口蓋や腎臓の異常を伴い生後24時間以内に死亡する。生まれてきたマウスは尾部が短いか欠損しており、胸腰部において肋骨や脊椎の数が増加していた。これら軸骨格の形態学的な観察から、肋骨や脊椎において前方へホメオティックな形質転換が起こっていることが認められた。さらに*Hox* 遺伝子の発現パターンを解析したところ、胸腰部における*Hoxc6*と*Hoxc8*の発現領域の後端がより後方に延び、これと対応して尾部における*Hoxc10*と*Hoxc11*の発現領域の前端が後退していた。このことは、尾部の体節の前端部が胸腰部化したことを意味している。さらに、GDF11のヘテロ欠損マウスが、野生型とホモ欠損マウスの中間的な表現型を示すことから、GDF11の作用は濃度依存的であることが示唆された(次項参照)。これらの結果と、GDF11が尾部において発現していることから、GDF11は尾部から濃度依存的に*Hox* 遺伝子の発現を制御し、胸腰部と尾部において体節のアイデンティティの確立に関わっていると考えられる⁽¹²⁾。この他にも、BMP7のノックアウトマウスでは後肢芽における*Hoxd13*の発現異常が、またActRIIBのノックアウトマウスでも、*Hoxc6*や*Hoxc8*を含む*Hox* 遺伝子の発現パターンの異常を伴う肋骨や脊椎数の増加がそれぞれ報告されている。

これまでにほぼ一通り報告されたBMPファミリーのノックアウトマウスの結果から(表1)、BMPの機能が中胚葉形成の運命決定に始まり、眼や腎臓などの臓器形成、生殖細胞の発生分化などに必須であることが明らかとなり、さらには体節のアイデンティティや体軸の左右非対称性の確立(GDF1)といった、個体全体のパターニングにも重要な役割を果たしていることが示された。しかし、これらのノックアウトマウスの結果が示す個々のBMPの機能は、発生全体におけるBMP機能の一部にすぎないことが、様々な遺伝学的手法により現在明らかにされつつある。

ヘテロ欠損マウスが教えてくれるBMPの機能

1つの細胞中には、同じ遺伝情報をもった染色体(相同染色体)が2本ずつ存在している。当然ながらこのことは、細胞内に個々の遺伝子が2コピー(細胞内の同じ遺伝子の数をコピー数という)あることを意味している。一般にノックアウトマウスを作製した場合、2コピーの片方の遺伝子を破壊したヘテロ欠損マウス(heterozygous mutant mouse)では表現型を示さないことが多い。これは、残されたもう片方の野生型遺伝子のみでその遺

伝子機能を十分果たせるためと考えられる。そのため、通常特に断りがない限り、ノックアウトマウスの表現型は、2コピーの遺伝子をとともに破壊したホモ欠損マウス (homozygous mutant mouse) を指している。ところが、遺伝子の中には1コピーだけでは機能的に不十分な場合があり、ヘテロ欠損マウスでも異常を示すことがある(このような現象を haploinsufficiency という)。前述のように、BMP4 のホモ欠損マウスは胎生早期に死亡するが、ヘテロ欠損マウスは頻度は10%程度と低いものの、嚢胞腎、頭蓋顔面の異常、小眼球症、多指症など様々な異常を示す⁽¹³⁾。この結果は、これらの器官の発達に BMP4 が重要な役割を果たしていることとともに、そのコピー数に依存した発現量が重要であることを示唆している。この他にも、BMP5 のヘテロ欠損マウスでは全体の骨格がわずかに小さくなることや、BMP2 のヘテロ欠損マウスではやはり低頻度ではあるが外脳症などの異常が観察されている (三品ら、未発表)。

このようにヘテロ欠損マウスで異常が現われる場合、ホモ欠損マウスほど重篤でないことから、その解析からは発生のより後期の遺伝子機能に関する重要な情報が得られることがある。

ダブルノックアウトマウスは BMP の機能重複を明らかにする

ある遺伝子のノックアウトマウスを作製した場合、類似遺伝子による機能重複などから、期待される表現型が得られないことはしばしば起こる。このような場合、表現型が現われないことが、生体内でこの遺伝子が機能していないことをそのまま意味するわけではない。そこで、機能重複を避けてその遺伝子の隠れた機能を明らかにする方法として、2つの異なる遺伝子を同時に欠損させた、ダブルノックアウトマウスの解析が行なわれる。それぞれの遺伝子が欠損したマウスを掛け合わせることで、2つ以上の遺伝子変異をもつ個体をつくって解析することは、遺伝子間の相互作用を明らかにするために使われる、基本的だが大変強力な遺伝学的手法である。

個々の BMP ノックアウトマウスが報告されるにつれて、BMP のダブルノックアウトマウスの研究も精力的に行なわれてきた。その結果、生体内における異なる BMP 間の機能重複が明らかにされつつある。たとえば、BMP6 のノックアウトマウスでは胸骨の骨形成がわずかに遅れるだけであり、また同じサブファミリーの BMP7 の欠損マウスでは異常が眼と腎臓などに限られ

ていた(表1)。ところが、BMP6 と BMP7 の両方を欠損したダブルノックアウトマウスは、心臓の中隔と弁の形成不全のため早期胎生致死となった。このように、生体内で BMP6 と BMP7 の機能が心臓の発生、特に心内膜床の発生分化において必須であり、互いにその機能が重複していることが、ダブルノックアウトマウス作製により初めて明らかにされた⁽¹⁴⁾。この他にも、BMP5 と BMP7 のダブルノックアウトマウスでは神経堤や心臓の発達異常、また ActRIIA と ActRIIB では中胚葉不全を示すなど、単独のノックアウトマウスではみられない重篤な表現型を示すことから、これら遺伝子間の発生における機能重複が示唆されている。このようなダブルノックアウトマウスの解析から、個体の発生過程において、時間的、空間的に機能が重複する BMP ファミリーの、互いの複雑な関係とそれらの機能が明らかにされつつある。

逆に、よく似た2つの遺伝子の作用の違いを明らかにする方法として、一方の遺伝子を他方の遺伝子と入れ換えるノックインという手法がある。BMP ではまだ例がないが、他の TGF β ファミリーであるアクチビン β A の遺伝子を潰して、その代わりにアクチビン β B の遺伝子(アミノ酸配列上63%の相同性がある)を導入したノックインマウスがすでに報告されている⁽¹⁵⁾。その結果、アクチビン β A のノックアウトでみられた、口蓋破裂を含む頭蓋顔面の形成不全を伴う新生児致死は起こらなくなったが、新たに生殖腺や外生殖器に異常が観察された。この結果から、以前には知られていなかったアクチビンの生殖腺における役割が明らかにされると同時に、これらの器官の発達にはアクチビン β A の特異的な機能が必要であることが示された。今後、個々の BMP の機能の違いを明らかにするために、BMP ノックインマウスの報告が期待される。

BMP ファミリーが互いに逆の作用をする例

前述のダブルノックアウトマウスの結果は、異なる BMP の機能がある時期に特定の組織で重複していることを示している。すでに述べたように、BMP は骨誘導活性をもつものとして発見された。しかし、最近報告された *Bmp3* 遺伝子のノックアウトマウスは形態学的な異常は示さなかったが、野生型に比べ骨幹端の骨密度が増加し、海綿骨量が2倍になるという表現型を示した⁽¹⁶⁾。このことから、BMP3 は生体内で骨量を減らす働き(骨誘導活性の逆)、すなわち負の制御因子として働いていると考えられる。実際、培養細胞を用いた実験か

ら、BMP3 シグナルが BMP2 による *Msx2* の発現を抑制するなど、BMP2 シグナルと拮抗関係にあることが示された。この結果は BMP ファミリーメンバーの機能が互いに重複するだけでなく、逆の作用をする場合もあることを示している。

余談ではあるが、BMP3 の機能については、骨抽出液から精製した BMP3 (osteogenin) は骨誘導活性を示すが、リコンビナント BMP3 (培養細胞で強制発現させた標品) はそのような活性をもたないという一見矛盾する結果から、長い間その機能について議論が分かれていた。今回のノックアウトマウスの結果により、BMP3 の機能について骨誘導活性を否定する側に軍配が上がったと言える。

胎生致死を超えて多元的な BMP の機能を明らかにする組織特異的な遺伝子破壊

前述のように、これまで BMP ファミリーとそれらの受容体のほぼすべての遺伝子について、ノックアウトマウスが報告された。しかし、ノックアウトマウスは、発生過程で最初にその遺伝子機能が不可欠であるという一局面を教えてくれるにすぎない。ある遺伝子が発生の初期に必須であるとする、その段階で致死となってしまう、発生のより後期や出生後の機能については不明のままである。BMP のように、発生を通じて時間的にも空間的にも複雑に機能している遺伝子の場合は、通常のノックアウトマウスを解析するだけではその機能の全貌を知ることはできない。このような問題を回避するために、DNA 組換え酵素 Cre とその認識配列である *loxP*

図 3 ■組織特異的ジーンターゲティング法

(A)：組換え酵素 Cre により、ゲノム上から *loxP* で挟まれた部分が切り出される。(B)：BMP 受容体遺伝子を組織特異的に破壊するためのマウスの掛け合わせ。灰色のマウスが組織特異的に遺伝子が破壊されたもの。

P-Cre：目的に合ったプロモーター P により Cre の発現が制御される，*Bmpr fx*：受容体の遺伝子内に 2 つの *loxP* が導入された対立遺伝子 (*fx*：flanked by *loxP* sites)，*Bmpr fx/fx* は 2 つの対立遺伝子とも *fx* であることを、また *Bmpr fx/+* は片方が野生型であることを示す。

図 4 ■ I 型 BMP 受容体の組織特異的なノックアウトの例

5 種類の組織特異的な Cre マウスと掛け合わせた結果を示す。Brn4: brain4, MHC: α -ミオシンヘビーチェーン, OC: オステオカルシン, P0: プロテインゼロ, MORE: Mox2-Cre

配列を用いた組織特異的ジーンターゲティング法が開発された(図 3)⁽¹⁷⁾。筆者らは *Alk3* 遺伝子に *loxP* 配列を導入したマウスを作製し⁽¹⁸⁾、このマウスと様々な Cre 発現マウスとを掛け合わせるにより、各組織で BMP 受容体が欠損したマウスを作製し、解析を行なっている。その一部を紹介する。

① Brn4(brain4)-Cre マウス* は、肢芽形成時に AER(外胚葉性頂堤)で Cre を発現する。このマウスを使って ALK3 を AER 特異的にノックアウトしたところ、四肢の腹側が背側として発生分化した(つまり手の表裏ともに手の甲になった)。分子マーカーを用いて解析した結果、BMP シグナルが肢芽形成時に *engrailed-1* の上流因子として四肢の腹側の発生に必須であることがわかった⁽¹⁹⁾。

② 心筋特異的に Cre を発現する MHC(α -ミオシンヘビーチェーン)-Cre マウスとの掛け合わせでは、胎性 11 日目の段階で心筋がアポトーシス(細胞死)を起こし、心内膜隆起から隔壁への形成に異常を示して胎生致死となった。また、心筋細胞での $TGF\beta 2$ の発現がほとんど消失していたことから、ALK3 を介する BMP シグナルは心筋細胞での $TGF\beta 2$ の発現の誘導を介して、心内膜隆起が正常に形態形成をしていく過程に必須であることが示された⁽²⁰⁾。

③ 分化した骨芽細胞でのみ Cre を発現する OC(オステオカルシン)-Cre マウスとの掛け合わせでは、致死は回避したが体重と骨量の減少がみられた(三品ら、未発

表)。

④ 神経堤細胞特異的に Cre を発現する P0(プロテインゼロ)-Cre マウスとの掛け合わせでは、末梢神経である交感神経節の形成不全や心臓神経堤細胞の異常など、神経堤細胞由来の様々な組織に異常がみられた(岸上ら、未発表)。

⑤ 中胚葉誘導時にエピブラスト(胚性外胚葉)でのみ Cre を発現する MORE(Mox2-Cre; Mesoderm/Mesenchyme homeobox 2-Cre)マウスとの掛け合わせでは、神経外胚葉の過剰形成が起こり、中胚葉のパターンにも異常がみられた(三浦ら、未発表)。

以上はほんの一例であるが、1つの受容体を介する BMP シグナルがいかに多様な働きをもっているかを窺い知るには十分であろう(図 4)。さらに現在、共同研究も含めて 30 種類以上の発現パターンが異なる Cre マウスとの掛け合わせを行なっているが、それぞれに興味深い表現型が得られている。このように BMP の組織特異的ノックアウトマウスは、それぞれの発生の局面における BMP シグナルの役割を明らかにしつつある。最近筆者らが行なっている Bmp 受容体に加えて、*Bmp4* 遺伝子に *loxP* 配列を導入したマウスも報告され⁽²¹⁾、近い将来、他の BMP や受容体遺伝子においても *loxP* 配列を導入したマウスが利用可能になっていくだろう。

BMP と疾患

これまでに、 $TGF\beta$ スーパーファミリーの因子やシグナル伝達機構の異常が様々な疾患の原因になっていることが数多く報告されている。BMP に関連して、長管骨

*一般に、特異的なプロモーターが由来している遺伝子名と Cre をハイフンで結んで表記する。この場合は、*Brn4* 遺伝子のプロモーターを用いて組織交換酵素 Cre を発現させることを示している。

の異常を示すある種の先天性軟骨異形成症 (hereditary chondrodysplasia) の原因として GDF5 の異常が、また近位手骨において多発性骨癒合症 (multiple synostosis) の原因として BMP のアンタゴニストである Noggin の異常が報告されている⁽²²⁾。一方、若年性ポリポシス症候群 (juvenile polyposis syndrome)⁽²³⁾ と家族性原発性肺高血圧症 (familial primary pulmonary hypertension) の原因遺伝子として *Alk3* と BMP II 型受容体 (*BmprII*) がそれぞれ注目されている⁽²²⁾。このように、*Bmp* 遺伝子の変異とヒトの疾患の関係が明らかになりつつある。今後、BMP の変異マウスがヒト疾患のモデル動物として、その発症のメカニズムや治療にますます重要な役割を果たすことが期待される。

*

以上のように、生体内における BMP の時間的、空間的に多面的な役割を明らかにするためには、様々な遺伝学的手法を用いることが不可欠である。現在、BMP の研究はノックアウトマウスを用いたものから、組織特異的ノックアウトマウスに移りつつある。今後、様々な Cre マウスが作製されるにつれて、BMP をノックアウトする発生時期や組織が自由に選べるようになっていくものと期待される。そして、各発生局面における BMP の機能がより詳細に明らかになっていくだろう。

最近、Cre とエストロゲン受容体 (ER) との融合タンパク質で、タモキシフェンにより Cre の DNA 組換え活性が誘導される Cre-ER^T が開発された⁽²⁴⁾。これを用いれば、個体にタモキシフェンを投与することにより、任意の時期に特定の組織でのみ、目的とする遺伝子をノックアウトすることができる。複雑かつ多様な BMP の機能を明らかにするために、このような新しい遺伝学的手法が BMP 研究に応用されていくことが期待される。

組織特異的ジーンターゲット法に加えて、キメラ解析も早期胎生致死を回避して、より後期の発生における遺伝子機能を調べる方法として用いられる。この方法を用いた BMP の機能解析も、筆者らの研究室を含めて現在精力的に行なわれている。また機会があれば紹介したい。

謝辞：本稿執筆の機会を与えてくださいました、共同研究者でもあります東北大学大学院農学研究科 西森克彦教授に深謝いたします。また、執筆時に貴重な意見をくださった三品研究室の三浦成人、北林あや両博士に感謝いたします。

文献

- 1) M.R. Urist : *Science*, **150**, 893 (1965).
- 2) J.M. Wozney, V. Rosen, A.J. Celeste, L.M. Mitsock, M.J. Whitters, R.W. Kriz, R.M. Hewick & E.A. Wang : *Science*, **242**, 1528 (1988).

- 3) J. Massagué : *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, **1**, 169 (2000).
- 4) K. Miyazono, K. Kusanagi & H. Inoue : *J. Cell Physiol.*, **187**, 265 (2001).
- 5) J. Massagué : *Annu. Rev. Biochem.*, **67**, 753 (1998).
- 6) J. Massagué & Y.G. Chen : *Genes Dev.*, **14**, 627 (2000).
- 7) 三品裕司, 中島和久 : *細胞工学*, **17**, 384 (1998).
- 8) J.L. Goldstein : *Nature Med.*, **7**, 1079 (2001).
- 9) G. Winnier, M. Blessing, P.A. Labosky & B.L. Hogan : *Genes Dev.*, **9**, 2105 (1995).
- 10) Y. Mishina, A. Suzuki, N. Ueno & R.R. Behringer : *Genes Dev.*, **9**, 3027 (1995).
- 11) H. Beppu, M. Kawabata, T. Hamamoto, A. Chytil, O. Minowa, T. Noda & K. Miyazono : *Dev. Biol.*, **221**, 249 (2000).
- 12) A. C. McPherron, A. M. Lawler & S. J. Lee : *Nature Genet.*, **22**, 260 (1999).
- 13) N.R. Dunn, G.E. Winnier, L.K. Hargett, J.J. Schrick, A. B. Fogo & B.L. Hogan : *Dev. Biol.*, **188**, 235 (1997).
- 14) R.Y. Kim, E.J. Robertson & M.J. Soloway : *Dev. Biol.*, **235**, 449 (2001).
- 15) C.W. Brown, D.E. Houston-Hawkins, T.K. Woodruff & M.M. Matzuk : *Nature Genet.*, **25**, 453 (2000).
- 16) A. Daluiski, T. Engstrand, M.E. Bahamonde, L.W. Gamer, E. Agius, S.L. Stevenson, K. Cox, V. Rosen & K. M. Lyons : *Nature Genet.*, **27**, 84 (2001).
- 17) A. Nagy : *Genesis*, **26**, 99 (2000).
- 18) Y. Mishina, M.C. Hanks, S. Miura, M.D. Tallquist & R. Behringer : *Genesis*, **32**, 69 (2002).
- 19) K. Ahn, Y. Mishina, M.C. Hanks, R.R. Behringer & E.B. Crenshaw : *Development*, **128**, 4449 (2001).
- 20) V. Gassan, T. Van de Putte, Y. Mishina, M.C. Hanks, A. Zwijsen, D. Huylebroeck, R.R. Behringer & M.D. Schneider : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 2878 (2002).
- 21) H. Kulesa & B.L. Hogan : *Genesis*, **32**, 66 (2002).
- 22) J. Massagué, S.W. Blain & R.S. Lo : *Cell*, **13**, 295 (2000).
- 23) X.P. Zhou, K. Woodford-Richens, R. Lehtonen, K. Kurose, M. Aldred, H. Hampel, V. Launonen, S. Virta, R. Pilarski, R. Salovaara *et al.* : *Am. J. Hum. Genet.*, **69**, 704 (2001).
- 24) R. Feil, J. Brocard, B. Mascres, M. LeMeur, D. Metzger & P. Chambon : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 10887 (1996).