The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	神経胚回転によるマボヤ幼生の左右非対称性の決定
Author(s)	西出, 和彦
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24731
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【49】

氏　　名	西　出　和　彦（にし　で　かず　ひこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理学）
学　位　記　番　号	第　２５２１１　号
学位授与年月日	平成24年３月22日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 理学研究科生物科学専攻
学　位　論　文　名	**神経胚回転によるマボヤ幼生の左右非対称性の決定**
論文審査委員	（主査） 教　授　西田　宏記 （副査） 招へい教授　橋本　主税　　招へい教授　小田　広樹

論文内容の要旨

受精卵というたった一つの細胞が分裂を繰り返す初期発生過程において、動物の初期胚は前後軸・背腹軸が決定され、これらの２つの軸性が決まると同時に３つめの体軸である左右軸も決まる。しかし、多くの動物の体は一定の左右非対称性を示すことが知られている。本研究では、この左右軸上における非対称性の確立メカニズムを明らかにすることを目的としている。

私たちヒトを含む脊椎動物では、心臓・胃・肝臓などの内臓器官が体内で左右非対称な位置に配置され、また、それらの器官自体も左右非対称な形態を示している。これらの左右非対称な特徴の決定機構の解明は、発生学の重要な課題となっている。この左右非対称性に関する分子生物学的な研究は、1995年にニワトリで左右非対称に発現する遺伝子 *Sonic hedgehog* が見つかったことによって急速に進展した。その後、マウスやアフリカツメガエルでも左右非対称に発現する遺伝子が見つかり、さらに、ゼブラフィッシュ・メダカ・ウニ・ショウジョウバエ・センチュウ・モノアラガイなどが研究対象になり、新口動物のみならず旧口動物にまで研究が広がっている。

脊椎動物では、ニワトリ胚やマウス胚において左右非対称に発現する *nodal*・*lefty*・*Pitx2* などの遺伝子が明らかにされ、これらの遺伝子は他の脊椎動物でも見つかっている。さらに、左右の対称性を破る最初の現象としてマウス胚で観察された nodal flow が、ニワトリでは未確認であるが、ウサギ・アフリカツメガエル・ゼブラフィッシュなどでも確認さている。さらにアフリカツメガエルやニワトリでは、H^+/K^+-ATPase の阻害により左右非対称形成に影響が出るという結果が報告され、これらの動物では、より早い発生段階で左右非対称性が確立している可能性も示されている。

本研究の研究対象であるマボヤは、脊椎動物に最も近縁な分類群である脊索動物尾索動物亜門に属しており、その分類学上の位置は脊椎動物における左右非対称性の確立機構との比較においても興味深い。私はまず、マボヤの初期胚に対してホヤでも体の左側で発現することが知られている nodal に対する受容体の阻害剤処理を行い、*nodal* 発現よりも前の段階から阻害剤処理を行った場合に、幼生の尾の巻き方や脳胞の位置における左右非対称な形態に影響がでることを観察した。これらの結果はマボヤにおいても nodal は左右非対称な形態形成に関与していることを示唆している。

また、神経胚の回転とそれによって胚の左側が下向きになって卵膜と接触することが、*nodal* の左側特異的発現を引き起こすという、左右非対称な遺伝子発現の新しいメカニズムを発見した。受精後 15 時間（*nodal* 遺伝子発現が開始する２時間前）になると、神経胚が胚の後方から見て反時計回りに前後軸に沿って回転する。この回転は常に胚の左側が下向きになると止まる。神経胚回転の時期に表皮細胞のほぼ中央からそれぞれ１本の繊毛が走査型電子顕微鏡によって観察され、繊毛の運動が神経胚回転の原動力（driving force）となる可能性が示された。神経胚回転の停止メカニズムについては、胚の左側が下向きになると、神経胚の neural fold の盛り上がりが物理的障害となり、さらなる回転が妨げられると考えられる。また、neural fold から尾部にかけての背側には繊毛が存在しないことも、神経胚回転の停止に関与している可能性もある。遠心力を用いて胚の右側を卵膜に接触させ続けると *nodal* は正常とは逆に胚の右側で発現し、尾の巻き方や脳胞の位置についての左右非対称性は逆転する。スライドガラスとカバーガラスで胚をはさみ、胚の左右両側を卵膜に接触させると *nodal* は左右両側に発現し、左右非対称性は乱れる。これらの結果は、表皮細胞と卵膜との接触が *nodal* 発現を引き起こすことそして神経胚の回転・停止が nodal 発現を左側表皮細胞に限定していることを示唆している。卵膜を除去して発生させると *nodal* は発現しない。卵膜を除去して胚の左右両側をガラスで押さえつけても *nodal* は発現しない。また、*nodal* 発現にとって卵膜を外から覆っている濾胞細胞は必要ない。これらのことは卵膜からの化学的なシグナル（機械的なシグナルではなく）が、*nodal* 発現を引き起こす可能性を示唆している。さらに、神経胚回転は他のホヤでも起こることを確認した。

本研究では、神経胚回転がマボヤ幼生の左右非対称な形態形成につながることを *nodal* 遺伝子発現の観察を通して明らかにした。その過程は次のように考えられる。まず、神経胚回転・停止により、胚の左側側面が下向きになり卵膜と接触する。次に、卵膜からの化学的なシグナルによって胚の左側側面（卵膜と接触した部分）に *nodal* が発現する。その後 nodal シグナリングを経て幼生の尾が左側に巻いたり、脳胞が右側に位置するという左右非対称な形態形成につながる。*nodal* を胚の右側に発現させると左右非対称性が逆転する。これらのことから神経胚回転によって左右非対称性が決定されると結論づけた。そして、その神経胚回転の driving force として繊毛運動の可能性を指摘した。今後、この繊毛が動き、確かに胚を回転させる力を発生しているのかどうか見極めていきたい。

論文審査の結果の要旨

動物の初期発生過程においては、胚の前後軸・背腹軸が決定されると同時に３つめの体軸である左右軸も決まる。この左右軸については多くの動物で一定の左右非対称性を示すことが知られている。申請者はこの左右軸における非対称性の確立メカニズムを明らかにすることを目的として本研究を行った。

脊椎動物では心臓・胃・肝臓などの内臓器官が体内で左右非対称に位置し、それらの器官自体も左右非対称な形態を示す。ニワトリ胚やマウス胚において左右非対称に発現する遺伝子（*nodal*・*lefty*・*Pitx2*）が明らかにされている。さらに左右の対称性を破る最初の現象としてノード内での左向きの液体の流れ（nodal flow）がマウス胚で観察され、ウサギ・アフリカツメガエル・ゼブラフィッシュなどでも確認さている。

申請者が研究材料として用いたマボヤは、脊椎動物に最も近縁な分類群である脊索動物門尾索動物亜門に属しており、その分類学上の位置は脊椎動物における左右非対称性の確立機構との比較において興味深い。申請者はまず、マボヤの初期胚でも体の左側で発現することが知られている nodal に対する受容体の阻害剤処理を行い、*nodal* 発現よりも前の段階から阻害剤処理を行った場合に、幼生の尾の巻き方や脳胞の位置における左右非対称な形態に影響が出ることを示し、マボヤにおいても脊椎動物と同様に nodal が左右非対称な形態形成に関与していることが示唆された。

また、申請者は神経胚の回転によって生じる胚の左側表皮と卵膜との接触が、*nodal* の左側特異的発現を引き起こすという、左右非対称な遺伝子発現の新しいメカニズムを発見した。受精後 15 時間頃の神経胚は胚の後方から見て反時計回りに前後軸に沿って回転する。この回転は常に胚の左側が下向きになると止まる。神経胚回転の時期に表皮細胞のほぼ中央からそれぞれ１本の繊毛が走査型電子顕微鏡によって観察され、繊毛の運動が神経胚回転の原動力となる可能性が示された。神経胚回転の停止メカニズムについては、神経胚の neural fold の盛り上がりが物理的障害となることと、neural fold から尾部にかけての背側には繊毛が存在しないことによって、

さらなる回転を妨げているというモデルを申請者は提案している。遠心力を用いて正常発生とは逆に胚の右側を卵膜に接触させ続けると *nodal* 発現は右側に逆転し、尾の巻き方や脳胞の位置についての左右非対称性も逆転する。またスライドガラスとカバーガラスで胚をはさみ、胚の左右両側を卵膜に接触させると *nodal* は左右両側に発現し、左右非対称性は乱れる。申請者が示したこれらの結果は、表皮細胞と卵膜との接触が *nodal* 発現を引き起こすこと、そして神経胚の回転・停止が *nodal* 発現を左側表皮細胞に限定していることを示唆している。神経胚回転よりも前に、卵膜を除去して発生させたり卵膜を除去して胚の左右両側をガラスで押さえつけて発生させたりしても *nodal* は発現しない。また、卵膜を外から覆っている濾胞細胞は *nodal* 発現に必要ないことがわかった。これらの結果は、卵膜からの化学的なシグナルが *nodal* 発現を引き起こす可能性を示唆している。さらに、申請者は神経胚回転が他のホヤでも起こることを確認した。以上のように申請者は、神経胚回転がマボヤ幼生の左右非対称な形態形成につながることを *nodal* 遺伝子発現の観察を通して明らかにし、その神経胚回転の driving force として繊毛運動の可能性を指摘した。上記のような左右非対称性の確立メカニズムは脊椎動物やその他の動物で知られているものとは異なる新たなメカニズムあり新奇性は極めて高い。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。