

Title	Mechanical control of notochord morphogenesis by extra-embryonic tissues in mouse embryos
Author(s)	藺牟田, 雄
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34182">https://hdl.handle.net/11094/34182</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨  
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	藺牟田 雄
論文題名 Title	Mechanical control of notochord morphogenesis by extra-embryonic tissues in mouse embryos. (マウス胚羊膜腔の膨張による脊索形態形成の機械的制御)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>哺乳類の発生は受精卵から始まり、細胞の分裂と分化を繰り返して行くことで胚体組織と胚体外組織を形成し、両者が協調して働くことが正常な胚発生に必要なものである。胚体組織は胎児本体を形成し、胚体外組織は、母体からの栄養物を受け取り、老廃物を交換し、胚本体へのシグナル伝達を行う組織である。また、胚本体との間に空間を液体で満たして保護する機能があり、そのような空間の一つが羊膜腔である。私の研究では、この羊膜腔が膨らむ事で発生する力が脊索という組織の形態形成運動に必要なことを明らかにした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>脊索は頭部から尾部まで一本の細長い組織となり、この過程で収斂伸長と呼ばれる形態形成運動が起こっていると言われている。マウス胚脊索において収斂伸長時の細胞の動きを直接観察した報告はないため、ライブイメージングによる細胞動態解析を行った。脊索細胞の核の動きを可視化するため、脊索に発現するFoxa2およびT遺伝子の下流に2Aペプチドを介して核EGFPを導入したノックインマウスを作製した。観察は胚を吊るしてスピニングディスク型の共焦点ユニットを用いて、胎生7.5日目から観察を始めた。その結果、収斂伸長に加え、脊索細胞の核の長軸の向きが左右軸方向から前後軸方向へと変化していくことを発見した。この動きについて、脊索が前後軸方向に強い張力がかかり、その力に細胞の向きを変えることで素早く伸長しているという仮説を考えた。この仮説を検証するために、レーザーにより一つの細胞を焼き殺し、周囲の細胞の動きを測定した。その結果、脊索では周囲の細胞は前後軸方向の移動距離が大きいことが示された。このことから、前後軸方向に強い張力を受けているという仮説が証明された。次に、この時期の羊膜腔は発生が進むにつれて膨張していくという現象に注目し、羊膜腔の膨張する力が脊索における前後軸方向の張力の源となっているのではないかと考えた。そこで、胚に先端を折った筒型の針を差すことで羊膜腔の膨張する力を取り除いて培養した。針を差した胚では、羊膜腔の膨らみが抑えられ、前後軸方向の体長が短くなり、脊索の幅が広く、細胞の向きの変化も起こってなかった。以上のことから、脊索の収斂伸長および脊索細胞の向きの変化には羊膜腔の膨張が必要である示唆された。次に、羊膜腔の膨張する等方な力どのようにして脊索において前後軸方向の張力として作用しているのかを考えるために数理モデルの構築と物理シミュレーションを行った。その結果、脊索が長方形をしている時、前後方向に強い張力が働くことが示唆された。</p> <p>カエル脊索の収斂伸長時には平面内細胞極性を制御するPCPシグナルが働いていることがわかっている。そこで、PCP構成因子であるVangl2の発現を羊膜腔の膨張を抑えた胚と通常培養胚とで比較した。通常培養胚の脊索でのVangl2は細胞膜に局在する事を確認できた。羊膜腔の膨張を抑えた胚でのVangl2は、細胞膜での局在が落ち、細胞質においてわずかにシグナルが観察できました。以上の結果から平面内細胞極性シグナルの上流で収斂伸長を制御する。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>胚の成長に伴い、胚体外組織と胚本体から構成される羊膜腔が膨張していき、そのために胚全体に膨張力が発生する。この力は胚全体に均等にかかっているが、脊索という長方形の構造により、脊索において前後軸方向に強く力が作用することが明らかになった。さらに、力の作用はPCPシグナルに必要とされ、収斂伸長と細胞の向きの変化に繋がっていく、と考えられる。私の研究では、ライブイメージングのためのノックインマウスの作成に始まり、胚体外組織の新しい役割として、機械的な形態形成の制御を発見した。これまで胚体外組織は母体と栄養物等を交換供給する支持組織としての役割や胚本体へのシグナル伝達といった機能が報告されていたが、胚本体と物理的に結合していることによる機械的な作用と形態形成のつながりは新しい発見であり、ほかの発生段階においても同様のメカニズムがあるかもしれない、このような胚体外組織と協調した力学的な視点から発生の仕組みを明らかにしていくことが包括的な胚発生の理解に繋がっていくのではないかと考えている</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 藺牟田 雄

	(職)	氏名
論文審査担当者	主査	大阪大学教授 松山 幸文
	副査	大阪大学教授 洪田 博司
	副査	大阪大学教授 八木 健

## 論文審査の結果の要旨

着床後の哺乳類胚は、胚体及び胚体外組織で構成されている。両者は連続した組織であるが、そのために生じる胚体外組織からの機械的な作用については明らかになっていない。本論文では、マウス胚における脊索の収斂伸長に注目して研究を行い、次のような結果を得た。脊索細胞は収斂伸長に伴いその方向を左右から前後へと変化させる。脊索には前後にひっぱる力が作用している。胚体及び胚体外組織から成る羊膜腔の膨張が脊索の収斂伸長および細胞方向の変化に必要である。脊索が長方形である事が等方な羊膜腔の膨張から前後軸方向の力を生じさせる。羊膜腔の膨張は、平面内細胞極性シグナルの上流で収斂伸長を制御する。以上の結果から、羊膜腔の膨張が脊索を前後にひっぱる力を生み出し、収斂伸長を起こすことが示唆された。本研究では、胚体外組織には胚発生を機械的な力で制御するという新たな役割があることを示しており、学位の授与に値すると考えられる。