



Title	Cadherin-mediated cell interaction regulates germ cell determination in mice
Author(s)	岡村, 大治
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45352
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名 岡 村 大 治

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 18498 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 16 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科分子病態医学専攻

学 位 論 文 名 Cadherin-mediated cell interaction regulates germ cell
determination in mice
(カドヘリンを介した細胞間相互作用によるマウス生殖細胞の決定機構)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 松居 靖久

(副査)

教 授 仲野 徹 教 授 高井 義美

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

多くの生物においては、卵形成過程で蓄積・局在する母性の生殖細胞決定因子により、胚発生の始まる以前から生殖細胞の発生運命の方向付けがなされるが、哺乳類であるマウスでは、多能性幹細胞集団である内部細胞塊や、内部細胞塊由来のエピブラストにおいてもまだ生殖細胞への運命決定は行われておらず、全ての細胞が将来生殖細胞となり得るポテンシャルを兼ね備えていると考えられている。

これまでの研究から、マウス始原生殖細胞 (PGC) の前駆細胞は、原腸陥入に先だって、原始外胚葉 (epiblast) の基部に、それと接する胚体外外胚葉の作用によって誘導されることがわかっており、胚体外外胚葉で発現する BMP4 や BMP8b が、epiblast に対して PGC 形成の誘導因子として機能していることが考えられている。しかしその後、7.25 日胚の胚体外中胚葉の内部で、ALP (Alkaline Phosphatase) 活性陽性の細胞集団として、PGC が確認されるまでの間、どのような動き・メカニズムの中で、PGC 前駆細胞が PGC へと運命決定を受けているのかに関しては、多くの部分で謎であった。本研究は、マウス初期胚の初代培養系を用いて、PGC 前駆細胞が PGC へと運命決定を受ける条件、ならびにそこに関わる分子機構を解析した。

[方法ならびに成績]

まず我々は、断片化した胚を培養する実験により、6.75 日胚において、それまでエピブラスト基部に位置していた PGC 前駆細胞のほとんどが、胚体外中胚葉へと移動していることを見出した。そこで次に、PGC に特異的に GFP を発現する、Oct3/4-GFP トランスジェニック胚を材料として用い、培養過程を経時的に観察し、胚体外中胚葉内での PGC 形成過程を可視化することを試みた。その結果、Oct3/4-GFP 強陽性細胞として識別できる PGC 前駆細胞同士が、組織内で細胞塊 (以後クラスター) を形成していることが観察された。さらに、胚体外中胚葉をトリプシン処理により細胞を解離して培養したところ、PGC 形成が起こらず、PGC 前駆細胞のクラスター形成による細胞間相互作用が、PGC 形成に必要であることが示唆された。

次に、クラスター形成を担う接着分子を同定することを試み、細胞接着分子である E-カドヘリンが胚体外中胚葉内

でユニークな発現パターンを示すことを見出した。免疫組織染色の結果、E-カドヘリンは胚体外中胚葉のエピブラスト側に位置する基部領域特異的に発現しており、また 7.0 日胚では PGC 前駆細胞と思われる Oct3/4-GFP 強陽性細胞のクラスターが、E-カドヘリン発現領域の最も先端部分に確認された。

そこで次に、E-カドヘリンが実際に PGC 形成に働いているかどうかを、特異的な阻害抗体を胚体外中胚葉の培養に添加することにより調べた。その結果、抗体を添加しない場合と、阻害効果を持たないコントロール抗体を添加した場合では 15 時間培養後、運命決定を受けた PGC に特異的なマーカーである PGC7/Stella を発現する細胞のクラスターが観察された。また、これらのクラスター細胞では、E-カドヘリンの発現が特異的に維持されていた。しかし阻害抗体存在下では PGC7/Stella 陽性細胞は認められず、PGC 形成が阻害されることが明らかになった。阻害抗体存在下でも Oct3/4-GFP 強陽性細胞が散在していたが、それらは、PGC への決定を受けられずに前駆細胞の状態のまま残った細胞であると思われる。これらの結果から、E-カドヘリンを介した前駆細胞同士の細胞間相互作用が PGC への運命決定において必須な役割を果たしていることが明らかになった。

[総括]

今回、我々の研究から、E-cadherin を介した前駆細胞同士の細胞間相互作用が、前駆細胞から PGC への運命決定において重要であることが明らかになった。E-cadherin がどのように PGC への運命決定を制御しているかについては、いくつかの可能性が考えられる。1 つは、E-cadherin 自身が直接 PGC への決定シグナルを伝達している可能性。また別の可能性としては、前駆細胞同士が E-cadherin を介して接着することによって、分泌型や膜表面型の分子が機能出来るようになり、PGC への決定を促すシグナル伝達系が動き出すことも考えられる。いずれにしても、E-cadherin を介した接着依存的に、何らかのシグナルカスケードが動いていることが予想され、その解明に興味を持たれる。

論文審査の結果の要旨

本学位論文では、マウス初期胚において、始原生殖細胞が未分化前駆細胞から分化決定される際に、細胞接着分子 E-カドヘリンを介した前駆細胞間の相互作用が必須な役割を果たしていることを明らかにした。この研究において、申請者はまず、初期胚前駆細胞からの始原生殖細胞形成を再現できる初代培養系を独自に開発した。さらにこれを利用して、まず分化決定過程では前駆細胞が細胞塊を作っており、これを破壊すると始原生殖細胞形成が起こらないことを見出し、前駆細胞間の相互作用が重要な働きをしていることを示した。さらにこの相互作用を担う分子として E-カドヘリンが働いていることを発見した。これらの研究結果から、これまで分子機構が全くわかっていなかった始原生殖細胞の分化決定に働く分子を初めて同定した。このように、本研究は独創的な方法により始原生殖細胞形成の分子機構を始めて明らかにしたものであり、学位に値するものと認める。