OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	マウス胚の左右決定に相関した左右非対称なノード繊毛内Ca2+濃度変化
Author(s)	塩澤, 啓
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72624
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、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

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　塩澤　啓　）	
論文題名	マウス胚の左右決定に相関した左右非対称なノード繊毛内Ca^{2+}濃度変化 （Left-right asymmetric intraciliary calcium transient at the node correlated to left-right determination in mouse embryo）

論文内容の要旨

マウス胚の左右対称性は、ノード繊毛の回転運動によって発生する左向きの流れ（ノード流）によって破られる。ノード流はノードの縁にある細胞（クラウンセル）で感知され、ノード左側の後方を起点とする左右非対称なシグナルにつながるが、ノード流がクラウンセルによって、どのように感知されているかについては明らかにされていない。ノード流の感知には、クラウンセルの不動繊毛と、非選択的なカチオンチャネルであるPkd2の繊毛への局在が必要であり、カチオンのなかではカルシウムイオン（Ca^{2+}）シグナルの左右非対称性形成への関与が示唆されている。ゼブラフィッシュではノードに相当する組織において水流依存的な繊毛内Ca^{2+}濃度増加が左右決定に必須であることが報告されたが、一方でマウス胚のノード繊毛に水流を加えても繊毛内Ca^{2+}濃度増加は観察されないとする報告もあり、マウス胚のノード繊毛内Ca^{2+}と、左右非対称性の形成との関連については不明確であった。そこで本研究では、Ca^{2+}センサーをマウス胚クラウンセルの不動繊毛に局在させることで繊毛内Ca^{2+}濃度増加の有無を調べ、濃度増加が観察されるならば、左右非対称性との相関について検討することとした。

左右非対称性が破られる時期のマウス胚において、繊毛内Ca^{2+}濃度増加を検出することに成功した。繊毛内Ca^{2+}濃度増加の頻度はノードの右側よりも左側で高く、その左右非対称性はPkd2変異胚及びノード流がみられない胚では消失した。細胞質Ca^{2+}濃度増加の頻度についても繊毛内と同様の左右非対称性がみられ、繊毛が形成されない胚では左右非対称性が消失した。続いて繊毛内と細胞質Ca^{2+}の関係性を明らかにするため、Ca^{2+}濃度増加のタイミングについて調べたところ、細胞質と繊毛内Ca^{2+}濃度が同時に増加、もしくは細胞質Ca^{2+}濃度が先行して増加する例が多く観察されたが、繊毛内Ca^{2+}濃度が先行して増加する例及び繊毛内Ca^{2+}濃度のみが増加する例も観察され、細胞外から繊毛に流入するCa^{2+}の存在が示唆された。細胞外から繊毛に流入するCa^{2+}を特異的に観察するため、小胞体Ca^{2+}ストアを枯渇させる作用をもつThapsigarginを曝露した胚を観察したところ、Ca^{2+}濃度増加を示す繊毛の割合は著しく減少したが、小胞体に依存しない繊毛内Ca^{2+}濃度増加が存在した。繊毛内Ca^{2+}濃度増加の大部分は小胞体由来のCa^{2+}であることもわかったが、小胞体に依存しない繊毛内Ca^{2+}濃度増加は、ノード流が速くなり始める時期以降に、ノード左側の後方に多く観察されたことから、左右非対称性の形成に相関していると考えられた。

以上の結果より、マウス胚においても繊毛内Ca^{2+}濃度増加があり、小胞体に依存しない繊毛内Ca^{2+}濃度増加は左右非対称性の形成に関与していることが示唆された。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名（　塩澤　啓　）			
		(職)	氏　名
論文審査担当者	主 査	教授	濱田 博司
	副 査	教授	近藤 滋
	副 査	教授	倉橋 隆
	副 査	教授	佐々木 洋

論文審査の結果の要旨

マウスを含む多くの脊椎動物では、回転運動する繊毛によって生じる一方向性の液体の流れ（ノード流）が、体の左右対称性を破ることが知られている。ノード流は、ノード脇に存在する不動繊毛によって感知されるが，その詳しい機構、とくにカルシウム（Ca2+）の関与については不明であった。とくに、胚のノード繊毛に水流をかけても繊毛内Ca^{2+}濃度増加はないとした先行研究は、Ca2+の関与に否定的であった。申請者は本博士論文において、マウス胚の操作に長けた経験を生かし、水流を感知する際のCa2+の関与を再度検討した。その結果、ノード繊毛内Ca^{2+}濃度増加の検出に成功し、濃度増加の頻度はノード左側の方が高く、この左右差はノード流及びPkd2依存的であることを示した。また細胞質Ca^{2+}濃度増加の頻度も左側の方が高く、この左右差には繊毛が必要であった。小胞体Ca^{2+}を枯渇させるThapsigarginを用いた実験から、繊毛内Ca^{2+}濃度増加の大部分は小胞体由来であることを明らかにした。更に、細胞外Ca^{2+}の繊毛への流入によると考えられる繊毛内Ca^{2+}濃度増加を検出し、ノードで左右対称性が破られる部位・時期に一致して観察されたことから、これはノード流感知後の最上流のシグナルであり、左右非対称性の形成に関与していると考えらえた。以上の結果は、ノード流を感知する機構に対して、新たな知見を提供したと評価できる。

よって申請者塩澤啓は、博士の学位に値するものと認める。