

令和 4 年 9 月 2 日現在

機関番号：82675

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02454

研究課題名（和文）脊髄神経管発生をモデルにしたWntの空間分布制御機構の研究

研究課題名（英文）Regulation of spatial distribution of Wnt in developing neural tube

研究代表者

高田 慎治（Takada, Shinji）

大学共同利用機関法人自然科学研究機構（新分野創成センター、アストロバイオロジーセンター、生命創成探究・生命創成探究センター・教授

研究者番号：60206753

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：マウス胚の神経管の背側領域で局所的に発現するWnt1とWnt3aの時空間的挙動を詳細に解析した結果、これらWntリガンドが発現細胞の頂端側に局在化することを見出した。これらのWntを発現する細胞は発生の進行に伴い大きく形態を変化させ、背腹軸方向に伸長するが、このような形態変化にはこれらWntの分泌が必要である。解析の結果、この形態変化にはWntシグナル伝達経路の一つであるWnt/b-catenin経路の活性化が重要であることが明らかになるとともに、Wntの頂端側への局在化が、背側領域でのWntシグナル活性を維持し、その結果として細胞骨格因子の活性化と細胞の形態変化が引き起こすと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Wntをはじめとする分泌シグナルタンパク質は、発生のさまざまな局面で重要な働きをするが、分泌されたタンパク質の時空間的挙動に関する知見は乏しく、それらの作用機構の詳細については不明な点が多い。本研究では、マウス神経管の最背側部で発現するWnt1とWnt3aに着目し、これらタンパク質の時空間的挙動を追跡するとともに、その挙動がもつ意義について検討した。その結果、これらWntが広く拡散しているという当初の予想に反して、その多くは発現細胞の周囲に局在していることが明らかになり、分泌シグナルタンパク質の作用機構についてのこれまでの一般的な考え方に修正が必要であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Wnt1 and Wnt3a are locally expressed in the dorsal region of the neural tube in mouse embryo. We found that these Wnt ligands localize to the apical side of the expressing cells. The Wnt-expressing cells undergo a dynamic morphological change during development, elongating along the dorsoventral axis, and secretion of these Wnts is required for this morphological change. Our analysis revealed that activation of the Wnt/b-catenin pathway, one of the Wnt signaling pathways, is important for this morphological change. Our results strongly suggest that the apical localization of Wnt maintains Wnt signaling activity in the dorsal region, resulting in the activation of cytoskeletal factors and cell morphological change.

研究分野：発生生物学

キーワード：遺伝子 細胞 発生 シグナル伝達

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Wnt を含む分泌性シグナル蛋白質 (以下、分泌シグナル) は、細胞の増殖、分化、移動などを制御する。一般的にこれら分泌シグナルは、パラクラインとして周囲の細胞を制御しており、発生生物学の古典的概念の一つであるモルフォゲンの分子実態とも考えられている。動物の発生がダイナミックなプロセスであることを考えれば、絶え間なく起きる細胞の増殖・移動・形態変化やそれらに伴う細胞相互の相対位置の変化により、細胞集団の中における分泌シグナルの分布パターンは刻々と変化しているものと考えられる。このようなダイナミックなプロセスにおいて分泌シグナルが果たす作用を理解するためには、組織内での分泌シグナルの空間分布のダイナミクスを把握する必要があるが、そのような研究は世界的に見ても端緒にすぎないばかりである。

従来、分泌シグナルの空間分布は、産生細胞から分泌された分泌シグナルと細胞膜や細胞外基質中の分子との相互作用により規定され、産生細胞を中心に濃度勾配を呈するものと考えられてきた。しかし、近年のイメージング観察からは、実際の分泌シグナルの空間分布は必ずしも従来のモデル通りではないことが示唆されている。例えば、細胞が伸ばす突起(cytoneme)を伝わって分泌シグナルが遠く離れた細胞まで輸送されることが相次いで報告されており(Luz et al. *PLoS One* 9, e84922 (2014); Stanganello et al. *Nat. Commun.* 6, 5846 (2015))、分泌シグナルの空間分布は従来考えられていたよりも遥かに多様で複雑であることがわかりつつある。したがって、様々な発生現象のしくみを理解する上においては、分泌シグナルの空間分布の多様性を念頭におきつつ、刻々と変化する発生プロセスの中のどのタイミングでどのように分泌シグナルの分布が変化するかを把握することが重要であると考えられる。

このような把握をする上において大事なことは、実際の発生過程における分泌シグナルの空間分布やその動態、即ち内在性の分泌シグナルの挙動、を捉えることである。しかし、内在性の分泌シグナルの空間分布を実際に観察した研究は未だ極めて少ない。その大きな理由の一つに、免疫組織化学に適した抗体が不足していることが挙げられる。例えば、本研究で着目する Wnt の場合、ショウジョウバエの Wnt1 ホモログである Wg 以外では、脊椎動物においてごく限られた数の報告があるのみである(Serralbo & Marcelle *Development* 141, 2057-2063 (2014))。

そこで研究代表者は、独自の工夫により免疫組織染色が可能な各種 Wnt 抗体を作成するとともに、遺伝子ノックイン法を用いて Wnt3a 遺伝子座に EGFP を挿入したマウスを作成し、EGFP 抗体による免疫組織染色やライブイメージングによって内在性 Wnt3a 蛋白質を可視化できる系を確立した。これらの道具立てにより Wnt の空間分布をどの程度解析することができるのかを確かめるため、Wnt3a の機能解析が進んでいる神経管に着目した。将来脊髄となる神経管は発生初期では構造が比較的単純であり、その最背側領域に位置する蓋板細胞では BMP 等とともに Wnt1 と Wnt3a が発現し、この 2 つの Wnt が背腹軸に沿った神経サブタイプごとの領域形成を制御している。

解析した結果、まず各神経サブタイプの領域が形成される胎生 9.5 日から 10.5 日においては、Wnt3a 蛋白質が蓋板細胞より広く拡散している様子が確認された (分布パターン 1 (図 1 左))。このような拡散性の空間分布の他に、胎生 10.5 日から、蓋板細胞の頂端側 (apical 側) に Wnt3a タンパク質が強く局在化するという予想外の結果が得られた (分布パターン 2 (図 1 左: 矢印))。さらに胎生 13.5 日以降では、Wnt3a タンパク質は脊髄神経管の正中線を背腹軸方向に仕切ると中隔 (脊髄正中中隔) に沿って分布していた (分布パターン 3 (図 1 右: 括弧))。このように Wnt タンパク質の分布パ

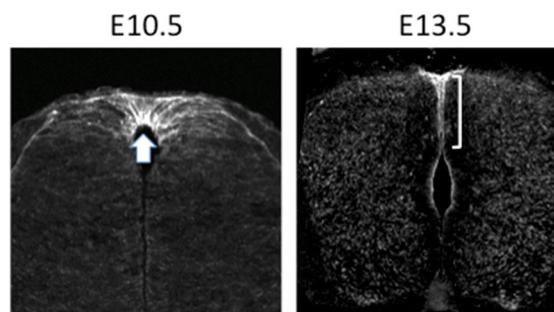


図 1 Wnt3a 蛋白質の局在
10.5日胚では広い拡散 (分布パターン 1) に加え、蓋板細胞の頂端側への集積 (分布パターン 2 : 矢印) が見られる。13.5日胚では、正中に沿った分布へと変化する (分布パターン 3 : 括弧)。

ターンが大きく変化する時期には、蓋板細胞自体の形態も変化し、Wnt タンパク質の分布がパターン 2 に移行するに従い、蓋板細胞は頂端側が収縮した円錐様の形態になり、さらにその頂端部が伸長かつ束化して背腹軸に沿った構造 (脊髄正中中隔) へと変形し、それに伴い、Wnt タンパク質の分布がパターン 3 へと移行する (図 2)。

そこでこのような蓋板細胞の形態変化と Wnt の関係を調べるために、Wnt1/Wnt3a 二重変異体

ならびに蓋板細胞で特異的に Wnt の分泌を阻害したマウス(蓋板特異的 Wls cKO マウス:以下、蓋板特異的 Wnt cKO マウスと記載)の胚を解析したところ、蓋板細胞は頂端側が収縮した円錐様の形態へと移行せず、束化せずに伸長し、その結果として脊髄正中中隔の低形成が認められた(表現型 1)。

一方、蓋板細胞が変化した脊髄正中中隔の先端は中心管と呼ばれる脊髄神経管の内腔に由来する管の内壁に接している(図 2; E15.5)。中心管には脊髄のグリアの前駆細胞が存在しており、成獣マウスでは脊髄損傷によりこの前駆細胞の細胞

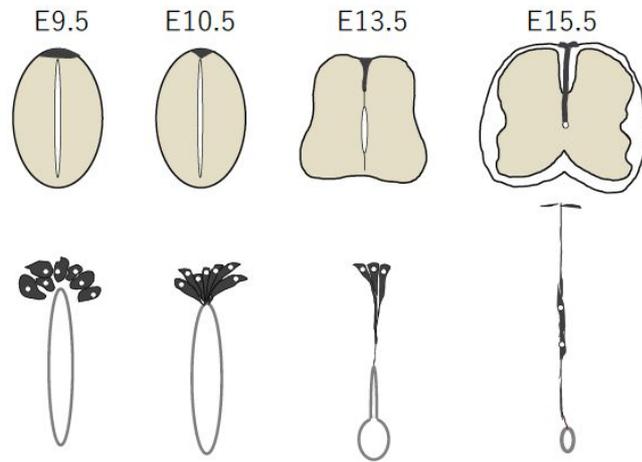


図 2 脊髄神経管の発生に伴う蓋板細胞の形態変化
10.5日胚になると蓋板細胞の頂端側が収縮し、13.5日胚以降ではさらに背腹軸に沿って伸長し、正中中隔を形成する。

増殖が亢進し多くのグリア細胞が分化してくることが知られている(Barnabé-Heider F et al. *Cell Stem Cell*. 7, 470-482 (2010))。そこで、野生型および蓋板特異的 Wnt cKO マウスを用いて脊髄損傷実験を行って見たところ、脊髄損傷により脊髄正中中隔において Wnt1 の発現が上昇するものの、蓋板特異的 Wnt cKO マウスでは、Wnt1 タンパク質が脊髄正中中隔の細胞から分泌されずに細胞内部に溜まり、中心管での細胞増殖の亢進が阻害されることを見いだした(表現型 2)。この 2 つ目の表現型は、中心管での未分化細胞の維持、もしくは中心管への損傷刺激の伝達に、蓋板細胞での Wnt の分泌が必要であることを示唆している。

2. 研究の目的

上述した Wnt タンパク質の分布パターンの特徴的な変遷と、蓋板特異的 Wnt cKO マウスの表現型から得られた知見をもとに、本研究では以下の目的を掲げ、研究を進めた。

- (1) 蓋板細胞周囲の Wnt タンパク質の分布パターン(分布パターン 1) が形成されるしくみを明らかにする。
- (2) Wnt タンパク質の頂端部への局在化と(分布パターン 2 への変化)、蓋板細胞の細胞骨格系の変化との関連性を明らかにする。さらに、その分子機構の解明を目指す。
- (3) 蓋板細胞の頂端方向への伸長に伴い、Wnt タンパク質が伸長方向へと長距離輸送され(分布パターン 3 への変化)、シグナルの受容域が遠隔化するかどうかを明らかにする。

これらの 3 つの点を検証することにより、発生に伴い分泌シグナルの空間分布がダイナミックに変化することの意義の一端が明らかになるものと考えられた。また、分布パターン 2 や 3 のような Wnt 蛋白質の空間分布はこれまで想定されていなかったものであり、このような特徴的な空間分布を生み出すに至る分子機構についても合わせて解明することを試みた。

3. 研究の方法

本研究では、蓋板細胞の追跡を行うために、Wnt1cre もしくは Wnt1cre-ERT と floxed tdTomato 遺伝子を持つ胚を作成した。また、蓋板細胞における Wnt シグナルの機能を解析するために結果に記載のあるさまざまな変異体マウス胚を用いた。アフリカツメガエル胚を用いた FCS 解析では Venus タグを付加させた Wnt8 nRNA を受精卵に注入した。

4. 研究成果

(1) 蓋板細胞で産生される Wnt の分布パターンの形成機構の解析

胎生 10.5 日までにみられる背側神経管での Wnt タンパク質の分布パターン(分布パターン 1)の形成過程を追跡する上では、Wnt 産生細胞である蓋板細胞そのものの増殖や移動を考慮しておく必要がある。そこで、蓋板細胞で発現する Wnt1 遺伝子のプロモーターにより時期依存的に cre リコンビナーゼを発現させることにより、蓋板由来の細胞を tdTomato によりマークし、その挙動を追跡した。その結果、予想に反して、蓋板細胞に由来する子孫細胞は神経管の背側領域に広く分布することが明らかになった。このことは、神経管の背側領域においては、Wnt タンパク質の分泌・拡散により自身の空間分布パターンが形成されるという従来のモデルとは異なり(図 3 左)、むしろ Wnt 産生細胞自体が増殖・移動することによって広い領域に Wnt タンパ

ク質が分布する可能性を示唆している(図3右)。実際、蓋板細胞の子孫細胞が神経管内で増殖・移動を開始する9.5日胚以降に、Wntタンパク質の分布が広がり出すことや、蓋板細胞からのWntの分泌を阻害した胚に

拡散依存的パターン形成モデル

細胞増殖依存的パターン形成モデル

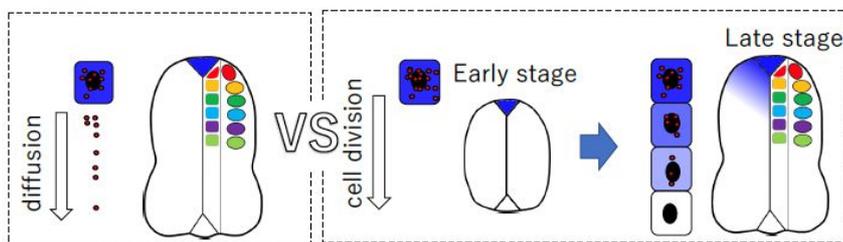


図3 神経管背側におけるWntシグナルの分布パターンの形成機構を説明する2つのモデル：(左)従来一般的に考えられてきたモデル：蓋板細胞が産生するWntリガンドが分泌・拡散することにより、Wntシグナルの濃度勾配が背側神経管に形成される。(右)蓋板細胞の追跡により示唆されたモデル：蓋板細胞が増殖し腹側へと移動することによりWntシグナルの勾配が形成される。

においても神経管背側の広い範囲にWntタンパク質が分布することが明らかになり、このモデルの妥当性が示唆された(Hatakeyama et al., 学会発表済、論文発表準備中)。

さらにこのモデルの妥当性をさらに検討するため、遺伝子ノックインにより内在性Wnt3aを非分泌型に置換したマウスを作成し、それをWnt1変異マウスと交配することにより、Wnt1を欠失かつ非分泌型Wnt3aのみを蓋板で発現する二重変異胚(非分泌型Wnt発現胚)を作成し、神経管の発生を解析した。Wnt1とWnt3aをともに欠失したマウス胚では背側神経管の発生に重篤な異常が現れるのに対し、非分泌型Wnt発現胚では、その発生には大きな異常が観察されなかった。以上の実験結果から、背側神経管でのWnt作用の空間的な広がり、従来考えられていたようなWntリガンドそのものの分泌・拡散によるよりも、むしろ産生細胞の増殖と移動により規定されていることが強く示唆された(Hatakeyama et al., 学会発表済、論文発表準備中)。

そこで、Wntタンパク質の細胞外での動態そのものを定量的に解析する必要があると考え、アフリカツメガエルの初期胚においてWntタンパク質のダイナミクスを光活性化後蛍光減衰

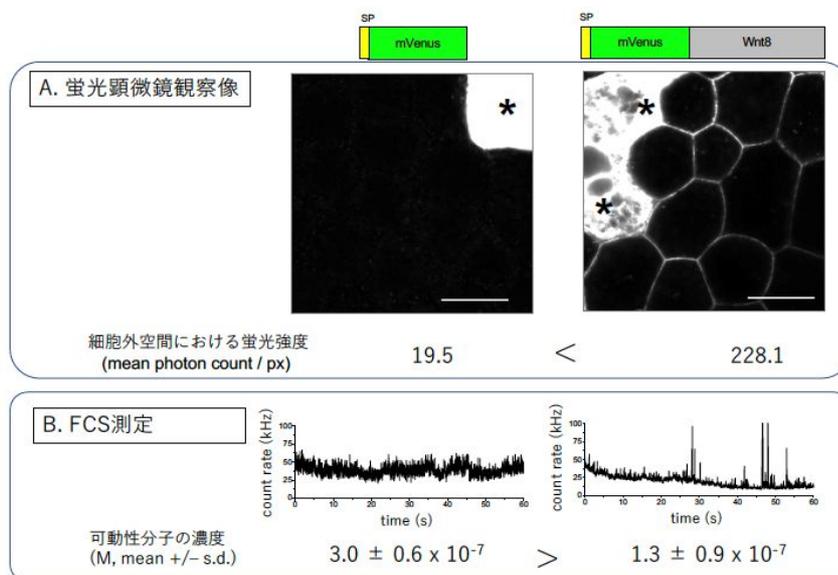


図4 細胞外空間における可動的なWntの測定 Venusを付加したWnt8をアフリカツメガエル胚に発現させ(*印がWnt発現細胞)、細胞間隙における存在量をphoton countingで計測するとともに、可動性のWntをFCSにより測定した。コントロールのVenus(分泌させるためにシグナルペプチドを付加)と比較し、可動性のWntは5%程度であることがわかる。

法(FDAP)や蛍光相関解析(FCS)を用いて解析した。その結果、大半のWntタンパク質は実は細胞膜上にトラップされており、全体の数%のみが細胞外で拡散していることが明らかになり、神経管で観察された結果が支持された(図4; Takada et al., *Commun. Biol.* (2018)), Mii et al., *eLife* (2021) 発表論文リストに掲載)。

(2) 蓋板細胞の頂端部に局在化するWntの作用機構の解析

研究開始当初の背景に記載したように、Wntタンパク質が蓋板細胞の頂端部に局在化するに伴い、細胞の頂端側は収縮し円錐状へと変化するが、Wnt1/Wnt3a二重変異体ならびに蓋板特異的Wnt cKOマウスの胚ではこの変化は見られない。したがって、頂端部に局在化するWntタンパク質は蓋板細胞の細胞骨格系に変化をもたらす、細胞形態を変化させる可能性が示唆される。

ここでの大きな問題は、頂端部へのWnt蛋白質の局在化がどのように細胞骨格を制御するかという点である。蓋板で産生されるWnt1やWnt3aといったWntタンパク質は、主として典型

的(canonical) Wnt 経路と呼ばれるシグナル伝達経路を活性化し、核における標的遺伝子の転写制御を通じて機能するものと考えられている。一方、核での転写制御を介する場合、細胞膜上のどこで Wnt タンパク質が受容体を活性化するかという細胞レベルでの位置情報は意味を持たないはずであり、Wnt が頂端部に局在化することに積極的な意味がないようにも考えられる。そこで研究代表者は、Wnt は核へのシグナル伝達を介して、蓋板細胞の細胞骨格系の変化を誘起するのかどうかを検討することにした。そこで、canonical Wnt 経路の中心的因子であるβ-catenin の恒常的活性化体を蓋板特異的 Wnt cKO マウスに発現させたところ、蓋板細胞の形態異常が回復することが明らかになり、蓋板細胞の変化は canonical Wnt 経路に依存するものと結論された。

つぎに、蓋板細胞の頂端側での細胞骨格系の変化の分子機構を明らかにするために、アクチン骨格系に注目した。アクチン骨格系の活性化を引き起こすミオシン軽鎖のリン酸化を調べたところ、正常胚では蓋板細胞の頂端側の収縮とともにミオシン軽鎖のリン酸化が亢進したのに対し、Wnt cKO マウス胚ではリン酸化が著しく低下していた。蓋板細胞ではアクチン骨格形成制御に関わる ERM ファミリー因子のひとつである Ezrin が特異的に発現することが知られているが(Gimeno et al. *Gene Expr. Patterns* 4, 749-754 (2004))、Wnt の局在化が見られる胎生 10.5 日胚においては、活性化型であるリン酸化 Ezrin が頂端側に検出された。そこで、Ezrin の機能欠失胚を作成し解析したところ、蓋板特異的 Wnt cKO マウスとよく似た脊髄神経管の形態異常が確認できたことから、Wnt シグナルは Ezrin を介して細胞骨格系を制御し、蓋板細胞の変化を引き起こしているものと考えられる (Shinozuka et al., 学会発表済、論文発表準備中)。

(3) Wnt を蓋板細胞の頂端部に局在化させるしくみの解析

Wnt を蓋板細胞の頂端部に局在化させる仕組みについても併せて検討した。ここではヘパラン硫酸のような Wnt を捕捉する細胞外蛋白質が頂端部での Wnt の局在に関与するのではないかと考え、ヘパラン硫酸鎖の合成に必須な Ext1 遺伝子の変異体マウス胚 (Jackson 研究所より入手) を用いて Wnt の局在化を検討した。その結果、変異体で特異的に Wnt の局在性の低下が認められ、Wnt の頂端部への局在化にヘパラン硫酸が必要であることが明らかになった(Shinozuka et al., 学会発表済、論文発表準備中)。

(4) 脊髄正中中隔に沿って輸送される Wnt の役割と作用機構の解析

神経管の発生・成熟とともに、蓋板細胞は背腹方向に伸長して脊髄正中中隔を形成し、その先端は中心管の管腔側に接する (図 2; E15.5)。Wnt1 と Wnt3a タンパク質は脊髄正中中隔に沿って見られるが、canonical Wnt シグナルの活性化の指標である Axin2 遺伝子の発現は、中心管において検出された。したがって、Wnt タンパク質は細長く伸長した蓋板細胞に沿って、中心管にまで輸送されることが示唆された。さらに、蓋板特異的 Wnt cKO マウスでは中心管での Wnt シグナルの活性化ならびに細胞増殖の亢進の程度が低いことが明らかになった (図 5)。これらの知見から、脊髄正中中隔に沿って輸送される Wnt は中心管に存在する上位細胞 (神経前駆細胞) を維持するために必要であり、Wnt は伸長した蓋板細胞内で運ばれて、中心管に作用するものと考えられた(Shinozuka et al., *Development* (2019) 発表論文リストに掲載)。したがって、細胞の形態変化により Wnt シグナルの作用範囲が遠隔化するという、新たな Wnt の空間分布の制御機構が明らかになった。

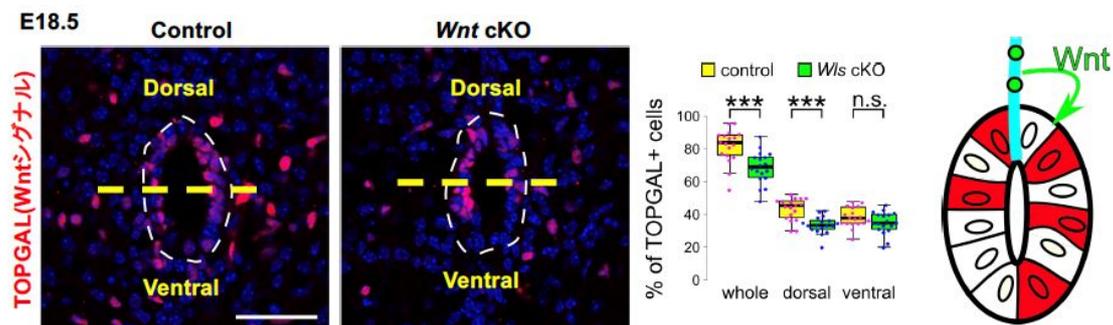


図 5 伸長した蓋板細胞の先端から分泌する Wnt リガンドは、周囲の細胞を活性化する：発生後期には将来脊髄となる神経管の内腔は収縮し中心管となる。蓋板細胞は頂端が内腔の最背側に位置したまま背腹軸方向に引っ張られる。蓋板細胞が産生する Wnt リガンドはこの伸長した細胞体 (水色：右模式図) を通って先端に運ばれ、中心管の背側の上衣細胞 (神経前駆細胞) を活性化 (赤色：右模式図) する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Fujimori Sayumi, Ohigashi Izumi, Abe Hayato, Matsushita Yosuke, Katagiri Toyomasa, Taketo Makoto M, Takahama Yousuke, Takada Shinji	4. 巻 11
2. 論文標題 Fine-tuning of -catenin in mouse thymic epithelial cells is required for postnatal T-cell development	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e69088
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.69088	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Mii Yusuke, Nakazato Kenichi, Pack Chan-Gi, Ikeda Takafumi, Sako Yasushi, Mochizuki Atsushi, Taira Masanori, Takada Shinji	4. 巻 10
2. 論文標題 Quantitative analyses reveal extracellular dynamics of Wnt ligands in Xenopus embryos	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e55108
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.55108	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Okada Kazunori, Takada Shinji	4. 巻 147
2. 論文標題 The second pharyngeal pouch is generated by dynamic remodeling of endodermal epithelium in zebrafish	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 dev194738
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/dev.194738	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shinozuka Takuma, Takada Ritsuko, Yoshida Shosei, Yonemura Shigenobu, Takada Shinji	4. 巻 146
2. 論文標題 Wnt produced by stretched roof-plate cells is required for the promotion of cell proliferation around the central canal of the spinal cord	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 dev159343
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/dev.159343	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mii Yusuke, Takada Shinji	4. 巻 8
2. 論文標題 Heparan Sulfate Proteoglycan Clustering in Wnt Signaling and Dispersal	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 631
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2020.00631	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takada Ritsuko, Mii Yusuke, Krayukhina Elena, Maruyama Yuusuke, Mio Kazuhiro, Sasaki Yoshikazu, Shinkawa Takao, Pack Chan-Gi, Sako Yasushi, Sato Chikara, Uchiyama Susumu, Takada Shinji	4. 巻 1
2. 論文標題 Assembly of protein complexes restricts diffusion of Wnt3a proteins	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-018-0172-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Shinozuka Takuma, Takada Shinji	4. 巻 9
2. 論文標題 Morphological and Functional Changes of Roof Plate Cells in Spinal Cord Development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jdb9030030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計22件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Shinji Takada
2. 発表標題 Wnt3a-mediated community effect in the maintenance of NMP population
3. 学会等名 EMBO Workshop “Neuromesodermal progenitors in development, evolution and regeneration” (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shinji Takada
2. 発表標題 Analysis of signaling proteins in the extracellular space
3. 学会等名 ExCELLS Visit Talks in IBC Academia Sinica@Taipei (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Mii, Ritsuko Takada, Elena Krayukhina, Chan-Gi Pack, Yasushi Sako, Susumu Uchiyama, Masanori Taira, and Shinji Takada
2. 発表標題 Quantitative analyses of Wnt protein dynamics in Xenopus embryos
3. 学会等名 Gordon Conference "Wnt Signaling Networks in Development, Disease and Regeneration" (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinji Takada
2. 発表標題 Visualization and quantification of Wnt proteins in embryos
3. 学会等名 The 2nd NIBB-Princeton Symposium "Imaging and Quantitative Biology" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yudai Hatakeyama, Yusuke Mii, and Shinji Takada
2. 発表標題 Autocrine and paracrine functions of Wnt ligand in the neuromesoderm progenitor cells of mouse embryo
3. 学会等名 第53回日本発生生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 畠山宙大 三井優輔 高田慎治
2. 発表標題 マウス胚の神経中胚葉前駆細胞におけるWnt3aのオートクラインおよびパラクライン機能の解析
3. 学会等名 日本動物学会第91回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Minako Suzuki, Shinji Takada, Yusuke Mii
2. 発表標題 Roles of heparan sulfate proteoglycans in Wnt11 localization and planar cell polarity.
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tran TH Nguyen, Ritsuko Takada, Susumu Uchiyama, Shinji Takada
2. 発表標題 Examination of protein complex formation of secreted Wnt family members
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takuma Shinozuka and Shinji Takada
2. 発表標題 Regulatory mechanism of morphological change of roof-plate cells in the mouse spinal cord
3. 学会等名 第53回日本発生生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takuma Shinozuka, Ritsuko Takada, Shinji Takada
2. 発表標題 Mechanism and significance of morphological change of Wnt-producing cells in the mouse spinal cord
3. 学会等名 The 2nd NIBB-Princeton Symposium "Imaging and Quantitative Biology" (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Mii, Ritsuko Takada, Makoto Matsuyama, & Shinji Takada
2. 発表標題 How do Wnt proteins regulate planar cell polarity?
3. 学会等名 17th International Xenopus Conference @Seattle, 米国 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinji Takada, Ritsuko Takada, Makoto Matsuyama, & Yusuke Mii
2. 発表標題 Visualization of Wnt11 proteins reveals that Wnt acts not by forming global gradient, but as a local signal to progressively propagate planar cell polarity
3. 学会等名 Wnt Meeting 2018 @ Heidelberg, ドイツ (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinji Takada, Ritsuko Takada, Makoto Matsuyama, & Yusuke Mii
2. 発表標題 Extracellular Dynamics and Diffusion Range of Wnt Protein in Xenopus Embryos
3. 学会等名 Keystone Symposia "Signal Dynamics and Signal Integration in Development and Disease" @ Keystone, 米国 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Mii
2. 発表標題 How does Wnt11 direct the planar cell polarity?
3. 学会等名 119th International Titisee Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ritsuko Takada, Yusuke Mii, Elena Krayukhina, Chan-Gi Park, Yasushi Sako, Susumu Uchiyama, and Shinji Takada
2. 発表標題 Oligomerization-based assembly restricts Wnt protein diffusion.
3. 学会等名 第70回日本細胞生物学会・第51回日本発生生物学会合同大会 @東京
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takuma Shinozuka, Ritsuko Takada, Shosei Yoshida, Shigenobu Yonemura, Shinji Takada
2. 発表標題 Roof plate cells dramatically elongate and promote the proliferation of neural progenitors by secreting Wnt proteins in the mouse spinal cord
3. 学会等名 第70回日本細胞生物学会・第51回日本発生生物学会合同大会 @東京
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三井優輔、高田律子、松山誠、高田慎治
2. 発表標題 Local and mutual regulations between Wnt and planar cell polarity propagate global coordination of cell polarity throughout the tissue.
3. 学会等名 第70回日本細胞生物学会・第51回日本発生生物学会合同大会 @東京
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yudai Hatakeyama, Takuma Shinozuka, Yusuke Mii & Shinji Takada
2. 発表標題 Lineage analysis of roof plate cells during the developmen of mouse spinal cord
3. 学会等名 第70回日本細胞生物学会・第51回日本発生生物学会合同大会 @東京
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三井優輔、高田律子、松山誠、高田慎治
2. 発表標題 Wnt11はどのようにして平面細胞極性を揃えるのか？
3. 学会等名 第12回日本ツメガエル研究集会・第4回次世代両生類研究会合同シンポジウム @広島
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三井優輔、高田律子、松山誠、高田慎治
2. 発表標題 分泌性シグナル蛋白質Wnt11による平面細胞極性（PCP）の制御
3. 学会等名 日本発生生物学会 秋季シンポジウム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三井優輔、高田律子、松山誠、高田慎治
2. 発表標題 Wntはどのようにして平面細胞極性をそろえるのか？
3. 学会等名 大阪大学蛋白質研究所セミナー「Wnt研究会2018-2019」
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 畠山宙大、篠塚琢磨、三井優輔、高田慎治
2. 発表標題 マウス神経管におけるWnt発現細胞の細胞系譜解析
3. 学会等名 大阪大学蛋白質研究所セミナー「Wnt研究会2018-2019」
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室HP:<http://www.nibb.ac.jp/cib2/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	畠山 宙大 (Hatakeyama Yudai)		
研究協力者	高田 律子 (Takada Ritsuko)		
研究協力者	チャン ニュエン (Tran TH Nguyen)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	鈴木 美奈子 (Suzuki Minako)		
研究協力者	篠塚 琢磨 (Shinozuka Takuma) (70869023)		
研究協力者	三井 優輔 (Mii Yusuke) (70634129)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
韓国	University of Ulsan College of Medicine			
米国	national Institute of Health			