

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 24年 9月 7日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23770246

研究課題名（和文）臓器が左右非対称にねじれる仕組みの解明

研究課題名（英文）Analysis of a mechanism for embryonic turning and organ looping.

研究代表者

中村 哲也（NAKAMURA TETSUYA）

大阪大学・生命機能研究科・助教

研究者番号：70506766

研究成果の概要（和文）：

私は、受精後 8.0 日目のマウス胚の側板中胚葉において、BMP シグナルが左右非対称に働いていることを明らかにし、非対称な BMP シグナルが embryonic turning を左右非対称に起こす事を解明した。さらに、非対称な BMP シグナルを引き起こす因子として、BMP2,4,5 を同定した。

研究成果の概要（英文）：

We revealed that asymmetric BMP signal play an important role to make embryonic turning asymmetrically in the Lateral Plate Mesoderm of mouse. Asymmetric BMP signal is caused by asymmetric expressions of BMP 2,4,5.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2012年度	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：器官形成、心臓、腸、ルーピング、ターニング、マウス

1. 研究開始当初の背景

受精後 8.0-8.5 日において、マウスの内臓臓器は左右非対称な形態をとりはじめる。心臓

等のチューブ状の構造は左右非対称なねじれを起こし、後に機能的に重要である形態へと変化していく。左右非対称に発現する遺伝

子としては、Nodal, Lefty 等いくつかの因子が知られているが、チューブ構造のねじれと関係のある遺伝子は解明されておらず、臓器がねじれるメカニズムは不明であった。

2. 研究の目的

- (1) BMP ligandの網羅的ISHを行うことで、左右非対称な発現をする遺伝子を同定する。
- (2) BMP シグナルの左右非対称性を証明するために、リン酸化型Smad1の免疫染色を行う。
- (3) 遺伝子組み換えマウスを利用して、BMPシグナルの左右非対称性を変化させ、臓器形態の変化を観察する。
- (4) 臓器がねじれるときの細胞形態を、1細胞レベルで観察する。
- (5) 1細胞レベルの形態変化を数理モデルに取り込み、in silico で臓器のねじれる原理を解明する。

3. 研究の方法

- (1) BMP ligandの網羅的ISHを行うために、BMP1-BMP7に対するin situ probeを作製し、Whole mount in situ hybridizationを行う。
- (2) リン酸化型Smad1の免疫染色をする方法を開発し、whole mountでBMPシグナルの非対称性を観察する
- (3) CAG promoter -loxP- CAT pA- loxP -caALK2- IRES-EGFP マウスを利用することで、BMPシグナルを時期特異的に活性化させ、臓器形態を観察する。
- (4) 臓器がねじれる前と後で、アクチン骨格の染色を行い、1細胞レベルでの形態の変化を明らかにする。

4. 研究成果

本研究は、腸、心臓、胚のターニング等、体の臓器が作られる中で左右非対称にねじれる

メカニズムを明らかにするものである。私は、その原因を解明して行く中で、BMPシグナルが胚発生期の側板中胚葉で左右非対称に働いている事を免疫染色で確認した。BMPシグナルが左右非対称なねじれを引き起こす分子実体としての可能性が高いと考えられたので、次にトランスジェニックマウスを使用してBMPシグナルを変化させる実験を行った。

方法としては、CAG promoter -loxP- CAT pA- loxP -caALK2- IRES-EGFP マウスと、ROSA-CreERT2マウスを交配させ、交配後6.5日目でタモキシフェンを投与する事で、時期特異的にALK2シグナルを活性化させた。これにより、BMPシグナルが左右両方の側板中胚葉で上昇する状況を作り出したが、その結果、胚のターニング方向がひっくり返った胚が得られた。つまりBMPシグナルが胚の左右非対称なターニングを引き起こす原因となっている事が考えられる。

BMPシグナルがどのようにしてねじれの原因になるかを解明するために、心臓、腸のチューブに対してアクチン骨格の染色を行い、左右で細胞の形態がどのように違うのか、解析を進めている。この実験より、BMPシグナルが1細胞に対して与える影響を明らかにし、組織全体の変形を理解する。

さらに現在、組織の変形を理解する手段として数理モデルを構築中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

Nakamura T, Hamada H. "Left-right patterning: conserved and divergent mechanisms." *Development*. 2012 Sep;139(18):3257-62. 査読有

〔学会発表〕（計 1 件）

Nakamura T.,"The Mechanism To Establish Robust Left-Right Asymmetry",8th European Conference on Mathematical and Theoretical Biology（招待講演）,2011 June 28-July 2, Krakow(Poland)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 哲也 (NAKAMURA TETSUYA)
大阪大学・生命機能研究科・助教
研究者番号：70506766

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし