

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：22604

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2013～2015

課題番号：25711016

研究課題名(和文)胚葉運命の分離に関わる細胞極性を作り出す機構の解析

研究課題名(英文)Analysis of the mechanism that creates the polarity and separates germ layer fates.

研究代表者

高鳥 直士(Takatori, Naohito)

首都大学東京・理工学研究科・准教授

研究者番号：70404960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,600,000円

研究成果の概要(和文)：動物の体を構成する多種多様を作り出す過程の初期過程を、脊索動物ホヤを材料に解析した。中内胚葉細胞では、細胞核の移動によりNot遺伝子のmRNAが細胞の一方に偏り、一方の娘細胞に受け継がれることで互いに異なる運命の娘細胞が作られることを、先行研究で明らかにした。核移動方向の決定が重要であるので、これを制御する機構を解析し、PI3Kという細胞膜に局在する酵素が核の移動先に局在することが重要であること、PI3Kの局在は受精直後の作られた後、自身の活性により維持されることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：I analyzed the mechanism responsible for creation of diverse types of cells that constitute the animal body from a single cell, the fertilized egg. The initial stages of this process is the formation of the germ layer cells. In previous studies, I found that mesoderm and endoderm fates are separated by nuclear migration-dependent localization of a mRNA encoding Not within the mesendoderm cell and its partitioning to the mesoderm daughter cell. In this study, I analyzed the mechanism that determines the direction of the nuclear migration, as it is central to fate separation. I found that localization of PI3K, a membrane protein, to the future mesoderm side of the mesendoderm cell determines the direction of nuclear migration. Localization of PI3K was dependent on actin dependent re-localization of egg cytoplasm immediately after fertilization. The localization was maintained by activation of PI3K in the future mesoderm region at the 4-cell stage.

研究分野：発生生物学

キーワード：細胞極性 胚葉運命 核移動 PI3K

1. 研究開始当初の背景

胚発生の過程で1種類の細胞から複数種類の細胞ができるという現象の面白さは、多くの研究者を魅了し続けてきた。胚の細胞が多様化する過程の初期段階の一つが、胚葉運命の分離である。外胚葉、中胚葉、内胚葉のうち、中胚葉と内胚葉は、多くの動物で中内胚葉細胞から作られる。しかし、中内胚葉細胞の娘細胞のうち、どの細胞が中胚葉(または内胚葉)になるか決める仕組みは、多くの動物でわかっていない。多様な細胞が作られる仕組みを理解するには、受精卵から順番に、どのような仕組みが働いているか理解することが必要である。しかし、多様化の初期段階にあたる胚葉が作られる過程は、十分に細胞レベルで理解されているとは言い難い。

例外的に線虫では、中内胚葉細胞に隣接する細胞からの Wnt シグナルによって中内胚葉細胞中に極性が生じ、その結果、Wnt シグナル伝達経路を構成する因子の核内局在が娘細胞間で異なり、中胚葉と内胚葉運命が分離されることがわかっている。脊椎動物では、カエル、ゼブラフィッシュで主に研究が進められ、内胚葉(中胚葉)決定因子の勾配により運命が分離される機構などが提唱されてきた。しかし、細胞レベルでの解析は難航している(Rodaway and Patient, Cell 2001)。

私は、脊索動物のホヤを用いてこの問題に取り組んできた。ホヤは胚細胞の細胞系譜に個体間で差がなく、どの細胞が中胚葉または内胚葉になるか決まっている。私は、中胚葉と内胚葉細胞の母細胞や周辺の細胞に着目することで、胚葉運命を分離する機構に近づくことが期待できると考えた。研究開始時点では、ホヤの中(または内)胚葉で特異的に発現する中(内)胚葉運命決定因子が明らかにされつつあった。申請者は、これらの運命決定因子の発現を制御する機構を解析し、以下のことを明らかにした。(1) 中内胚葉細胞の核が、将来中胚葉細胞になる側に移動する移動の間、転写因子 Not をコードする mRNA が転写され、核内に留まる(2) 中胚葉側へと移動した細胞核から Not mRNA が細胞質へと移動して、将来の中胚葉側の細胞質に局在する。(3) 細胞分裂により、Not mRNA が予定中胚葉細胞に受け継がれ、Not 転写因子が中胚葉運命を促進し、内胚葉運命を抑制する。これらの結果は核移動依存的な mRNA の局在が胚葉運命を分離することを示した点が評価され、2010年に Developmental Cell 誌に紹介論文 (Parton and Davis, Dev. Cell, 2010) とともに掲載された (Takatori et al., Dev. Cell, 2010)。しかし、核の移動方向がどのようにして決まるのかわかっていなかった。

2. 研究の目的

上述のとおり、中胚葉細胞と内胚葉細胞は中

内胚葉細胞から作られる。しかし、細胞レベルで中胚葉(または内胚葉)の運命を互いに異なる細胞に分ける機構については不明な点が多い。申請者は、中内胚葉細胞の核が将来中胚葉細胞を生じる側に移動して、移動した先で転写因子 Not の mRNA を放出し、Not mRNA が中胚葉になる細胞にのみ受け継がれることで、中胚葉と内胚葉の運命が互いに異なる細胞に分配されることを明らかにした。この研究では、Not mRNA が局在するまでの過程に焦点を絞って、核の移動方向がどのようにして決まり、核の移動がどのようにして制御され、Not mRNA がどのようにして係留され局在が維持されるのか理解することを目的として行った。

3. 研究の方法

上記の については、PI3K α の局在の変化を詳細に記載した上で、受精卵で PI3K α またはその mRNA が移動して将来中胚葉を作る領域に局在する機構を調べた。受精卵から 16 細胞期までの間、PI3K α の局在が維持される機構についても調べた。 については、微小管の配向が中胚葉側と内胚葉側で異なる意義を確認することとした。核が移動する時期に微小管がどのように制御されるか調べた。 については、Not mRNA に結合する因子の候補を中心に、それらの因子の局在と機能、Not mRNA と因子の複合体がどこで作られ、どのように制御されているか調べた。

4. 研究成果

核の移動方向を決める機構を理解するために、核の移動方向を制御する因子をスクリーニングして、中胚葉側に局在する Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) を含む複数の因子を得た。PI3K は細胞膜リン脂質をリン酸化するキナーゼである。PI3K の産物である Phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate (PIP3) も将来の中胚葉側に局在していた。PI3K, PTEN (PIP3 分解酵素), PIP2 (PI3K の基質), PIP3 の局在と、PI3K と PTEN の機能を解析した結果、16 細胞期の PIP3 の局在が核移動方向を直接決定することが示唆された。PIP3 の局在は、PI3K 局在に依存していた。

そこで、核の移動方向を決める機構を理解するために、PI3K を局在させる機構を調べた。母性 PI3K タンパク質は、未受精卵では細胞表層にはほぼ均一に存在する(図2)が、受精後の卵細胞質再配置により、受精後僅か5分以内に、将来の内胚葉領域を除く領域へと局在が変化した。4細胞期に母性 PI3K が将来の中胚葉領域で活性化されることで PIP3 が作られ、PIP3 局在依存的に胚性の PI3K タンパク質が中胚葉領域に局在した。(図2)。これらの結果より、受精から運命分離に至る因果関係の枠組みが得られた (Takatori et al., Dev. Cell, 2015)。

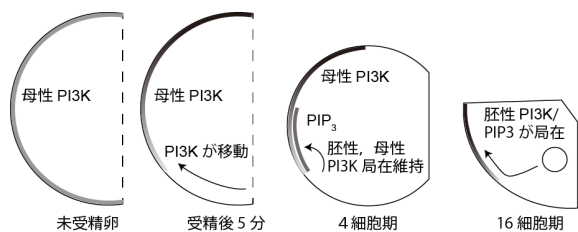


図2

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4件)

1. Takatori N. (責任著者), Oonuma K., Hiroki N. and Saiga H. "Polarization of PI3K activity initiated by ooplasmic segregation guides nuclear migration in the mesendoderm" *Developmental Cell* 2015, in press (査読あり)

2. Brozovic, M, et al., 以下25名申請者は15番目 "ANISEED 2015: a digital framework for the comparative developmental biology of ascidians." *Nucleic Acid Research* 2015, in press (査読あり)

3. Oonuma K., Hirose D., Takatori N. and Saiga H. "Continuous expression of Otx in the anterior neural lineage is supported by different transcriptional regulatory mechanisms during the development of *Halocynthia roretzi*." *Dev. Growth & Differ.* 2014, 56: pp.189-198. (査読あり)

4. Oonuma K, Hirose D, Takatori N., Saiga H. "Analysis of the Transcription Regulatory Mechanism of Otx During the Development of the Sensory Vesicle in *Ciona intestinalis*." *Zoolog Sci.* 2014, 31(9): pp. 565-72. (査読あり)

[学会発表](計4件)

Takatori, N. Mechanism that creates the polarity important for mesoderm and endoderm fate separation. The 48th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists 2015年6月2日 筑波大学(茨城県・つくば市)

Takatori, N. Mechanism that determines the direction of nuclear migration and separates mesoderm and endoderm fates. The 8th International Tunicate Meeting, 2015年7月16日 リンクステーションホール青森(青森県・青森市)

高島直土 "因果を辿る：胚の中に向きを作り，中胚葉と内胚葉運命を分ける過程の解析。" 東京都医学総合研究所合同セミナー 東京都医学総合研究所 2014年12月26日(東京都・世田谷区)

Takatori N., Nishida H., Saiga H. (2013) "Segregation of germ layer fates by nuclear migration-dependent localization of Not mRNA to the PIP3-rich side of the cell." *RIKEN Symposium RNA Sciences in Cell and Developmental Biology III*, 2013年12月7日 理化学研究所(兵庫県・神戸市)

高島直土 胚葉運命分離に関わる細胞極性を作り出す仕組みの解析，首都大バイオコンファレンス2013，2013年11月8日 首都大学東京(東京都・八王子市)

受賞 Young Presenters Award for Excellent Oral Presentation. 第45回日本発生物学会、第64回日本細胞生物学会合同年会。以下の発表に対して「Naohito Takatori. (2012) A localized factor polarizes mesendoderm cells and separates mesoderm and endoderm fates in the ascidian embryo. 第45回日本発生物学会、第64回日本細胞生物学会合同

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者

高鳥直士(Takatori, Naohito)
首都大学東京・大学院理工学研究科・准教授
研究者番号：70404960

(2)研究分担者
(0)

研究者番号：

(3)連携研究者
(0)

研究者番号：