

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2014

課題番号：26650080

研究課題名(和文) マウス胚前後軸形成における子宮の役割と加齢による影響

研究課題名(英文) The effect of uterus and aging during the anterior-posterior axis formation

## 研究代表者

高岡 勝吉 (TAKAOKA, Katsuyoshi)

大阪大学・生命機能研究科・助教

研究者番号：90551044

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：脊椎動物は前後、左右、背腹の三つの軸をもつ。多くの生物では前後軸はその後の胚発生の基となる最初に明確に形成する体軸である。これまでの研究により、前後軸の起源はマウス着床期付近という予想外に早期のステージまで遡ることができることが明らかになった。ここで、私たちはマウス着床期付近の子宮においてNodalとLefty1が発現していることを明らかにした。この発見は、胚の前後軸が子宮からのNodalシグナルによっても制御されている可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：Vertebrates have three principal body axes; Anterior-Posterior (A-P), Dorsal-Ventral (D-V), and Left-Right (L-R) axis. In many organisms, A-P axis is the first overt body one, establishment of A-P axis is based on early molecular asymmetry and essential for later development, including the formation of other axes. The origin of the DVE is pushed back at least to the peri-implantation stage, which is much earlier than expected. In this research, I revealed that Nodal and Lefty1 was expressed in uterus in implantation stage. These results can be guessed that A-P asymmetries is induced maternal Nodal signaling.

研究分野：発生生物

キーワード：前後軸 子宮

## 1. 研究開始当初の背景

生物はどのようにして体軸を獲得するのだろうか？ショウジョウバエを含む多くの生物は、*bicoid* に代表されるような母性効果遺伝子の mRNA が非対称に分布することにより、すでに卵子の段階で分子レベルの非対称情報を獲得している。そして、それら分子レベルの非対称情報が後の体軸情報を提供する。それに対して、我々ヒトやマウスといった哺乳類は、分裂期胚が高い操作性や適応能を備えることから、卵子や受精卵の時期は分子レベルの非対称情報を獲得しておらず、その後の発生段階で獲得するであろうと一般的に考えられている。

3 つの体軸のうち一番早期に形成し、その他の 2 つの体軸やその後の胎児の発生現象の基となる体軸である前後軸の、マウス胚における研究は、遠位臓側内胚葉 (DVE, Distal Visceral Endoderm) 標識遺伝子である *Hex* を中心に解析が進められてきた。受精後 5.5 日胚の遠位端に様々な遺伝子が発現する細胞群 DVE が誘導される。DVE は 5.7 日胚で将来の前側へ細胞移動し、前側臓側内胚葉 (AVE, Anterior Visceral Endoderm) と名称を変える。そして、胚体部分に頭部誘導シグナルを送ることで、前後軸が形成されるとされてきた。しかし、申請者は DVE 標識遺伝子の一つである *Lefty1* が 5.5 日胚以前より一部の細胞で発現を開始していることを見出した。さらに *Lefty1* について詳細な細胞系譜解析と DVE 細胞の遺伝的除去実験の結果、代表者は DVE 標識遺伝子の一つである *Lefty1* が 5.5 日胚以前より一部の細胞で発現を開始していることを発見し、マウス胚の前後方向は受精後 4 日の着床期付近の胚

DVE (Distal Visceral Endoderm, 遠位臓側内胚葉) と呼ばれる細胞群によって決定していることを明らかにした (Takaoka *et al.*, Dev. Cell 2006, NCB 2011)。また、この DVE 細胞は、Nodal シグナルのネガティブフィードバック分泌因子である *Lefty1* の発現で規定されており、DVE 細胞の形成される位置は Nodal シグナルの入力位置と量に応じていることを示した (Takaoka *et al.*, submitted)。着床期付近である受精後 4 日に現れる DVE の細胞は、受精後 6 日において頭部を誘導する細胞 AVE (Anterior Visceral Endoderm, 前側臓側内胚葉) を前側へガイドする。

以上より、マウス前後軸形成が母体の子宮と関係しているのではないかという仮説をたてた。

## 2. 研究の目的

本研究では、研究代表者のこれまでの研究により得られた成果である DVE/AVE 細胞で発現する *Lefty1* は Nodal シグナルによって誘導される (Takaoka *et al.*, Dev. Cell 2006) こと、DVE が現れる時期は着床期付近であることから、研究代表者が独自に導き出した仮説である前後軸パターンニングにおける子宮の役割を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

まず、子宮における Nodal の発現を Nodal の発現細胞を lacZ で標識するトランスジェニックマウスを用いて調べる。そして、得られた発現細胞特異的な Cre マウスを用いた Nodal のコンディショナルノックアウトを作製し解析を行う。具体的には、Nodal の子宮特異的なコンディショナルノックアウトマウス由来の 6 日胚が正常

に前方に AVE が形成しているかを *in situ* hybridization 法を用いて調べる。

#### 4 . 研究成果

代表者は、*Nodal* シグナルのリガンドである *Nodal* の発現を子宮で調べた。結果、*Nodal* は子宮腺上皮組織で着床期特異的に発現していることが明らかになった。加えて、*Nodal* シグナルのフィードバック阻害因子である *Lefty1* も *Nodal* 同様に、子宮腺上皮組織で発現していた。これらのことから、前後軸パターンングを規定する細胞群 DVE は、子宮と胚の *Nodal* シグナルが空間的ネットワークとして働くことで、生み出されている可能性が示唆された。

また、子宮腺上皮組織特異的な Pgr-Cre トランスジェニックマウスを製作し、*Nodal* のコンディショナルノックアウトを準備した。今後、表現型の詳細を解析する。

本研究の完了によってもたらされる、加齢がどのように胚発生初期の前後軸パターンングを破綻させているかという知見は、妊娠前の母体の早期診断の際の判断材料になるなど将来の母子先生医療の実現に大きく貢献できる。加えて、母体を治療するという新たな不妊治療法も開発される可能性も秘めている。

そして、本研究は着床前胚を主に扱うため、研究を遂行する過程で開発された技術は、将来の再生医療の現場や不妊治療など臨床の現場へ応用されることは間違いない。

#### 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2件)

RBM14 prevents assembly of centriolar protein complexes and maintains mitotic spindle integrity. Shiratsuchi G, Takaoka K, Ashikawa T, Hamada H, Kitagawa D.EMBO J. 2015 Jan 2;34(1):97-114. 査読あり

Origin of cellular asymmetries in the pre-implantation mouse embryo: a hypothesis.

Takaoka K, Hamada H.Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2014 Dec 5;369(1657) 査読あり

[学会発表](計3件)

高岡勝吉 Origin of Anterior-Posterior axis formation in mouse embryos. 第37回日本分子生物学会 2014年11月25日 パシフィコ横浜, (横浜)

高岡勝吉 Origin of Asymmetry in mouse embryos. 第66回細胞生生物学会 2014年6月14日, 奈良公会堂, (奈良)

高岡勝吉 Origin of Asymmetry in mouse embryos. 第37回日本発生生物学会 2014年5月28日, WINC あいち, (愛知)

#### 6 . 研究組織

##### (1)研究代表者

高岡勝吉 (TAKOAKA, Katsuyoshi)  
大阪大学・生命機能研究科・助教  
研究者番号: 90551044

##### (2)研究分担者

なし

##### (3)連携研究者

なし