

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：16101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23756

研究課題名（和文）マウス胚における前後軸の起源

研究課題名（英文）Origin of anterior-posterior axis in the mouse embryos

研究代表者

高岡 勝吉（TAKAOKA, Katsuyoshi）

徳島大学・先端酵素学研究所・准教授

研究者番号：90551044

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：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、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、体軸情報を提供する。それに対して、ヒトやマウスといった哺乳類においては、依然不明なままである。研究代表者はこれまで、マウス胚の前後軸に着目し、その初期形成過程をさかのぼって解析することで非対称な形態の起源にアプローチした。前後軸方向を決定する細胞群DVEは、Nodalシグナルが時空間的ネットワークとして働くことで生み出されており、母体の加齢が頭部決定細胞群AVEのパターニングを破綻させているモデルを立てた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、前後軸の起源を明らかにするという、発生学の本質にアプローチする壮大な研究である。ショウジョウバエを含む多くの生物は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おり、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、ヒトやマウスといった胎生動物がいつどのようにして体軸の基となる非対称な分子情報を獲得するのかは長らく不明であり、発生学の命題であった。本研究が完了した場合、発生学の命題が明らかになり、マウス胚発生学の歴史の中で重要なマイルストーンとなる。

研究成果の概要（英文）：One fundamental question in developmental biology is how an initially round fertilized egg becomes an elaborately shaped embryo. In *Drosophila*, whose eggs are elliptical in shape, the anterior-posterior (A-P) axis is specified by asymmetrical distribution of maternal determinants. In mammals such as humans and mice, the A-P axis, the first axis established in mammals, is determined by distal visceral endoderm (DVE). How prospective DVE cells are selected in the embryo, however, has remained unclear. We showed that, in mouse embryos, the DVE is formed through a negative feedback by Lefty1 and Nodal. The DVE then drives the establishment of the A-P axis by migrating to the future anterior side. We made an hypothesis; The DVE cells that determines the anterior-posterior axis direction is produced by the Nodal signals of the ovary, uterus, and embryo acting as a spatiotemporal network, and maternal aging disrupts the patterning of the head-determining cell group AVE.

研究分野：発生生物学

キーワード：マウス胚 前後軸 体軸 着床 非対称性 不妊治療 体軸 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、ヒトやマウスといった哺乳類は、依然不明なままである。

研究代表者はこれまでに、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, Dev.2012)。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、受精後 3.5 日胚の内部細胞塊(ICM, Inner Cell Mass)の 1 細胞で Nodal が発現を開始し、その発現細胞で Nodal シグナルの活性が閾値をこえて、Lefty1 を誘導する。誘導された Lefty1 は Nodal よりも早く分泌して周りの ICM の細胞の Nodal シグナルの活性を抑制することで、DVE が形成されることを明らかにした(Takaoka et al., Nature commun. 2017)。つまり前後軸決定細胞群 DVE の形成される位置は Nodal が発現を開始する位置に依存していることがわかった。

以上より、本研究では、受精後 3.5 日以前の胚における Nodal の発現制御機構について解析を行うことで、前後軸を決定する細胞群 DVE の位置が、ランダム決定されているのか、もしくはショウジョウバエなどの生物のようにすでに決定されている非対称な分子情報を基に決定されているのかを明らかにする。

## 2. 研究の目的

研究代表者はこれまでに、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, Dev.2012)。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、受精後 3.5 日胚の内部細胞塊(ICM, Inner Cell Mass)の 1 細胞で Nodal が発現を開始し、その発現細胞で Nodal シグナルの活性が閾値をこえて、Lefty1 を誘導する。誘導された Lefty1 は Nodal よりも早く分泌して周りの ICM の細胞の Nodal シグナルの活性を抑制することで、DVE が形成されることを明らかにした(Takaoka et al., Nature commun. 2017)。つまり前後軸決定細胞群 DVE の形成される位置は Nodal が発現を開始する位置に依存していることがわかった。

以上より、本研究では、受精後 3.5 日以前の胚における Nodal の発現制御機構について解析を行うことで、前後軸を決定する細胞群 DVE の位置が、ランダム決定されているのか、もしくはショウジョウバエなどの生物のようにすでに決定されている非対称な分子情報を基に決定されているのかを明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

本研究では、受精後 3.5 日胚の最初の Nodal が一部の細胞で発現するメカニズムを明らかにすることで「前後軸の起源」についてアプローチする。具体的には、次の 3 つの仮説を検証する。

(1) ゆらぎによりランダムに Nodal を誘導するシグナルが入力される、

Nodal シグナル可視化トランスジェニックマウスを用いたライブイメージング

(2) Nodal mRNA の非対称分配、

蛍光タグ付きの Nodal mRNA を用いて局在をライブイメージングをする

Nodal mRNA の異所発現実験

(3) Nodal を誘導するシグナル経路の構成因子の限局により特定の細胞でのみ Nodal の発現が誘導される。

Nodal 上流のエンハンサー解析

様々な阻害剤、siRNA を用いたノックダウンアッセイ

#### 4. 研究成果

研究代表者はこれまでに、マウス胚の前後方向は受精後 4 日の着床期付近の胚の 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。また、この DVE 細胞は、TGF- $\beta$  スーパーファミリーに属する 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., Nat. commun. 2017)。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。DVE 細胞を規定する Lefty1 は Nodal シグナルによって誘導されることから、研究代表者は Nodal と Lefty1 の発現パターンを母体の卵巣と子宮で調べた結果、Nodal は卵巣の卵胞と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、Lefty1 は子宮腺上皮組織で発現していた。さらに、生後 6 ヶ月以上の Lefty1<sup>-/-</sup>バックグラウンド由来の胚では、頭部誘導する AVE の細胞が後方にも形成し、前後軸方向のパターニングが破綻していた。これらのことから、前後軸方向を決定する細胞群 DVE は、卵巣と子宮、胚の Nodal シグナルが時空間的ネットワークとして働くことで生み出されており、母体の加齢が頭部決定細胞群 AVE のパターニングを破綻させている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Ide Takahiro, Twan Wang Kyaw, Lu Hao, Ikawa Yayoi, Lim Lin-Xenia, Henninger Nicole, Nishimura Hiromi, Takaoka Katsuyoshi, Narasimhan Vijay, Yan Xiumin, Shiratori Hidetaka, Roy Sudipto, Hamada Hiroshi	4. 巻 16
2. 論文標題 CFAP53 regulates mammalian cilia-type motility patterns through differential localization and recruitment of axonemal dynein components	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS Genetics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pgen.1009232	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 Dougherty GW, Mizuno K,他, Takaoka K,Katsanis N, Davis EE, Amirav I, Hamada H, Omran H.	4. 巻 11
2. 論文標題 CFAP45 deficiency causes situs abnormalities and asthenospermia by disrupting an axonemal adenine nucleotide homeostasis module	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-19113-0	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 Mizuno Katsutoshi, Shiozawa Kei, Katoh Takanobu A., Minegishi Katsura, Ide Takahiro, Ikawa Yayoi, Nishimura Hiromi, Takaoka Katsuyoshi, Itabashi Takeshi, Iwane Atsuko H., Nakai Junichi, Shiratori Hidetaka, Hamada Hiroshi	4. 巻 6
2. 論文標題 Role of Ca <sup>2+</sup> transients at the node of the mouse embryo in breaking of left-right symmetry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aba1195	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 Kawamura Nobuyuki, Takaoka Katsuyoshi, Hamada Hiroshi, Hadjantonakis Anna-Katerina, Sun-Wada Ge-Hong, Wada Yoh	4. 巻 31
2. 論文標題 Rab7-Mediated Endocytosis Establishes Patterning of Wnt Activity through Inactivation of Dkk Antagonism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 107733 ~ 107733
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.107733	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 Lanri Lynda, Twan Wang Kyaw, Kato Takanobu A., Botilde Yanick, Takaoka Katsuyoshi, Ikawa Yayoi, Nishimura Hiromi, Fukumoto Akemi, Minegishi Katsura, Mizuno Katsutoshi, Hamada Hiroshi	4. 巻 24
2. 論文標題 Ciliogenesis coupled accumulation of IFT B proteins in a novel cytoplasmic compartment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 731 ~ 745
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12722	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1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Takaoka K
2. 発表標題 Uncovering the mystery of mammalian oocyte-embryo development.
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 高岡勝吉	4. 発行年 2021年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 2
3. 書名 Bio Clinica	

1. 著者名 高岡勝吉	4. 発行年 2019年
2. 出版社 北隆館 / ニューサイエンス社	5. 総ページ数 85
3. 書名 Precision Medicine	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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			
シンガポール	National University of Singapore			
ドイツ	University Hospital Munster			