

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：17102

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2009～2013

課題番号：21116002

研究課題名(和文) 初期胚細胞コミュニティにおける細胞外シグナルの解析

研究課題名(英文) Analysis of extracellular signal in cell community of early embryos

研究代表者

目野 主税 (Meno, Chikara)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20311764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 181,800,000円、(間接経費) 54,540,000円

研究成果の概要(和文)：マウス胚エピブラストは、隣接した胚体外外胚葉及び臓側内胚葉(VE)と相互作用し、遠近・前後軸を獲得する。VEではmVam2に依存したエンドサイトーシスによるミクロオートファジーが生じており、この経路はBMPシグナルを不活性化させることで初期胚発生を制御することを明らかにした。前後軸形成の結果、エピブラスト後方ではWnt3により原条が形成される。エピブラスト幹細胞は中内胚葉への分化傾向を有するが、Wntカノニカル経路の抑制により維持・樹立が劇的に改善されることを明らかにした。Wnt3のノードにおける遺伝子発現制御機構、及び左右軸形成におけるWntカノニカル経路の役割を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The epiblast in mouse embryos acquires proximo-distal (P-D) and antero-posterior (A-P) axes by interacting with the extra-embryonic ectoderm and visceral endoderm (VE). In the VE, down-regulation of BMP signaling required for the P-D specification occurs via mVam2-dependent microautophagy. After establishment of the A-P axis, Wnt3 in the posterior epiblast drives the primitive streak formation. We showed that epiblast stem cells (EpiSCs), which often differentiate into the mesendoderm, could be maintained by suppressing Wnt canonical pathway, showing that the Wnt signaling promotes differentiation of EpiSCs into mesendoderm. During the left-right (L-R) specification, Wnt3 was found to be expressed asymmetrically along the L-R axis in the node. We identified the molecular network involved in the asymmetric expression thereby revealed the canonical Wnt signaling as a novel mechanism for the L-R axis determination.

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：細胞外シグナル 左右軸形成 原腸胚形成 多能性幹細胞 エンドサイトーシス 小胞輸送

1. 研究開始当初の背景

胚発生初期における体軸形成は、その後の発生を規定する重要なプロセスであり、少数の細胞が細胞外シグナルにより胚全体を制御するような細胞コミュニティーの好例である。本研究では、細胞外シグナル発現からシグナル受容に至る迄の制御を解析することで、体軸形成及びそれに関連したイベントの分子機構を明らかにし、初期胚細胞コミュニティーの理解を深めることを目指した。

2. 研究の目的

(1) 左右軸形成の分子機構の解析

哺乳類における左右軸形成の引き金は、ノード腹側層に生じる左向き水流(ノード流)である。このノード流が、ノードにおける複数遺伝子の左右非対称発現に転換され、最終的には左側側板中胚葉における *Nodal* 発現を誘起する。私たちは、新たに *Wnt3* がノードで左右非対称に発現することを見出し、これを糸口にノードにおける遺伝子発現機構、及び左右軸形成における Wnt カノニカル経路の役割を解析した。また、*inv* 変異は左右軸の逆転をもたらすことが知られていたが、ノード流の向きは正常である為、左右逆転の表現型に至る機序は長らく不明であった。*inv* 変異を解析することで、左右軸初期決定の理解を深めることを試みた。

Fgf8 hypomorph 変異は右側相同の先天異常を引き起こす。左右軸形成における FGF シグナルの役割は幾つか提唱されているが、ノードにおける遺伝子発現制御の視点で FGF シグナルの役割を再評価した。

(2) マウス初期胚エピプラスト・エピプラスト幹細胞の制御に関する解析

マウス初期胚のエピプラストは、隣接する組織との相互作用によって遠近・前後軸が形成され、胚後方には原条が形成し、前方は神経上皮を形成する。この制御に、FGF, BMP, Wnt シグナルが重要な役割を果たす。原腸陥入期の FGF シグナルは、原条では上皮間葉転換 (EMT) を促進し、中胚葉のパターニングに関与する。*Fg8* は原条及び臓側内胚葉で持続的に発現しているため、これらの表現型がどの時点の FGF シグナル欠損によるものか、各表現型が独立して生じているのかは不明であった。そこで、全胚培養と各種 FGF シグナルの阻害剤を組み合わせることで、時間軸に沿った FGF の役割を解析した。

Wnt3 変異胚では、エピプラストに原条が生じず中胚葉が形成されない。一方、エピプラストから樹立されるエピプラスト幹細胞 (EpiSC) は、多分化能関連遺伝子と中内胚葉の遺伝子を共発現することが知られていた。この性質が、内在の Wnt カノニカル経路に因るものと想定し、このシグナルを抑制することで EpiSC の安定化を図る試みを行った。

(3) 初期胚形成の新たな制御機構としての

エンドサイトーシス

哺乳動物の初期発生では、小さな胚がきわめて短時間のあいだに様々なシグナル伝達経路を活性化、不活性化することによってパターン形成が進行することから、情報がつくられること、消去されることの両者が時間的・空間的に厳密に制御されていると想像できる。初期発生を支配する多数の分泌性のシグナルタンパク質が位置情報、分化誘導情報を担うことが明らかにされている。しかし、シグナルの活性を制御するもう片方の役者、すなわち情報伝達のスイッチをオフにするメカニズムは未解明な点が多く残されている。

エンドサイトーシス経路は細胞表層のシグナル受容体を細胞内へ取り込み、リソソームなどの分解コンパートメントに送ることによってシグナルを負に制御する、いわゆるダウンレギュレーションに関与するとされている。しかしながら、組織レベル、個体レベルでのシグナル制御にエンドサイトーシス経路が機能していることを明らかにした研究はほとんどなされていない。哺乳動物のエンドサイトーシス経路は、mVamタンパク質や低分子量 rab GTPaseによって制御されている。これらの分子の機能を改変したマウスを作成し、その初期胚の表現型を明らかにすること、様々なシグナル伝達活性の時空間制御を詳細に解析することにより、初期発生パターン形成におけるエンドサイトーシス経路の果たす役割を明らかにすることを進めた。

3. 研究の方法

(1) 左右軸形成の分子機構の解析

Wnt3 遺伝子座の様々なゲノム断片を *lacZ* に連結したコンストラクを受精卵に注入し、得られたトランスジェニック (Tg) 胚の Xgal 染色でエンハンサーを評価した。同定したエンハンサーを用いて、ゲルシフト法及びルシフェラーゼアッセイを行い、転写因子の結合と活性を評価した。各種シグナル経路の阻害剤を添加した全胚培養を行い、左右軸形成における役割を解析した。また、交配によって *inv* 変異に *Cryptic*, *Lefty1*, *Cerl2* 変異を導入することで2重変異胚を作製し、左右軸関連遺伝子の発現パターンを whole mount in situ hybridization (WISH) で解析した。

(2) マウス初期胚エピプラスト・エピプラスト幹細胞の制御に関する解析

原腸陥入期から左右軸形成期にかけての胚の全胚培養で FGF シグナル阻害剤添加の作用を組織学的に解析すると共に、各種マーカー遺伝子の発現を WISH で解析した。

EpiSC に XAV939 を添加する培養・樹立方法を確立し、EpiSC の性状変化を免疫染色、qPCR 及び in situ hybridization (ISH) で解析した。また、着床後胚に EpiSC を注入するキメラ胚作製方法を確立し、EpiSC 由来細胞の分布を解析した。

(3) エンドサイトーシス経路に関わる遺伝子欠損マウスの作出と解析

酵母遺伝学の成果として同定されたVam2タンパク質はhomotypic fusion and vacuole protein sorting (HOPS) complexとよばれる膜融合に機能するタンパク質複合体のサブユニットで、低分子量GTP結合タンパク質rab7と共に、オルガネラ間の膜融合を担う。Vam2, rab7とも、動物、植物、菌類と広く真核細胞で保存されている。mouse (or mammalian) Vam2 (*mVam2*), ならびに*rab7*の条件的遺伝子破壊マウスを作製した。これらのマウス胚の初期発生における形態観察、WISHによる*Lefty*, *Cer1*, *Wnt3*, *Brachyury*などの発生マーカーの発現パターン、さらに、シグナル伝達メディエーターのリン酸化特異的抗体を用いた蛍光染色などの方法を用い、表現型を詳細に観察した。さらに、初期胚培養技術を導入し、エンドサイトーシスマーカーを用いてパルスラベル追跡を行うことにより細胞表面からリソソームへ至る膜動態を明らかにし、変異マウス胚での異常がどのステージで起きるのかを解析した。

4. 研究成果

(1) *inv/inv*の左右軸逆転機序の解析

inv/inv 胚における左右非対称性の逆転を説明する為に、ノード crown cell における Nodal 活性に着目した。野生型胚の crown cell では、Nodal 発現は左側がより強く、逆にそのアンタゴニスト *Cer12* 発現は右側がより強くなる。ところが、*inv/inv* 胚では Nodal 発現の左右非対称性は消失し、*Cer12* 発現は遅れて左側が右側よりも強い非対称性を示した。私たちは、ノードの Nodal と *Cer12* 発現のバランスが、その後 Nodal が発現する側板中胚葉の側を決定するのではないかと考え、*inv/inv;Cer12^{-/-}* 胚における側板中胚葉の Nodal 発現を調べた所、その発現パターンは完全にランダムになっていた。*Cer12^{-/-}* 胚及び *inv/inv;Cer12^{-/-}* 胚における側板中胚葉 Nodal 発現はノード Nodal 発現の左右性と一致しており、*inv/inv* に生じる左右軸の逆転は、ノード *Cer12* 発現の逆転が原因であると推察された。

さらに、*inv/inv* 胚ではノード後方で *Cer12* 発現が減少していた。これに一致して、ノード後方では Nodal シグナルが亢進し、その結果、Nodal フィードバック阻害因子である *Lefty1, 2* の異所発現が生じた。*inv/inv* 胚のノード Nodal シグナルの異常が、*Cer12* 発現の左右性の逆転につながる可能性を検討した。まず、Nodal シグナルの共因子 Cryptic の変異を導入した *inv/inv;Cryptic^{-/-}* 胚における *Cer12* 発現を調べた所、その左右非対称性が消失することが明らかになった。次に、*inv/inv* 胚の全胚培養を行い、Nodal シグナルを阻害する SB431542 の効果を検討した。意外にも、*inv/inv* 胚では培養するだけで *Cer12* 発現が減少し、その非対称性が消失した。さ

らに、SB431542 を添加すると、*Cer12* 発現のレベルは野生型と同程度まで回復した。以上の結果から、*inv/inv* 胚における *Cer12* 発現の逆転は Nodal シグナルに因り、Nodal シグナルは *Cer12* 発現を抑制するものと考えられる。

inv 変異における左右逆転の表現型を説明するために以下のモデルを考えた。ノード流は *Inv* タンパクに依存して *Cer12* と *Nodal* 発現の非対称性をもたらす。*inv/inv* 胚はノード流に反応しない為、*Nodal* と *Cer12* 発現は始め対称である。ノード右側では、次第に Nodal シグナルが *Cer12* 発現を抑制し、*Cer12* 発現の左右非対称性は逆転してしまう。異所発現する *Lefty* は、左向きの水流によってノード左側の Nodal シグナルを抑制すると考えると、*inv/inv* 胚における左右逆転の現象が説明できることになる。

(2) マウス初期発生における FGF シグナルの経時的機能解析

ヘパラン硫酸の生合成を阻害する sodium chlorate もしくは FGFR 阻害剤 PD173074 を添加してマウス全胚培養を行ったところ、*Fgf8* 及び *Fgfr1* 変異に類似の異常を引き起こすことが確認された。まず、原条形成直前の E6.2 胚を阻害剤存在下で培養すると、*Fgf8/Fgfr1* 変異胚同様に原条領域が前羊膜腔に突出した。次に、原条が出現する E6.5 胚を阻害剤で処理した場合、原条領域の突出は観察されず、*Fgf8/Fgfr1* 変異胚に生じる各種マーカー遺伝子の発現異常が観察された。例えば、胚後方においては原条領域の *T* の発現は比較的正常に保たれているものの、*Tbx6* の発現は完全に消失した。chlorate 及び PD173074 は原腸陥入期の FGF シグナルを特異的に阻害することができ、FGF シグナルは原腸陥入初期においては EMT に関与し、その後は EMT 制御とは独立して胚体領域の遺伝子発現を制御するものと考えられた。

さらに、胚後方における *Tbx6* 発現の消失は、初期体節期においても短時間の FGF シグナルの阻害で引き起こされた。*Tbx6* はノード周囲で発現し、Notch リガンド *Dll1* の発現を部分的に担っている。crown cell では Notch シグナルにより *Nodal* が発現するため、初期体節期胚を PD173074 もしくは ERK 経路を阻害する U0126 で処理したところ、*Dll1* と *Nodal* 発現が共に消失した。従って、ノードを取り囲む領域における FGF/ERK シグナルは、*Tbx6*-*Dll1* カスケードによって crown cell に *Nodal* 発現を誘導するものと考えられる。ノードの *Nodal* は、その後の左側側板中胚葉における *Nodal* 発現を誘導する。原条領域における FGF シグナルは、持続的に *Tbx6* の発現を誘導することで胚後方の形態形成を司ると共に、ノードにおける *Nodal* 発現を誘導し、引き続き左右軸形成を制御しているものと考えられる。

(3) EpiSC の安定培養・樹立方法の開発

Wnt カノニカル経路を抑制する為、EpiSC を tankyrase 阻害剤である XAV939 で処理した後に ISH 及び qPCR で遺伝子発現変動を調べた。まず、EpiSC は不均一な細胞集団であることが ISH により明らかになった。中内胚葉マーカー(*T*, *Sox17*, *Cer1*)は EpiSC コロニー中の一部の細胞で発現しており、多分化能因子(*Oct3/4*, *Sox2*, *Nanog*)の発現は細胞間で発現量が異なっていた。XAV939 処理した EpiSC では中内胚葉マーカー遺伝子の発現が消失し、*Oct3/4*, *Sox2*, *Nanog*の発現が均一化した。特筆すべきは、これらの遺伝子発現変化と一致して、EpiSC コロニーの未分化形態を容易く維持することが可能になった。さらに、 β -catenin を欠失した EpiSC を樹立し、これらの遺伝子発現を調べた所、XAV939 処理と同等な多分化能因子の発現量変動が観察され、分化誘導処理による原条マーカー *T* 及び神経上皮マーカー *Pax6* の発現が出現することもなかった。以上の観察から、EpiSC における Wnt カノニカル経路の抑制は、未分化状態の維持に働くことが明らかになった。次に、EpiSC 樹立時における XAV939 添加の効果を確認した。XAV939 と ROCK 阻害剤 Y27632 を同時に添加し、初代培養エピソードをトリプシンで個々の細胞にまで解離してフィーダー上に播種すると、その細胞のほとんどが EpiSC のコロニーを形成した。このことは、XAV939 の EpiSC 樹立における極めて高い未分化維持作用を示している。

EpiSC のキメラ胚による新たな多分化能評価方法を開発する為、着床後の E6.5 胚に解離した EpiSC を注入し全胚培養することを試みた。二日間の培養の後、EpiSC 由来細胞が尿膜、羊膜、体節、心臓、神経上皮等の様々な組織に認められた。胚の各組織に組み込まれた EpiSC が適切に分化しているかの評価は今後の課題であるが、EpiSC の多分化能評価方法として利用出来ると考えられる。

(4) ノードにおける *Wnt3* 発現制御機構

crowd cell で、*Wnt3* が左右非対称に発現することを見出した。*Wnt3* は、*Nodal* 及び *Cer12* よりも早くから左側優位の非対称性を示す。*Wnt3* の発現を担うエンハンサーを Tg マウス法で解析し、*Wnt3* 発現を担うエンハンサー NDCE を同定した。このエンハンサーは、*Rbpj* と *FoxA2* 結合配列によって制御されており、*Rbpj* はノード pit cell では *FoxA2* によるエンハンサー活性を抑制し、Notch シグナルを受ける crowd cell では *Rbpj* は *FoxA2* と協調的にエンハンサー活性を亢進させた。同様な制御は *Nodal* のエンハンサー NDE でも観察され、ノードにおける共通の発現制御機構であることが示唆された。 γ -secretase 阻害剤 DAPT (Notch シグナルを阻害) を添加した全胚培養では、crowd cell における *Nodal* と *Wnt3* のみならず、*Gdf1* 及び *Cer12* の発現も消失した。この結果は、

Nodal 活性制御因子がセットとして Notch シグナルに発現誘導されていることを示唆するものである。

次に、ノードにおける Wnt カノニカル経路の役割を明らかにする為、XAV939 を添加した全胚培養を行った所、*Cer12* の発現は亢進し左右対称になった。逆に GSK3 阻害剤である CHIR99021 を添加して全胚培養を行うと、*Cer12* 発現は減弱した。従って、ノードにおける Wnt カノニカル経路は crowd cell における *Cer12* 発現を右側優位に制御していることが示唆された。

(5) 臓側内胚葉上皮組織とマイクロオートファジー

マウスの初期胚の臓側内胚葉(VE)は明確な極性をもつ単層上皮組織であり、母体と胚の栄養の受け渡し、さらには、形態形成のシグナルセンターとして機能する。VEは活発にエンドサイトーシスを行っており、そのターミナルとして巨大な頂端液胞(apical vacuole)を有する。全胚培養でエンドサイトーシスの時系列を追ってみると、細胞外の物質をとりこんだエンドソームが液胞に接着し、その後、エンドソームと液胞の内容物が混合するが、その直前にエンドソームが液胞の「中」にある像を得た。電子顕微鏡観察によって二重の膜で囲まれたエンドソーム様の構造が液胞の内腔に存在することが認められた。以上の観察から、エンドソームが頂端液胞に「食べられた」のち、エンドソーム膜と液胞膜が分解されて、エンドソームの内容物が液胞内にリリースされる、いわゆるマイクロオートファジーが起きていると推測された。マイクロオートファジーによる内容物の配送では膜を壊すプロセスが必須となる。膜分解を阻害する薬剤 (orlistat) 存在下では、エンドソームが液胞内に蓄積するものの、内容物の混合は起きない。これらの結果より、VEではマイクロオートファジーによってエンドサイトーシス経路が機能していると結論した。

(6) VEのエンドサイトーシスに関わる *mVam2* と *rab7* タンパク質

高等動物細胞でのマイクロオートファジーに関してはメカニズムや生理機能、さらには現象そのものに関して不明な点が多く、初期発生のシグナルセンターであるVEで見いだされたことはたいへん興味深い。エンドサイトーシス経路を制御している *Vam* タンパク質群は酵母の液胞形成に機能している。VEでの液胞形成のメカニズムと生理機能を明らかにすることを目指し、*mVam2*, *rab7* 遺伝子を欠失するマウスを作出したところ、どちらの遺伝子欠損マウスも E6.5 でパターンングに異常が出始め、中胚葉誘導はおきるものの、胚体外もしくは胚体中胚葉の組織構築が阻害されて胎性致死となることがわかった。これらの変異胚では E5.5-6.5 の VE での頂端液胞が形成されておらず、時間差をもって取り込まれ

たエンドサイトーシスマーカーの融合が起きない。さらにはマイクロオートファジーも阻害される。したがって、VEでのマイクロオートファジーにはmVam2タンパク質、ab7タンパク質の機能が必須であることがわかった。

(7) シグナル伝達調節とエンドサイトーシス

マイクロオートファジーを伴うエンドサイトーシス経路に欠損を示すmVam2胚に着目し、E6.5以降にみられる発生異常を詳細に解析したところ、mVam2変異胚では、Nodal, Fgf, Wntの活性化パターンは、野生型のそれと本質的な差がみられなかった。一方、BMPシグナルの活性化状態をBMP経路の細胞質メディエーターであるSmad1/Smad5のリン酸化状態で検討すると、本来、BMPシグナルが不活性化されていなければならない遠位部でも活性化されていた。BMPシグナル不活性化の欠損は胚組織、初代培養細胞に共通してみられる。細胞外から与えたBMP4分子と受容体の細胞内輸送を検討したところ、mVam2機能がシグナル装置をリソソームで分解するのに必要であることがわかった。mVam2依存のエンドサイトーシス経路は、原腸陥入に前後してBMPシグナルを細胞内分解コンパートメントに送り込んで不活性化し、シグナルの時間的・空間的パターンを確立すると結論した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計29件)

Wada, Sun-Wada, Kawamura, Aoyama: Role of microautophagy in embryogenesis. *Curr Opin Genet Dev* in press, 2014 査読有り

Sumi, Oki, Kitajima, Meno: Epiblast ground state is controlled by canonical Wnt/ β -catenin signaling in the postimplantation mouse embryo and epiblast stem cells. *PLoS One* 8, e63378, 2013 査読有り 10.1371/journal.pone.0063378

Kitajima, Oki, Ohkawa, Sumi, Meno: Wnt signaling regulates left-right axis formation in the node of mouse embryos. *Dev Biol*, 380, 222–32, 2013 査読有り 10.1016/j.ydbio.2013.05.011

Wada et al.: Positive and negative regulation of developmental signaling by the endocytic pathway. *Curr Opin Genet Dev* 23, 391–398, 2013 査読有り 10.1016/j.gde.2013.04.002

Sun-Wada and Wada: Vacuolar-type proton pump ATPases: Acidification and pathological relationships. *Histol Histopathol* 28, 805–815, 2013 査読有り DOI なし

Inacio, Meno (7名中5番目) et al.: The Dynamic Right-to-Left Translocation of Cerl2 Is Involved in the Regulation and Termination of Nodal Activity in the Mouse Node. *PLoS One* 8, e60406, 2013 査読有り 10.1371/journal.pone.0060406

Wada: Vacuoles in mammals: A subcellular structure indispensable for early embryogenesis. *BioArchitecture* 3, 13–19, 2013 査読有り 10.4161/bioa.24126.

Wada et al.: Microautophagy in the visceral endoderm is essential for mouse early development. *Autophagy* 9, 252–254, 2013 査読有り 10.4161/auto.22585

Aoyama, Wada (6名中6番目) et al.: Spatial restriction of bone morphogenetic protein signaling in mouse gastrula through the mVam2-dependent endocytic pathway. *Developmental Cell* 22, 1163–1175, 2012 査読有り 10.1016/j.devcel.2012.05.009

Kawamura, Wada (7名中7番目) et al.: Delivery of endosomes to lysosomes via microautophagy in the visceral endoderm of mouse embryos. *Nature Communications* 3, 1071, 2012 査読有り 10.1038/ncomms2069

Takasuga, Wada (22名中20番目) et al.: Critical roles of type III phosphatidylinositol phosphate kinase in murine embryonic visceral endoderm and adult intestine. *PNAS* 110, 1726–1731, 2012 査読有り 10.1073/pnas.1213212110

Noda, Oki, Kitajima, Harada, Komune, Meno: Restriction of Wnt signaling in the dorsal otocyst determines semicircular canal formation in the mouse embryo. *Dev Biol* 362, 83–93, 2012 査読有り 10.1016/j.ydbio.2011.11.019

Sun-Wada, Wada (6名中6番目) et al.: Generation of chicken monoclonal antibodies against the $\alpha 1$, $\alpha 2$, and $\alpha 3$ subunit isoforms of vacuolar-type proton ATPase. *Hybridoma* 30, 199–203, 2011 査読有り 10.1089/hyb.2010.0087

Oki, Kitajima, Meno: Dissecting the role of Fgf signaling during gastrulation and left-right axis formation in mouse embryos using chemical inhibitors. *Dev Dyn* 239, 1768–1778, 2010 査読有り 10.1002/dvdy.22282.

Kinouchi, Wada (14名中5番目) et al.: The (pro)renin Receptor/ATP6AP2 is essential for vacuolar H^+ -ATPase assembly in murine cardiomyocytes. *Circulation Research* 107, 30–34, 2010 査読有り 10.1161/CIRCRESAHA.110.224667

Sun-Wada, Wada: Vacuolar-type proton pump ATPases: roles of subunit isoforms in physiology and pathology. *Histology and Histopathology* 25, 1611–1620, 2010 査読有り DOIなし

Hashimoto M, Meno C (11名中6番目) et al.: Planar polarization of node cells determines the rotational axis of node cilia. *Nature Cell Biology* 12, 170–176, 2010 査読有り 10.1038/ncb2020.

Oki, Kitajima, Meno (7名中7番目) et al.: Reversal of left-right asymmetry induced by

aberrant Nodal signaling in the node of mouse embryos. *Development* 136, 3917-3925, 2009 査読有り 10.1002/dvdy.22282.

〔学会発表〕(計 27 件)

Kitajima, Oki, Sumi, Meno: Wnt signaling regulates the left-right axis formation in the node of mouse embryos. 第46回発生生物学会 2013年5月26日~5月30日 松江

Kitajima, Oki, Sumi, Meno: Wnt signaling regulates the left-right axis formation in the node. *Mouse Molecular Genetics*, 2013年9月18日~9月21日 Cambridge, UK

蜂須賀正紘、福嶋恒太郎、加藤聖子、目野主税: グルコースはマウス初期胚で左右軸形成の異常を誘発する. 第37回 日本産科婦人科栄養・代謝研究会 2013年8月29日~8月30日 大宮ソニックシティホール

Wada et al.: Rab7-dependent microautophagy in the visceral endoderm is essential for mouse early development. *Experimental Biology* 2013, 2013年4月21日 Boston, USA

Yoh Wada: Microautophagic assembly of large vacuoles in mammalian embryonic tissues. CSH- Asia Conference: Membrane Protein Structure & Function, 2013年05月14日 蘇州・中国

Yoh Wada: Endosome dynamism during early embryogenesis. *Mouse Molecular Genetics*, 2013年09月18日~9月21日 Cambridge, UK

Yoh Wada et al.: Rab7-dependent microautophagy in gastrulating mouse embryo. Cold Spring Harbor Asia Meeting on The Small GTPases at Different Scales: Proteins, Membranes, and Cells, 2012年09月25日 CSHL-ASIA, Suzhou, China

Yoh Wada: Delivery of endosomes to lysosomes via microautophagy in the visceral endoderm of mouse embryos. The 6th International Symposium on Autophagy, 2012年10月30日 Busena, Nago, Okinawa, Japan

Yoh Wada: Endosome dynamism during early embryogenesis Hong Kong Society for Developmental Biology Symposium: From Embryology to Disease Mechanisms, 2012年11月26日~11月27日, HK Academy of Medicine, Hong Kong

Yoh Wada: Endocytic organelles in mouse gastrulae: multiple roles in spatiotemporal signalling during early embryogenesis. 第63回日本細胞生物学会 June 29, 2011 Hokkaido University, Sapporo, Japan

Yoh Wada: Endocytic regulation of BMP signalling during mouse gastrulation. EMBO workshop on Lineage Commitments May 26, 2011, Provinciehuis, Lueven, Belgium

沖 真弥, 目野 主税: マウス初期発生における Fgf シグナルの役割 -化学的阻害剤を用いた高時間分解能解析-. 第43回日本発生生物学会年会, 2010.06.21. 京都市

Wada et al.: Spatial restriction of BMP signalling in mouse gastrula by the endocytic pathway. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Vertebrate Organogenesis 2010. 4. 27 New York, U. S. A

Wada et al.: Delivery of endosomes to lysosomes via microautophagy in the visceral endoderm of mouse embryo Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Mouse Genetics 2010. 10. 27 New York, U. S. A

Sun-Wada et al.: Late endocytic pathway in mouse embryos: implication in spatiotemporal signaling during gastrulation. The 16th International Conference of the International Society of Differentiation 2010. 11. 18 奈良市

和田 洋: エンドサイトーシスから初期胚発生をみる. 第62回日本細胞生物学会大会 2010. 5. 20 大阪市

Oki et al.: Reversal of left-right asymmetry induced by aberrant Nodal signaling in the node of mouse embryos. 第32回日本分子生物学会年会 2009年12月 横浜

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.dev.med.kyushu-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

目野 主税 (MENO, Chikara)
九州大学・医学研究院・教授
研究者番号: 20311764

(2) 研究分担者

和田 洋 (WADA, Yoh)
大阪大学・産業科学研究所・准教授
研究者番号: 50212329

(3) 連携研究者

北島 桂子 (KITAJIMA, Keiko)
九州大学・医学研究院・助教
研究者番号: 00332784

沖 真弥 (OKI, Shinya)
九州大学・医学研究院・助教
研究者番号: 90452713