

細胞の挙動を調べてほ乳類胚を考える

ほ乳類の受精卵は対称な形をしているが、細胞分裂を繰り返し発生が進むと明確な軸をもった胚の形ができあがり、様々に分化した細胞が秩序だって配置される。受精から体の大まかなプランが明らかになるまでの間、胚の細胞や遺伝子の挙動を観察し、どうやって将来の体作りのプランに関する情報が形成されるかを明らかにしたいと考えている。顕微鏡の上で胚発生を進め、それを連続的に観察する系を開発し、発生中の胚のライブイメージングを中心的なアプローチとして研究を進めている。ほ乳類の胚発生は卵管・子宮内で進むのが大きな特徴であるが、この胚発生を支える環境としての卵管および子宮と胚との相互作用についても研究を進めている。個々の細胞の振る舞いや胚の細胞の中の変化をじっくり観察しながら、組織間、細胞間のコミュニケーションを通して作られる細胞の集団としての胚の形作りを理解したい。

Members

教授
藤森 俊彦

助教
小山 宏史
野々村 恵子

技術課技術職員
岡 早苗

NIBB リサーチフェロー
石 東博

日本学術振興会
外国人特別研究員
Timothy Day

博士研究員
中能 祥太

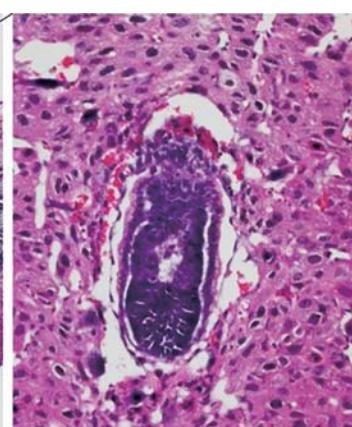
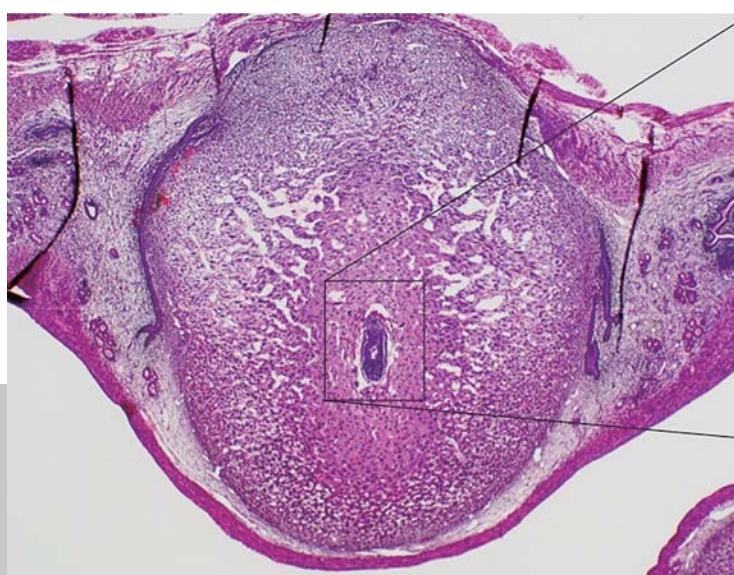
総合研究大学院大学
大学院生
龜水 千鶴
伊藤 智昭
宇佐美 文子

技術支援員
樋口 陽子

事務支援員
加藤 あづさ



マウス受精卵と、12日目胚
対称な形の受精卵から、前後、背腹、左右といった軸をもつ体を作られる。
この形はどのようにしてきめられるのだろうか。



子宮の中のマウス 6 日目胚
小さな胚の領域（右）だけでなく、子宮の様子も発生に応じて大きく変化する。

ほ乳類胚の発生

ほ乳類の発生初期は、母親の卵管、子宮の中で進み、発生途上の胚の解析は他の動物に比べて難しい。細胞の分裂や配置、分化の制御などといった発生の様式が個体間で良く保存されるモザイク的発生をする動物の胚は、これまでの発生研究の中心的役割を果たしてきた。一方で、ほ乳類の初期発生では、分裂パターンや細胞の配置は個体間で異なりバラエティーに富んでいる。このように一見個々の細胞が自由に振る舞っているように見えるほ乳類の胚でも、個体によらず、ほぼ同じ胚の形が作られることから、細胞間のコミュニケーションが重要であることがわかる。我々は、将来の細胞分化、体軸、細胞の配置、胚の形態に関する情報がどう生み出され具現化されるかを明らかにしたい。マウス初期胚を主な研究対象とし、胚の中における個々の細胞や遺伝子発現、タンパク質の挙動の解析を通して、発生学でまだ十分に理解されていない本質的な問題を明らかにできると考えている。

連続観察によるアプローチ

受精卵から着床前までの胚の全ての細胞の系譜を染色体をEGFPで標識した胚の連続観察、細胞の追跡によって解析した結果、胚盤胞における胚-非胚軸は細胞系譜に依存せずに決まることが示唆された。タイムラプス画像を用いて解析すると、時間軸を自由に往来しながら解析することができ、将来の分化運命を知った上で特定の細胞がどこに由来したかを明らかにすることが可能である。分化に重要な遺伝子発現を蛍光タンパク質によって可視化したマウスの作製、その胚の連続観察を進め個々の細胞での発現の動的挙動を解析した。分化形質や運命の決まる時期によって、細胞の運命の決まり方が異なることが明らかになった。分化形質を決める為には細胞間の相互作用も重要であるため、モノクローナル抗体作製により着床前後の時期に発現する細胞間相互作用に関わる分子群を新たに同定し、それらの発生における発現や機能解析を目指している。また、胚を形成するそれぞれの細胞が、どのような形をしていて細胞内小器官がどんな違いを持っているかなども連続的に観察できる系を構築している。これらの時

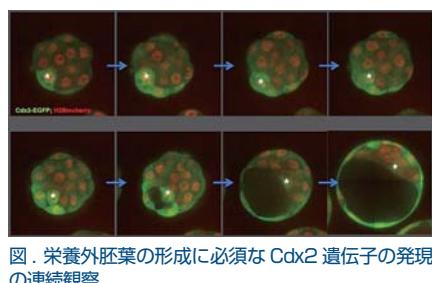


図. 栄養外胚葉の形成に必須な Cdx2 遺伝子の発現の連続観察

異なることが明らかになった。分化形質を決める為には細胞間の相互作用も重要であるため、モノクローナル抗体作製により着床前後の時期に発現する細胞間相互作用に関わる分子群を新たに同定し、それらの発生における発現や機能解析を目指している。また、胚を形成するそれぞれの細胞が、どのような形をしていて細胞内小器官がどんな違いを持っているかなども連続的に観察できる系を構築している。これらの時

間的・空間的に連続した胚発生の観察によって、更に新しい知見が得られると期待している。

卵管・子宮の形成と、胚との相互作用

ほ乳類発生は母親の卵管、子宮において進み、それとの相互作用は発生において必須であり、胚を支える環境としての卵管・子宮の形成や機能の解析を進めている。卵管・子宮は一様な管ではなく、それぞれの領域や胚の発生段階に応じてその果たす役割が異なる。卵管は卵巣から放出された卵を子宮へ向けて輸送するが、その間に受精がおき卵割期の初期の胚発生も進行する。卵管の内腔面の上皮細胞は管の長軸に沿った明確な細胞極性を有しており、それぞれの細胞がどのように極性を形成・維持するかはまだ未解明であり、この点を解明すべく研究を展開中である。更に、胚発生と平行して子宮の組織も大きく変貌する（左ページ下図）が、胚が着床する場所がどのように決まるか、胚との同調はどのように取られていて、胚発生をどう支えているかなどは今後の課題である。

今後の研究展開

ほ乳類初期発生における軸形成、細胞分化、形態形成の基盤となる機構を明らかにすることを大目標に据え、マウスの遺伝子操作、発生工学的技術、分子生物学的手法、更に顕微鏡技術などを応用し、発生生物学の基礎的な問題を解決したいと考えている。取得した画像データを定量的に解析し、現象の数理的記載、モデル化を視野に入れて研究を進める。ほ乳類胚の発生を支える環境である卵管、子宮と胚との関係を含め、胚発生・形態形成を総合的に理解することを目指す。ゆるやかに情報の具現化を進めるほ乳類初期胚を考えることで、生き物の持つ高い能力の理解に近づきたい。

参考文献

1. Toyooka, Y., Oka, S., and Fujimori, T. (2016). Early preimplantation cells expressing Cdx2 exhibit plasticity of specification to TE and ICM lineages through positional changes. *Dev Biol.* 411:50-60.
2. Shi, D., Komatsu, K., Hirao, M., Toyooka, Y., Koyama, H., Tissir, F., Goffinet, A.M., Uemura, T., and Fujimori, T. (2014). Celsr1 is required for the generation of polarity at multiple levels of the mouse oviduct. *Development* 141, 4558-68.
3. Abe, T., Kiyonari, H., Shioi, G., Inoue, K., Nakao, K., Aizawa, S., and Fujimori, T. (2011). Establishment of conditional reporter mouse lines at ROSA26 locus for live cell imaging. *Genesis*, 49(7), 579-90.
4. Fujimori, T. (2010). Preimplantation development of mouse: A view from cellular behavior. *Dev. Growth and Differ.* 52, 253-262.
5. Kurotaki, Y., Hatta, K., Nakao, K., Nabeshima, Y., and Fujimori, T. (2007). Blastocyst axis is specified independently of early cell lineage but aligns with the ZP shape. *Science* 316, 719-723.

教授
藤森 俊彦



助教
小山 宏史



助教
野々村 恵子

