

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	石 東博
論文題目	マウス卵管上皮の形態形成において平面内細胞極性因子が果たす役割		
(論文内容の要旨)			
<p>動物の器官は多様な機能を果たすべく巧妙に3次元空間に形作られる。その器官の一つである卵管は卵巣と子宮をつなぐ管であり、哺乳類では卵巣から排卵された卵が卵管を通過して子宮へと運ばれる。卵管上皮には多くの繊毛細胞があり、いずれの繊毛も卵巣から子宮への分泌液の流れを作り出すべく非対称な繊毛運動を行う。また、卵管上皮は卵管内腔にせり出して立体的なヒダ構造をとり、これらのヒダ構造は卵巣—子宮軸に平行に配向する。これらの観点から、マウス卵管は様々な規模の極性を有する機能的な器官と言えるが、その極性の形成機構は未解明だった。</p> <p>申請者はまず、マウス卵管上皮の繊毛運動に着目して繊毛運動周波数を測定すると共に、卵管上皮の繊毛運動のみによっても卵丘・卵母細胞複合体が子宮側へ輸送されることを観察した。これらにより、極性をもった繊毛運動が卵の輸送において重要な役割を果たすことが示された。</p> <p>卵管上皮の繊毛運動のように、上皮細胞が上皮シート内の一定の軸に沿って発達させる極性を平面内細胞極性(Planar cell polarity; PCP)と呼ぶ。申請者は種を越えて保存されているPCP調節タンパク質に着目し、卵管上皮の形態形成における役割を解析した。PCP調節タンパク質の中のいくつかは、細胞極性の形成に先立って、細胞内で非対称な局在をすることが知られている。その一つである7回膜貫通型カドヘリンCelsr1タンパク質は、卵管上皮細胞において繊毛形成に先行して、卵巣—子宮軸に対しておおむね垂直な方向に伸びている細胞境界上に強く集積することが分かった。</p> <p>次に、申請者はCelsr1遺伝子を欠損したマウスの卵管を観察した。Celsr1変異マウスの卵管上皮では、繊毛運動の方向が乱れ、繊毛運動による輸送能も損なわれていた。また、卵管上皮のヒダは形成されたものの、卵巣—子宮軸に沿って配向しておらず、異常な分岐も見られた。さらに、個々の細胞の頂端面の形状にも異常が検出された。野生型の卵管上皮では、細胞の頂端面はヒダに沿って伸長していることを卵管上皮の新たな細胞極性の一つとして申請者は見出したが、Celsr1変異マウスの卵管上皮では細胞が伸長せず、より丸い形態を示し、細胞の長軸方向もヒダに沿っていないことが分かった。</p> <p>以上のように、Celsr1タンパク質が卵管上皮の平面内の繊毛運動の方向から、個々の細胞の伸長方向、そして3次元のヒダ形成に至るまでの、多階層の極性形成に必要なことが分かった。そこで、Celsr1タンパク質がどのようにこれらの極性形成を制御しているかを調べるために、申請者はCelsr1変異細胞を用いたモザイク解析を行った。その結果、ヒダ構造の形態の極性に比べ、頂端面の細胞極性がより直接的にCelsr1タンパク質により制御されることが示唆された。最後に、上皮ヒダ構造がどのように正しく配向されるかについて、申請者は力学的シミュレーションなどを用いた解析により検討した。</p> <p>申請者は以上の実験結果と力学的シミュレーションを用いた解析結果を総合し、以下のモデルを提唱した。出生後の卵管の形態形成初期から、Celsr1タンパク質は卵巣—子宮軸に対しておおむね垂直な方向に伸びている細胞境界上に強く集積する。この偏ったCelsr1タンパク質の局在により、上皮頂端面で細胞は卵巣—子宮軸にそって伸長する。この細胞形態の極性によって、上皮のヒダが卵巣—子宮軸に平行に揃えられる。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

哺乳類において、卵巣より排卵された卵は卵管に移動して受精を行い、さらに子宮へと運ばれて着床を経て発生が進む。申請者は卵管上皮の繊毛運動周波数を測定できる観察・解析系を立ち上げ、マウス卵管上皮の繊毛運動周波数の測定に成功した。また、卵管上皮によって卵丘・卵母細胞複合体が子宮方向へ輸送されうることを明らかにした。

卵管上皮の繊毛運動は方向性を持っており、この方向性が卵の輸送に重要な役割を果たすと考えられる。しかし、繊毛細胞がどのようにして卵巣—子宮軸の方向性を獲得するかは明らかになっていなかった。申請者はその機構を解明するために、平面内細胞極性(Planar cell polarity; PCP)を調節するタンパク質の一つとして知られていた7回膜貫通型カドヘリンCelsr1に着目した。

申請者はまず、Celsr1タンパク質が卵管上皮細胞において、繊毛形成に先行して細胞上で偏った局在を示すことを明らかにした。Celsr1は卵巣—子宮軸に対しておおむね垂直な方向に伸びている細胞境界上に強く集積し、このような偏った局在から、PCP調節タンパク質が卵管上皮において機能することが示唆された。

次に、申請者はCelsr1遺伝子を欠損したマウスを用いて解析し、Celsr1タンパク質が卵管上皮形成に果たす役割を調べた。Celsr1変異マウスの卵管上皮において、繊毛運動の方向、各繊毛の運動の向きを示すbasal footと呼ばれる構造の向き、繊毛運動によるビーズの輸送方向のいずれにおいても異常が見られ、繊毛の平面内極性がCelsr1タンパク質によって制御されていることが明らかになった。また、申請者は正常な卵管上皮細胞の頂端面が卵巣—子宮軸に沿って伸長していることを発見し、この細胞形態の極性がCelsr1変異マウスでは損なわれていることを見出した。さらに、Celsr1変異マウスでは卵管上皮のヒダ構造の方向性が乱れることも分かった。これらの結果より、Celsr1タンパク質が卵管上皮の多階層にわたる極性形成を制御していることが明らかになった。

Celsr1タンパク質がどのように卵管上皮の細胞形態の極性と、ヒダ構造の極性を制御しているのか、両者の関係を探るため、申請者はCelsr1変異細胞を用いてキメラマウスを作成し、モザイク解析を行った。あるヒダに、数百細胞程度かそれ以下から成るCelsr1変異細胞クローンが含まれた場合、そのヒダ全体の形状に異常は検出できなかった。しかし、変異細胞クローンに隣接する野生型細胞の形態は正常なものにもかかわらず、変異細胞の形態は異常になり、Celsr1タンパク質は細胞形態を細胞自律的に制御することが示された。Celsr1変異マウスの卵管上皮に見られたヒダ構造の極性の異常は、多数の細胞の形態が異常になったために引き起こされた二次的な結果であることが示唆された。

以上に加え、申請者は力学的な観点からもヒダ構造の極性形成機構を研究した。また、PCP形成機構を探るためPCPを制御するタンパク質と蛍光タンパク質との融合タンパク質の強制発現や、初代細胞培養系の確立など様々なアプローチに取り組んだ。

本論文の全編を通して、申請者の生命科学に関する優れた研究能力と高度で幅広い学識が示されている。そして、これまでほとんど研究されてこなかった卵管の形態形成機構の解明に取り組み、生命科学の理解に貢献した。種を超えて保存されているPCPタンパク質の機能についても、先行研究では示されていない生命科学の発展に寄与する新しい発見と概念が含まれており、論理的かつ一貫性をもって記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

平成26年10月6日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日：平成27年2月24日