

論文内容の要旨

申請者氏名 唐岩 藍翔梨

脊椎動物の発生過程では、器官前駆細胞が胚内のある部位に出現し、その部位から集団を形成しながら移動した後、細胞が協調的に分化することで、胚内の適切な部位に機能を持つ器官が形成される。これまでの国内外の研究によって、細胞の集団移動の分子機構は *in vitro* の培養系などを用いてある程度解明されてきているが、生体内においては、動く細胞群の周辺にはその他の細胞が存在し、それら周辺細胞を含めた外環境もダイナミックに変化するため、両者の関係性は十分には理解されていなかった。そこで本研究では、器官前駆細胞が集団移動することで形成されることが知られているゼブラフィッシュの側線器官をモデルとして、動く細胞と周辺細胞の関係性を解析することにした。

側線器官は、魚類などで水流を感知するための感覚器であり、ゼブラフィッシュでは、受精後 22 時間頃に耳胞の後ろに出現した側線原基（約 100 個の器官前駆細胞）が尾部方向へ向かって集団移動し、受精後 48 時間の頃までに尻尾の先まで到達することによって形成される。この移動は、背側と腹側の筋肉を分断する中隔構造（Horizontal myoseptum, HMS 構造）と隣接して起こり、しかも、HMS 構造を構成する Muscle pioneer 細胞（MP 細胞）、Medial fast fiber 細胞（MFF 細胞）が分化せず、HMS 構造が消失する Shh シグナルの変異体では、直線ではなく、湾曲した側線が形成されることから、HMS 構造が側線原基の移動に関与することが示唆されている。しかし、これら変異体では、胚全体で Shh シグナルが活性化できないため、側線原基自体の移動能や HMS 以外の組織においても、異常や欠損が生じていて、2 次的に側線原基の移動に影響している可能性を排除することができていない。そこで本研究では、任意の場所で HMS の形成を阻害し、その部分での側線原基の移動がどのように変化するかを観察することで、動く細胞と周辺細胞の関係性を解明することにした。

Shh シグナル阻害剤（Cyclopamine）を一過的に処理することにより、MP 細胞、MFF 細胞の分化を阻害したところ、体の後方の部分で、背側、腹側の筋節が融合し HMS 構造が消失した表現系が得られた。この HMS 構造の有無により、側線原基の移動がどのように変化するかをライブイメージングにより解析したところ、HMS 構造がある部分では、側線原基は、HMS に沿って直線状に胚の後方へ向かって移動していたが、HMS がなくなると、その方向性が直線ではなくなり、側線が蛇行して形成されることが明らかになった。また、形成された HMS 構造から、MP、MFF 細胞をレーザーアブレーションによって除去したところ、側線原基の移動の直線性は若干失われるが、胚の後方へ向けての移動は起こることが明らかになった。

以上の結果から、側線原基が正常に集団移動するためには、MP 細胞、MFF 細胞が正常に分化し、HMS 構造が形成されることが不可欠であることが示唆された。よって本研究は、ゼブラフィッシュの側線原基の集団移動をモデルとして解析し、動く細胞と周囲の環境との相互作用の必要性を明らかにした点で重要である。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 唐岩 藍翔梨

細胞の集団移動は、細胞同士が接着性を維持した状態で、協調的に移動する現象である。これまでの *in vitro* での先行研究により、ケモカインシグナルや動くために必要な Rho ファミリー G タンパク質の関与など分子、シグナル機構の解析は進んでいる。しかし、生体内で集団移動する細胞の周辺には、異なる硬さで細胞外基質が配向し、その他の周辺細胞も存在し、しかも、ダイナミックに変化しているため、生体内で細胞集団移動の機構を解明するためには、動く細胞のみならず、周辺細胞と共に観察し、その関係性を詳細に解析する必要があった。そこで申請者は、集団移動のモデルとして活用されていた「ゼブラフィッシュの側線原基の移動」をモデルシステムとして、動く細胞と周辺細胞との相互作用の必要性を解明することを目的に研究を行った。

申請者は、側線原基の直線的な移動を導く周辺環境として、背側、腹側の筋節を分断する中隔構造である Horizontal myoseptum (HMS 構造) に着目し、薬剤 (Shh シグナル阻害剤 Cyclopamine) の一過的な処理によって、処理後に形成される Muscle pioneer 細胞 (MP 細胞)、Medial fast fiber 細胞 (MFF 細胞) の分化が阻害され、身体の後部で、HMS 構造が消失させる実験系を確立した。この部分的に HMS 構造の消失した胚を用いて、ライブイメージングにより側線原基の移動様式を解析したところ、MP 細胞、MFF 細胞が存在し HMS 構造がある身体の前部においては、側線原基は HMS 構造に沿って、直線的に後方へ移動する様子が観察されたが、HMS 構造が消失した後部では、側線原基の移動の直線性が低下し、側線が蛇行して形成されることが明らかになった。この結果から申請者は、MP 細胞、MFF 細胞によって構成される HMS 構造が、側線原基が正常に直線的に集団移動するために必須であると考えた。

また、申請者は、MP 細胞、MFF 細胞によって構成される HMS 構造が構築された後に、レーザーアブレーションにより、MP 細胞と MFF 細胞を筋節の中隔部分から除去する実験も行った。その結果、MP 細胞と MFF 細胞が存在しないにも関わらず、側線原基の移動は、若干蛇行する傾向は認められるものの、直線的に身体の後方へ向かって移動できることが明らかになった。このレーザーアブレーションした部分の構造を詳細に解析してみると、細胞は消失しているにも関わらず、筋節を背側、腹側に分断する中隔構造は依然として残っているため、この部分を目印として移動した可能性が示唆された。以上の結果から申請者は、側線原基の直線的な移動には、Shh シグナルにより MP 細胞と MFF 細胞が分化し、これら細胞が基本となり形成された HMS 構造が不可欠であり、HMS 構造が形成後、MP 細胞と MFF 細胞除去しても側線原基の移動は大きく変化しないことから、HMS 構造に濃縮した因子が関与する可能性を示唆した。

以上のように、本論文は、生体内で起こる動的で複雑な集団移動に必要な細胞間相互作用を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。