

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 平野 咲雪

本論文は二つの章により構成されている。

第一章は、新規細胞張力センサーの作製と神経外胚葉における張力観察に関する研究結果が記述されている。この章では、細胞内張力を非侵襲的かつ広い範囲で観察するために、**FRET (Förster resonance energy transfer)** といわれる現象を利用した改変張力センサーが作製された。**FRET** モジュールは二つの蛍光タンパク質が伸縮性のリンカーで繋がれたものであり、モジュールにかかる張力に応じて **FRET** 効率が変化する。**FRET** を用いた張力センサーは先行研究があるが、そこで用いられているタンパク質は、細胞—細胞間だけでなく細胞—ECM 間にかかる張力も測定されることが想像された。本研究で作製された張力センサーは、**FRET** モジュールを **Lima1 (LIM ファミリーたんぱく質の一種、カドヘリン—カテニン複合体やアクチンフィラメントと相互作用する)** のドメイン間に組み込むことで作製しており、細胞間相互作用のみを特異的に検出するプローブであることが期待される。ここで作製された **Lima1 tension sensor (LimaTS)** を培養細胞に様々な条件下で導入した結果、野生型 **Lima1** と同様の細胞内局在・動態を示し、また想定された通り細胞内張力の変化に応じて **FRET** 効率が変化することが示された。また **LimaTS** をアフリカツメガエル胚に導入して後期原腸胚期の神経外胚葉を観察したところ、左右軸方向に比べて頭尾軸方向により大きな張力が働いていることが示唆されるデータが本文中に記載されている。

第二章では、異方性張力による平面内細胞極性制御についての研究が行われている。張力センサーにより頭尾軸方向の張力が観察された時期、神経外胚葉では頭尾軸方向の平面内細胞極性 (**Planar Cell Polarity: PCP**) が形成されることが知られている。**PCP** とは細胞平面内で一定方向に揃った細胞極性のことであり、組織平面全体にわたって **PCP** の方向を決定する長距離伝達因子については未だに明らかになっていないが、第一章で観察された細胞張力と、**PCP** の方向や出現時期が一致していることから、張力による **PCP** 制御機構が存在すると仮定し、これについて検証が行われている。①組織を切断することで頭尾軸方向の張力を緩和し **PCP** 形成への影響を調べたところ、切断を行った組織では **Prickle3** (**PCP** 形成を制御するコア **PCP** タンパク質の一種) の膜局在が顕著に減少し、**PCP** 形成が阻害されることが示された。②外力により神経外胚葉を頭尾軸方向あるいは左右軸方向に伸展したところ、**PCP** の方向は組織の伸展と同じ方向に変化したことが示された。これらのことから、張力が **PCP** の方向制御に関わることが明らかとなっている。

次に、張力による **PCP** 制御のメカニズムがどのようなものかについて検討がなされている。実験結果から、**PCP** 形成には、張力の絶対的な大きさではなく、張力による細胞形状の変化が重要であることが示唆されたデータが示されている。**PCP** が形成されたどの組織でも、細胞の伸展方向と極性方向とは細胞レベルでよく一致しており、またこの二つの方向の一致はよく伸びた細胞でより顕著である。細胞の伸展方向と極性方向との一致は細胞自律的な現象であることも示唆されており、生体内では、張力によって細胞の伸展方向が一方向に揃うことが、極性方向の整列に寄与しているのではないかと結論づけている。

最後に、張力とは別の PCP 制御因子として知られる Wnt シグナル勾配に着目し、張力との関係性を調べることで、この二つの協力関係について議論されている。想定される Wnt シグナル勾配と張力の方向とが一致した時に最も明瞭な PCP が形成され、この二つが交差したときにはそれらの中間方向への PCP が形成されたことから、生体内では、張力と Wnt シグナル勾配が頭尾方向に揃うことで、同一方向の明瞭な PCP 形成が制御されていると考察が加えられている。

以上の結果を通し、本研究では改変張力プローブを作製しプローブの機能評価を行った上でツメガエル胚に導入することで、胚にかかる張力が組織ごとに異なることを示し、また次の章では、細胞の持つ極性が張力、そして胚の前後軸に形成されているリガンドとの挙動作業により生み出されているということを多くの実験により明らかにしている。胚発生と物理的な力との関係は、近年注目されており様々な研究結果が提出されつつあるもののまだまだ不明な点が多い中、本研究で明らかにされた内容は非常に独創的であり、関連分野の進展にも大きく寄与するものと考えられる。以上の理由から、本論文は博士（学術）の学位請求論文として合格と認められる。

よって本論文は博士（学術）の学位請求論文として合格と認められる。