

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 山下 慧

本研究において論文提出者は、アフリカツメガエルの胚を用い、外胚葉から将来中枢神経系になる神経外胚葉と表皮になる表皮外胚葉がそれぞれ分化する際に、両者の間で細胞の配列や細胞内に発生する張力がどのように変化するかを研究した。

初期発生において、組織の分化の過程で細胞増殖や細胞の変形、再配列が制御されて形態形成が駆動される。この時、形態形成の結果組織にかかる物理的な力が細胞内にシグナルを伝えて遺伝子の発現を制御し、分化にフィードバックされていることが近年の研究から明らかになりつつある。しかし、誘導分子による細胞間相互作用や細胞内のシグナル伝達による遺伝子の発現制御がよく研究されているのに対し、細胞の配列や物理的な性質を研究するための論理的枠組みや実験手法は確立されているものが少なく十分な研究がなされていない。

博士論文は2章構成であり、第一章では細胞配列を定量的に表現し比較する方法について、その研究結果が記載されている。細胞配列の解析では、細胞の再配列の際に観察される細胞間の特徴的な隣接関係に着目し、隣接関係を点と線によって表すグラフモデルによって細胞配列を単純化し、このグラフモデル上で、局所的な隣接関係を表す単位として”小グラフ”を定義し、細胞配列全体にどのような種類の小グラフがどれだけ含まれるかを調べることにより、その細胞配列を表現している。この表現はベクトルに変換されるため、2つの細胞配列を定量的に比較することが可能であり、この方法を用いて外胚葉を解析した結果、原腸胚期中期において神経外胚葉と表皮外胚葉の間で細胞配列が異なっていることを明らかにしている。両者の細胞配列の違いは見た目には明らかではないため、開発した方法はあたらしい強力な解析ツールであるといえる。

第二章では細胞内で張力を測定する分子プローブの機能評価と神経・表皮外胚葉の解析への応用が記述されている。本研究では、細胞内のアクチンフィラメントを架橋する構造タンパク質であるアクチニンを改造して作られた張力センサーを用いて、アクチンフィラメント上に発生している張力の測定を行っている。この種の張力センサーはもともと培養細胞系で開発された手法であり、生体組織に応用された例は未だ少ないため、まず発生中の胚で利用できるかの機能評価が行われている。免疫染色による局在の観察や、蛍光ドメインの退色後の蛍光の回復の解析、薬剤処理や浸透圧の変化による細胞内の張力の変化に対する

応答の解析などから、張力センサーが胚内でも機能的であることが確かめられた。この張力センサーを用いて外胚葉の細胞に発生している張力を測定したところ、原腸胚期から神経胚期にかけて神経外胚葉で表皮外胚葉よりも高い張力が発生していること、原腸陥入の際の細胞及び細胞群の変形の解析から、神経外胚葉では細胞の再配列によって、表皮外胚葉では細胞の変形によって組織全体の形態形成が起こっており、細胞内に発生している張力が細胞に外力がかけられた際の細胞の変形のしやすさと一致していることが示唆されること、などが示されている。このことは、原腸胚期において神経外胚葉と表皮外胚葉がすでに分化しており、細胞内の張力の違いから細胞再配列に差が生じていることを示唆している。以上の結果は、これまでの発生生物学で解析が困難であった現象に対し新しい実験方法を提案し、その応用を実施して重要な意味を含む現象を捉えている点で評価できる。

以上のように、本博士論文では、発生生物学における既存の手法、すなわち分子生物学・生化学的な手法ではなく、数学的・物理的な観点を導入して初期発生のパターンニングを解明しようとするもので、新規性が非常に高い。また、実験手法やデータの提示方法も適切であり、博士論文として質の高いものである。よって、本審査における審査委員の総意をもって、本研究は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいと認定する。