

平成23年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

      2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 特別研究員奨励費      4. 研究期間 平成22年度～平成24年度
5. 課題番号 

	2	2	・	9	3	8	0
--	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 生体内における上皮管組織の形成と伸長の制御機構
7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	アツタ ユウジ	バイオサイエンス研究科	特別研究員 (DC1)
	熱田 勇士		

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

管状組織は上皮細胞によって構成され、それぞれの器官特有の生理機能の発揮に必要な役割を担う。生体内において、このような管形成プロセスは、どのようなしくみで制御されているのだろうか。本研究ではこの問いに答えるため、管形成のモデルとしてトリ胚の**ウォルフ管**（以下「WD」）に注目し研究を行っている。昨年度までに、WD特異的な遺伝子操作法を中心とした解析系を用い、胚内でWD細胞が周辺組織から分泌されるFGF8に誘引されることにより、WDが伸長することを明らかにしてきた。今年度はこの知見を確証し、さらに発展させるため以下の2点について研究を行った。

① FGF8は直接WDを誘引するのか  
 FGF8が間接的に誘引する、つまりFGFの影響で他の因子が活性化されWD細胞を誘引するという可能性を排除するため、WD細胞をディッシュ上で培養し、FGF8の誘引能を解析した。WD細胞はFGF8を染み込ませたビーズに活発に誘引された一方で、FGFシグナル阻害剤であるSU5402存在下では、そのような振る舞いは観察できなかったことから、FGF8はWD細胞の誘引因子であることが証明された。

② FGFシグナルの下流でどのような因子が働くことで、WD細胞の形態が変化するのか。  
 昨年度までにFGFシグナルの阻害により、WDの管上皮化が促進することを見出している。この際、細胞の仮足数が、上皮様でない細胞より大幅に減少していることが観察されたため、FGFシグナルの下流で何らかの因子が細胞形態をコントロールすることでWD形成に寄与していることが推察された。そこで、これまで体節の上皮化をコントロールすることで知られる低分子量Gタンパク質Cdc42に注目した。実際にCdc42がWDの細胞形態をコントロールしているかを調べるために、Cdc42の活性を阻害するN-WASP-CRIBドメインをWD細胞に導入したところ、WD細胞の管上皮化が惹起されることがわかった。これらの結果から、周辺組織から発せられるFGFシグナルがCdc42を活性化し、細胞形態をコントロールすることで、WD形成が進行することが示唆された。

10. キーワード

- |           |            |             |               |
|-----------|------------|-------------|---------------|
| (1) 管形成   | (2) ウォルフ管  | (3) 組織間相互作用 | (4) FGFシグナリング |
| (5) Cdc42 | (6) 細胞の上皮化 | (7)         | (8)           |

11. 現在までの達成度

下欄には、交付申請書に記載した「研究の目的」の達成度について、以下の区分により自己点検による評価を行い、その理由を簡潔に記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。  
 <区分>①当初の計画以上に進展している。 ②おおむね順調に進展している。 ③やや遅れている。 ④遅れている。

(区分) ②おおむね順調に進展している
(理由) ウォルフ管の伸長を支えるメカニズムについて、組織から分子レベル (FGF シグナル) で多くの新規の知見を明らかにできた。さらに、他の管組織の形成過程でもみられる、伸長と管上皮化が協調的に進行するメカニズムについても、FGF シグナルおよびその下流で働くであろう Cdc42 シグナルが大きく関与していることが明らかになりつつある。

12. 今後の研究の推進方策

本研究課題の今後の推進方策について簡潔に記述すること。研究計画の変更あるいは研究を遂行する上での問題点があれば、その対応策なども記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

今後は、実際に FGF8 タンパクの濃度勾配が WD の伸長をナビゲートするのか、Cdc42 が FGF シグナルの下流で活性化するかという2点について解析を行う。まず FGF8 の検出であるが、分泌因子である FGF8 タンパクのシグナルは微弱であることが予想されるため、必要に応じて TSA 増感システムを用いるなどして検出を試みる。また、Cdc42 の活性化については FRET システムを用いて、WD 細胞が FGF に誘因されている際、あるいは FGF シグナルが遮断されている際の Cdc42 の活性化状態をモニターする。
---

13. 研究発表 (平成 23 年度の研究成果)

※ 「13. 研究発表」欄及び「14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況」欄において記入欄が不足する場合には、適宜記入欄を挿入し、それによりページ数が増加した場合は、左端を糊付けすること。

〔雑誌論文〕 計 ( 0 ) 件      うち査読付論文 計 ( 0 ) 件

著者名		論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年			最初と最後の頁
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)						

著者名		論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年			最初と最後の頁
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)						

著者名		論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年			最初と最後の頁
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)						

【学会発表】計（ 3 ）件    うち招待講演 計（ 0 ）件

発表者名	発表標 題		
熱田 勇士	Tubulogenesis using Wolffian duct as a model: FGF signals regulate tubular elongation and cell epithelialization as environmental factors		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
第44回日本発生生物学会大会	2011年5月19日	沖縄コンベンションセンター	

発表者名	発表標 題		
熱田 勇士	Tubular extension and cell epithelialization are coordinately regulated and influenced by adjacent tissues		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
NAIST Global COE サマーキャンプ2011	2011年8月23日	淡路夢舞台国際会議場	

発表者名	発表標 題		
熱田 勇士	Tubule elongation and cell epithelialization are coordinately regulated by FGF signals emanating from adjacent tissues		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
国際シンポジウム「Top Runners ~Women's life in science~」 Satellite workshop	2012年1月19日	奈良先端科学技術大学院大学	

【図 書】 計（ 0 ）件

著 者 名	出 版 社		
書 名	発 行 年	総ページ数	

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

【出 願】 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

【取 得】 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--