

2015年6月15日

医学部発生学(12)：第17章



医学系研究科附属創生応用医学研究センター
脳神経科学コアセンター長
発生発達神経科学分野教授
大隅典子



Center for
Neuroscience,
ART



TOHOKU
UNIVERSITY

本日の講義予定



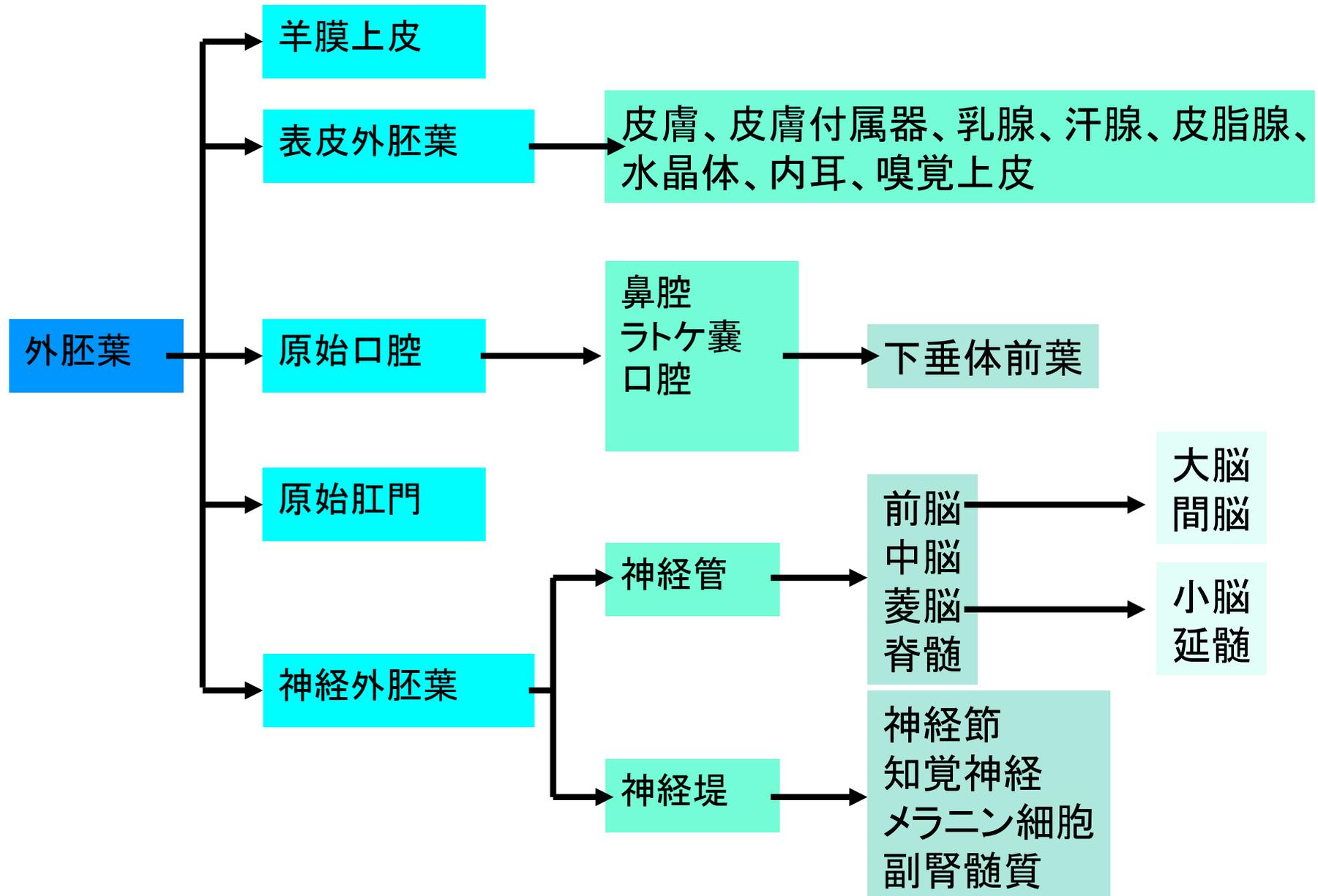
- 6/15(10) : 第9章 (中枢神経系)
- 6/15(11) : 第10章 (末梢神経系)
- 6/15(12) : 第17章 (視覚聴覚器)
- 6/22(13) : 第11章 (呼吸器系・体腔)
- 6/22(14) : 第14章 (消化管)
- 6/22(15) : 第16章 (顎顔面頭頸部)
- 6/29(16) : 第15章 (泌尿生殖器)
- 6/29(17) : 第12章 (心臓) (小椋先生)
- 6/29(18) : 第13章 (脈管系) (小椋先生)

外胚葉由来組織まとめ



- 皮膚の表皮（第7章）
- 中枢神経系（第9章）
- 末梢神経系（第10章）
 - 腸管神経叢などにも寄与
- 顎顔面部（第16章）
 - 内胚葉・中胚葉由来組織も関与
- 感覚器（第17章）

外胚葉由来の主な組織・臓器



第17章まとめ（1）



- 感覚器プラコード
 - 耳プラコード otic placode
 - 水晶体プラコード lens placode
- 聴覚器の発生
 - 耳胞 otic vesicle
 - 内リンパ管 endolymphatic duct
 - 耳管 auditory tube
 - 外耳道 external auditory tube : 咽頭弓との関係
 - ✦ 鼓膜: 第一咽頭溝（裂）と第一咽頭嚢を隔てる膜に由来
 - 外胚葉 + 内胚葉 + 神経堤

種々のプラコード

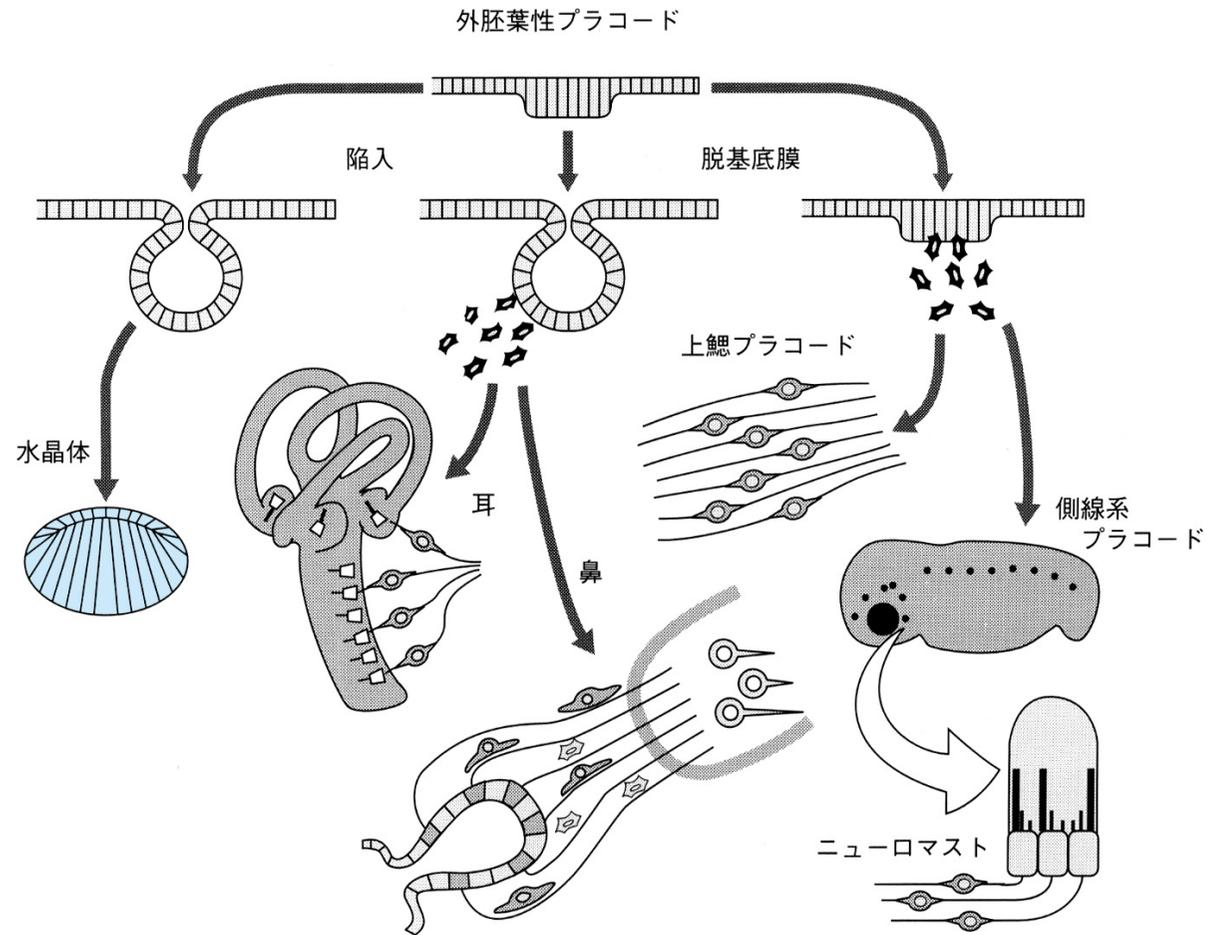
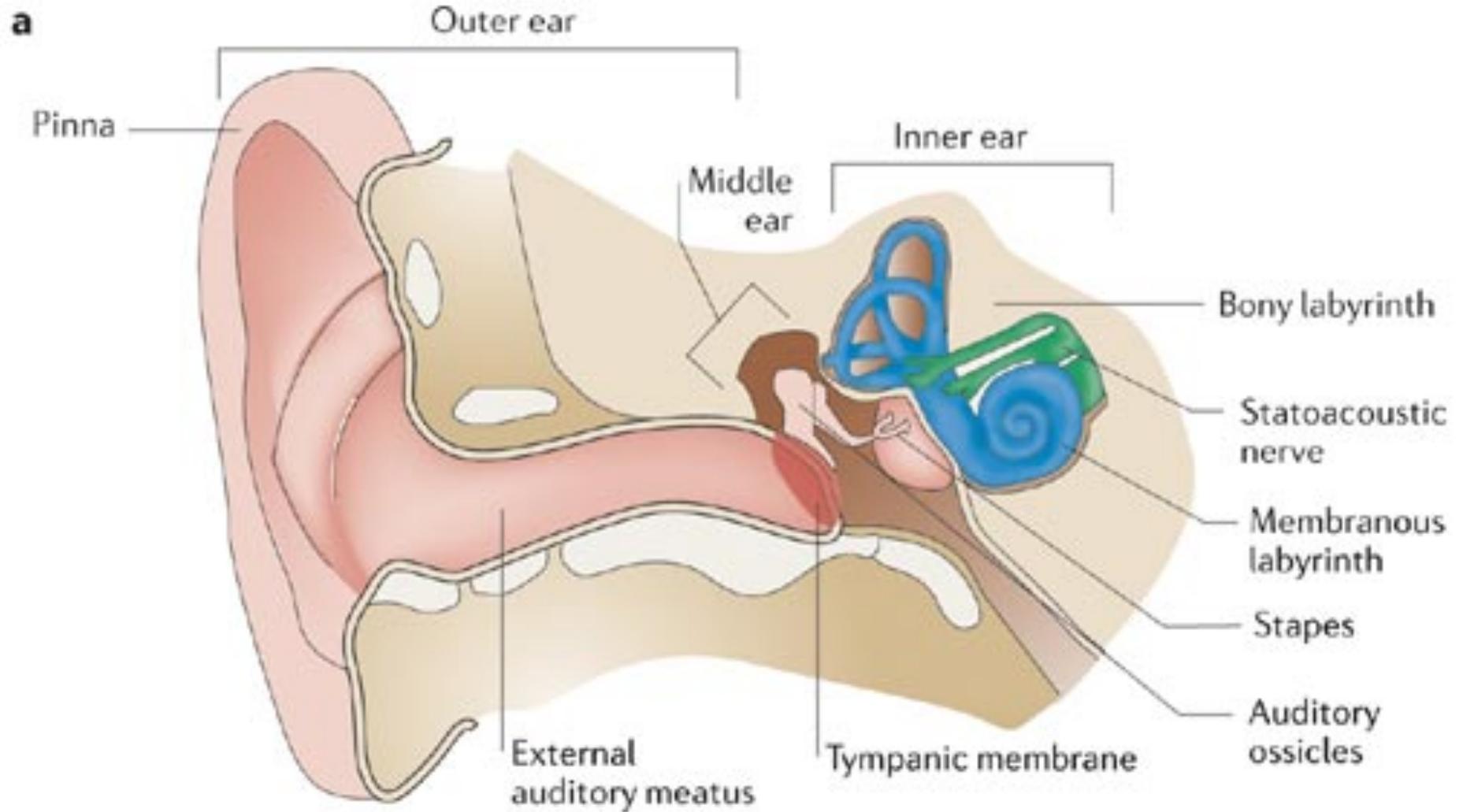
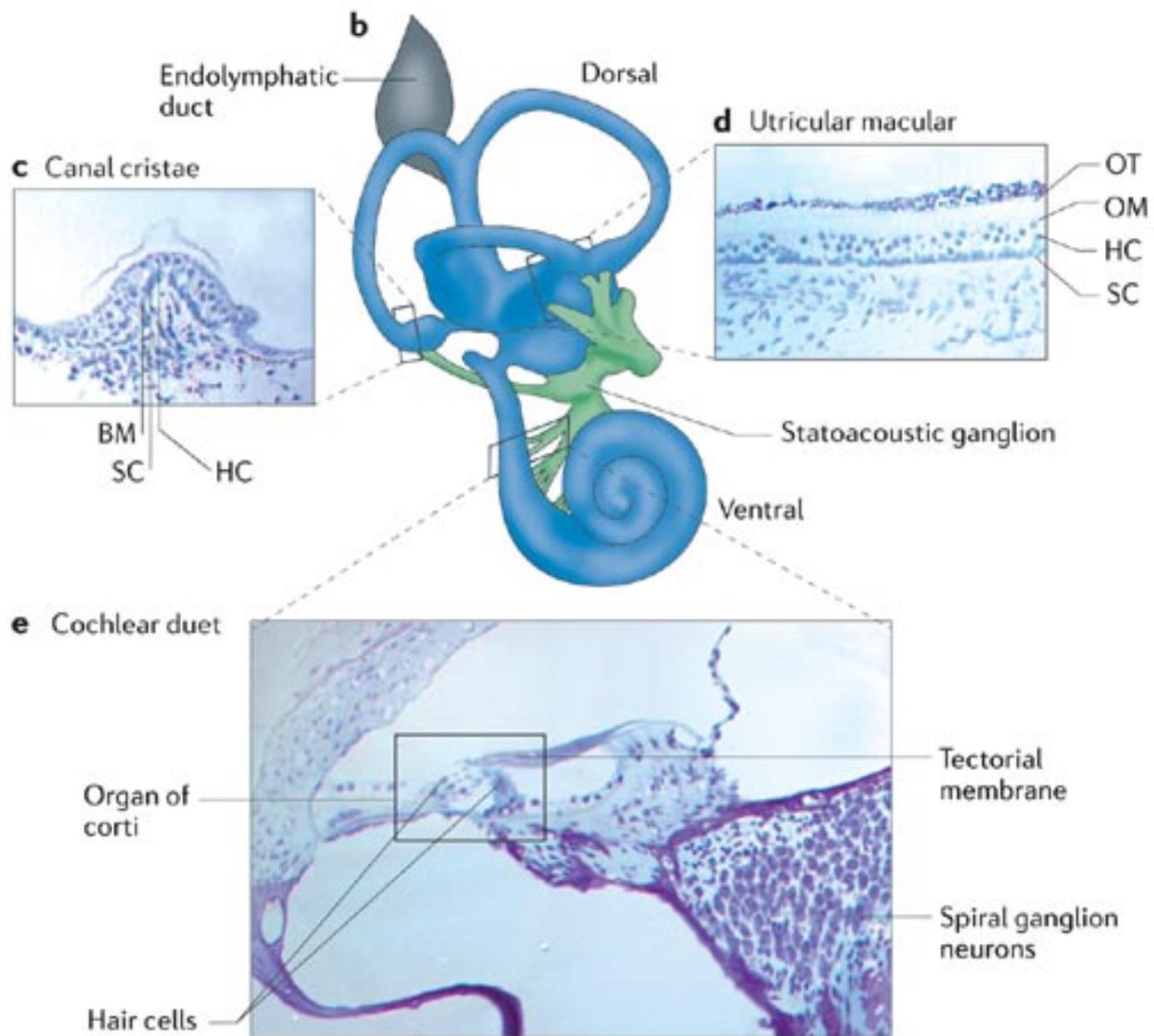


図1 脊椎動物における外胚葉性プラコードに由来する組織 (文献25より改変)

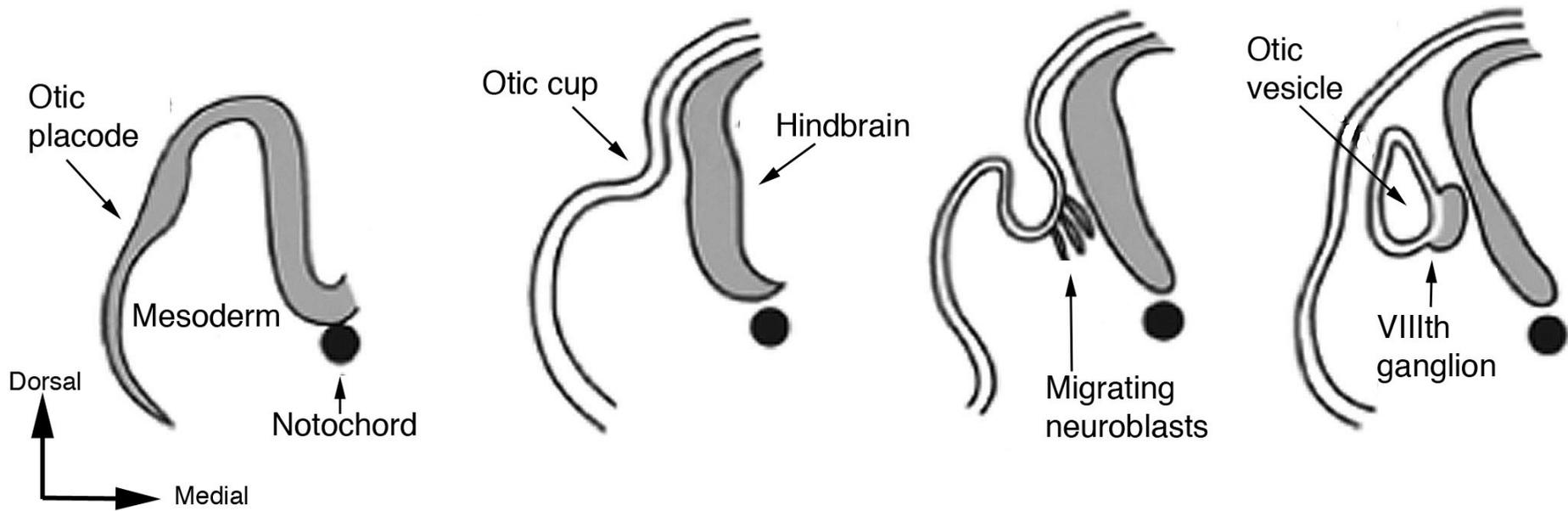
: グリア細胞,
 : 有毛細胞,
 : LHRH ニューロン,
 : 感覚ニューロン,
 : 嗅細胞,
 : 移動中のプラコード細胞

耳の構造

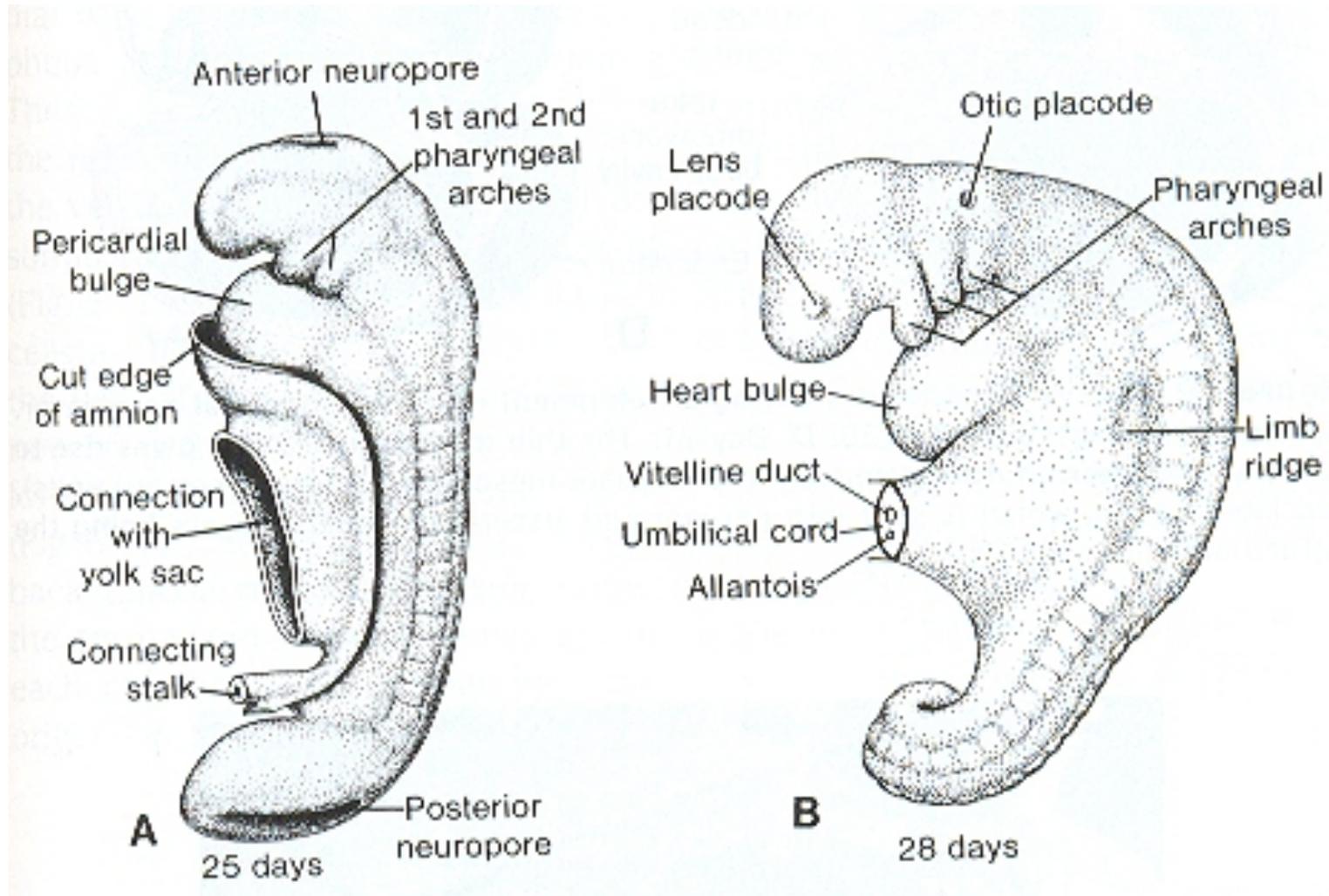




耳胞の形成

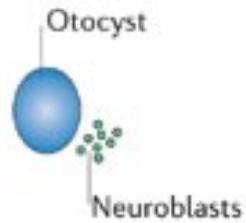


耳プラコード外観

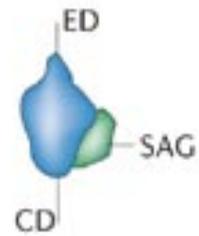


内耳の発生 (マウス)

E9.5



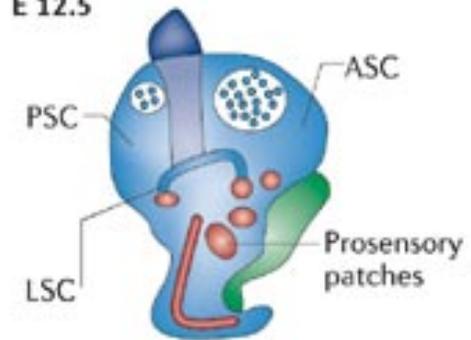
E10.5



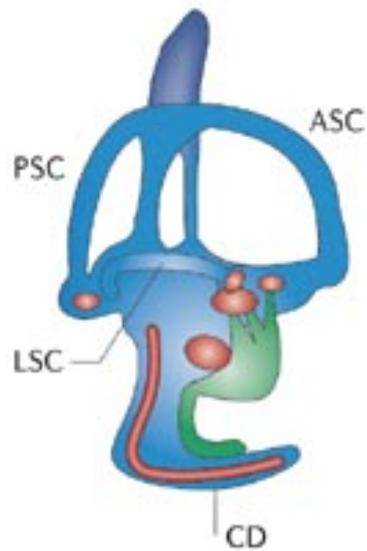
E11.5



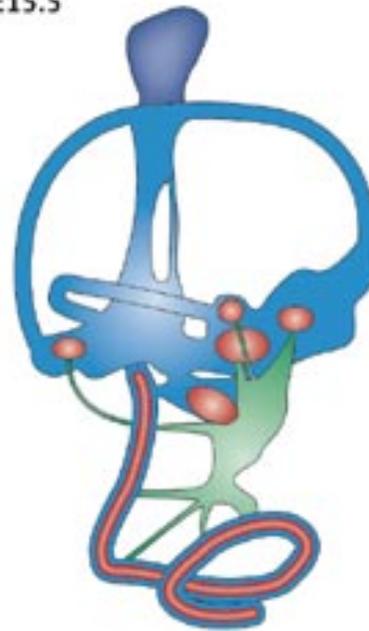
E 12.5



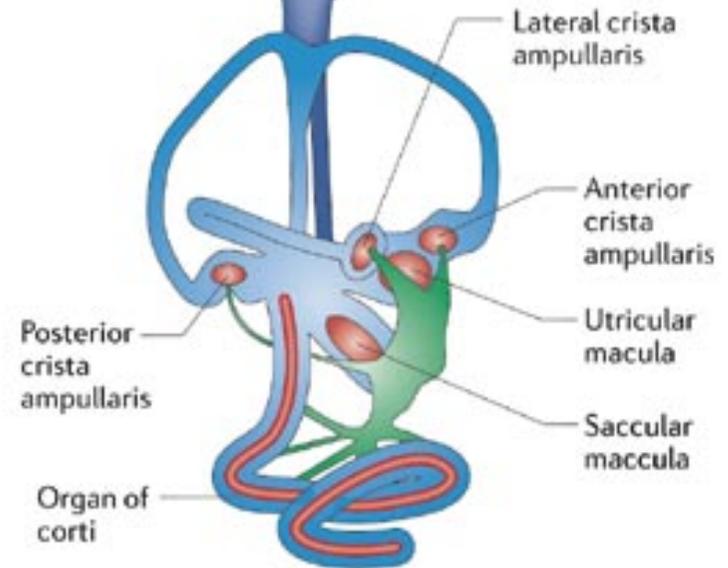
E13.5



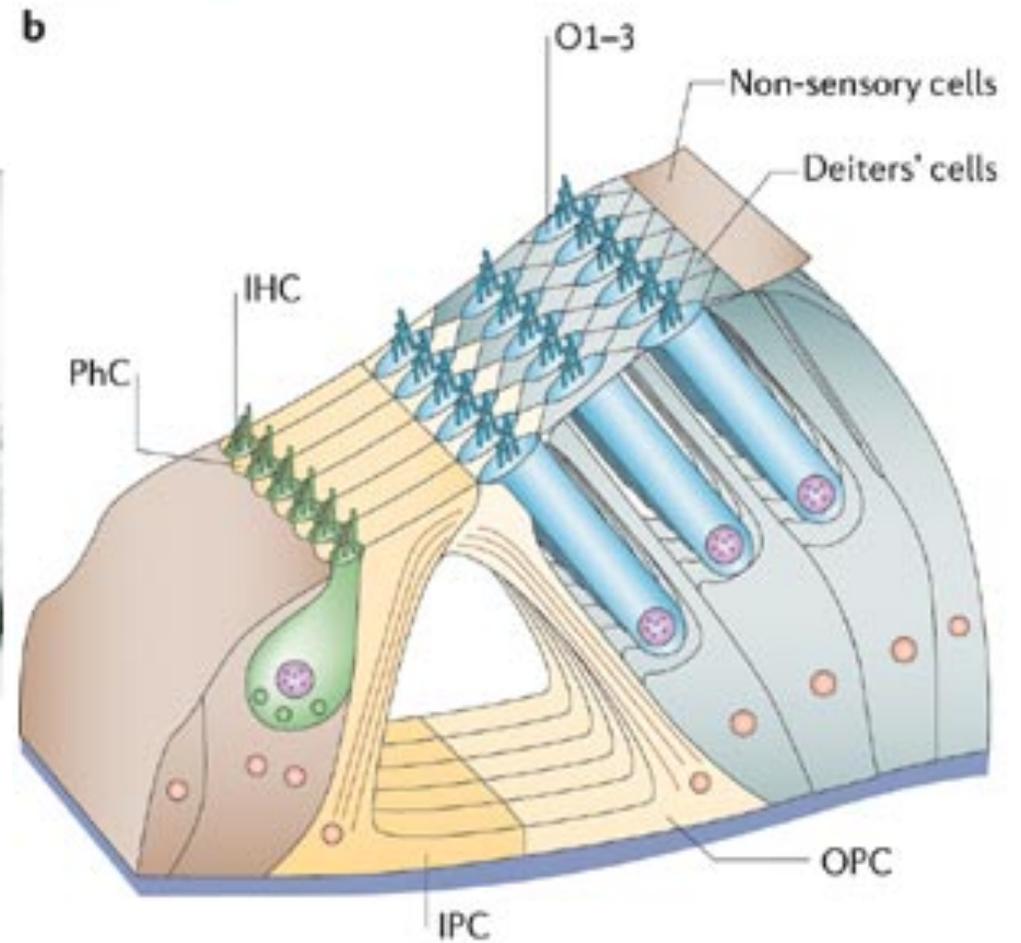
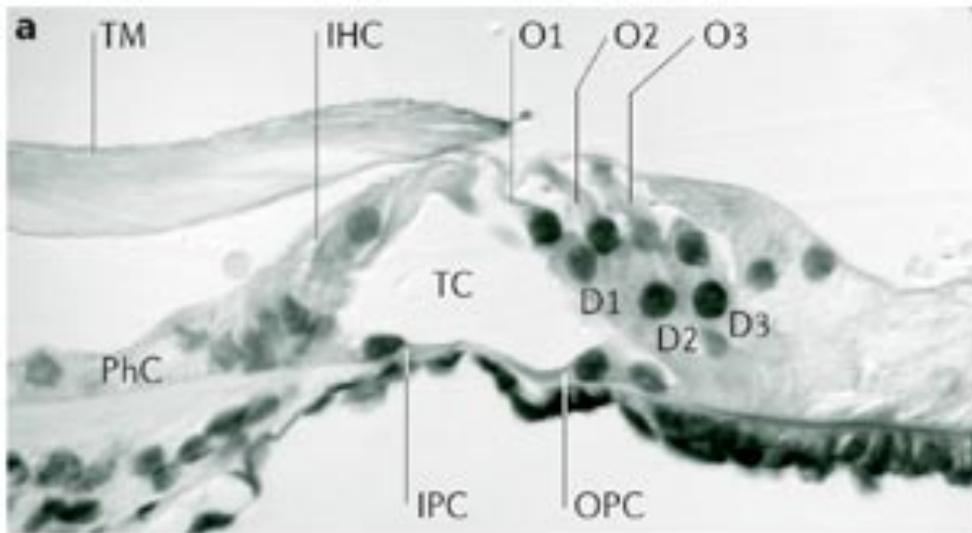
E15.5



E17.5



コルチ器



難聴アンチエイジングマウスの研究



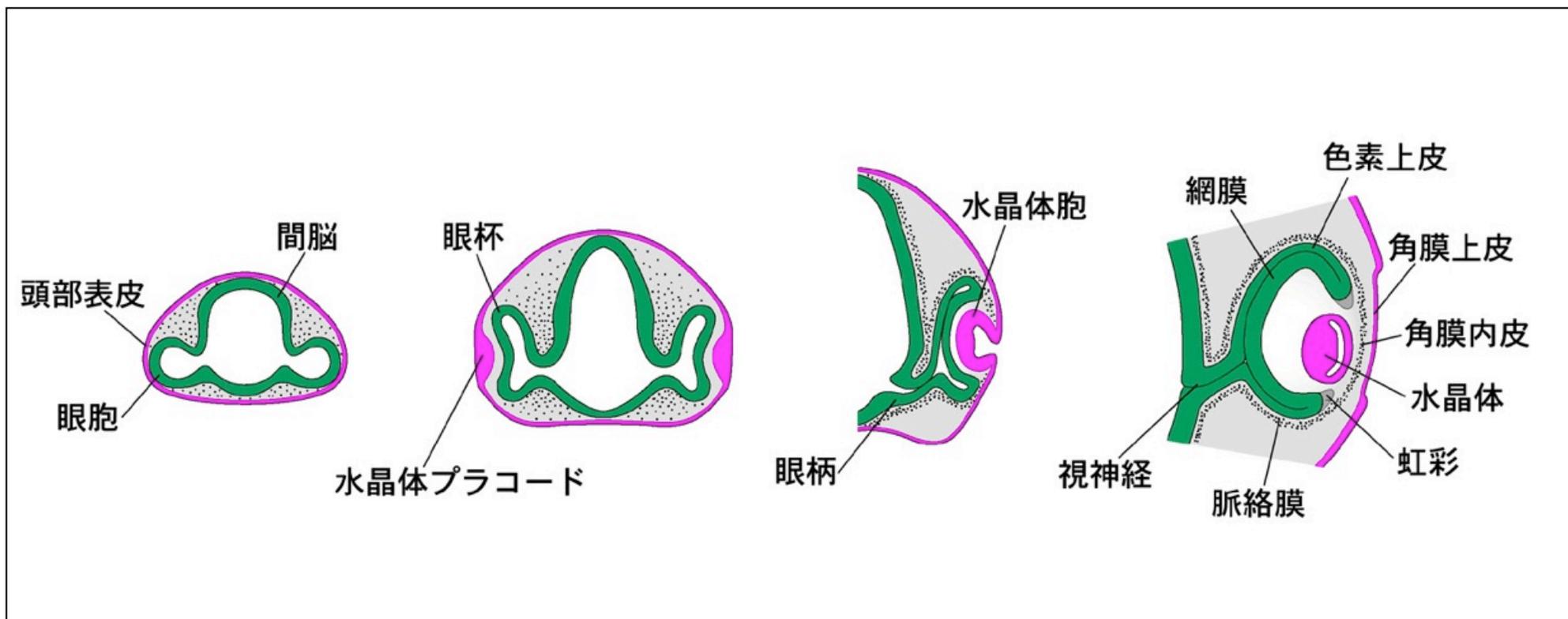
興味のある方は聞きに来て下さい！

第17章まとめ（2）



- 眼の発生
 - 視溝 optic sulcus
 - 眼胞 optic vesicle
 - ✦ 網膜神経層 neural retina
 - ✦ 網膜色素上皮 pigment epithelium
 - 水晶体プラコード lens placode→水晶体胞 lens vesicle
 - ✦ 水晶体
 - 角膜上皮
 - 前眼部：神経堤細胞の関与
 - ✦ 角膜実質・角膜内皮
 - ✦ 虹彩

眼の形成過程



どんな分子が関わるか？



小眼症ラット

*Matsuo, Osumi-Yamashita et al.,
Nat Genet, 1993; Osumi et al.,
Development, 1997*

*Pax6*変異ホモ接合個体における顔面形成異常



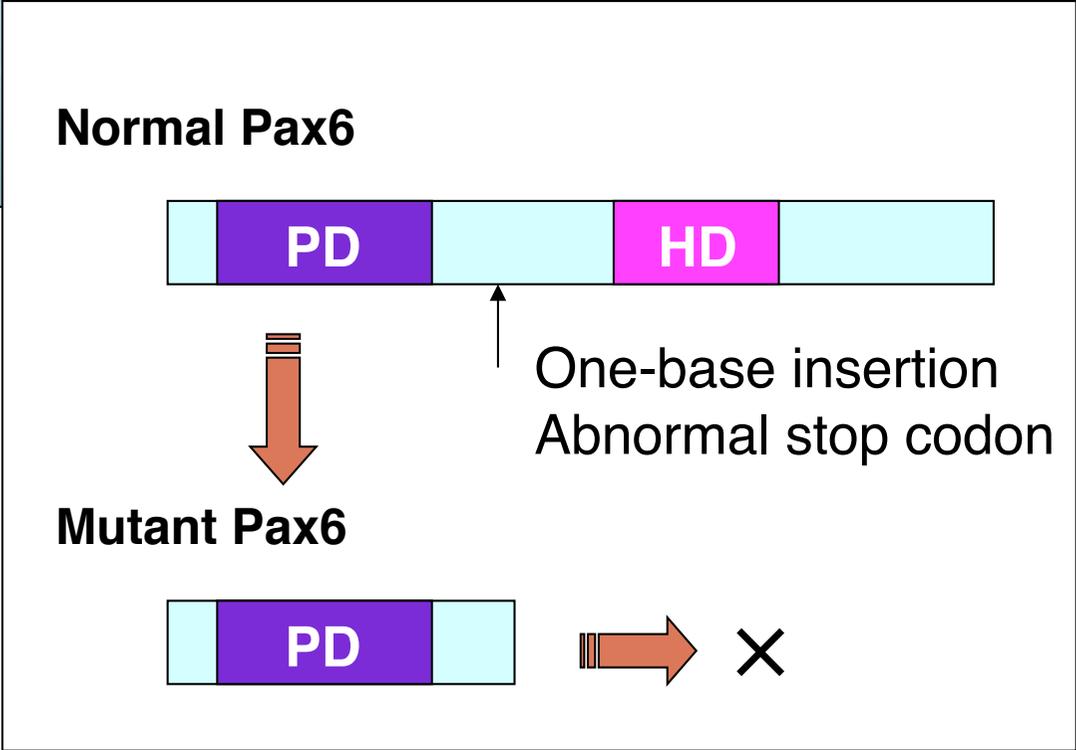
野性型ラット新生仔



*Pax6*変異ラット新生仔

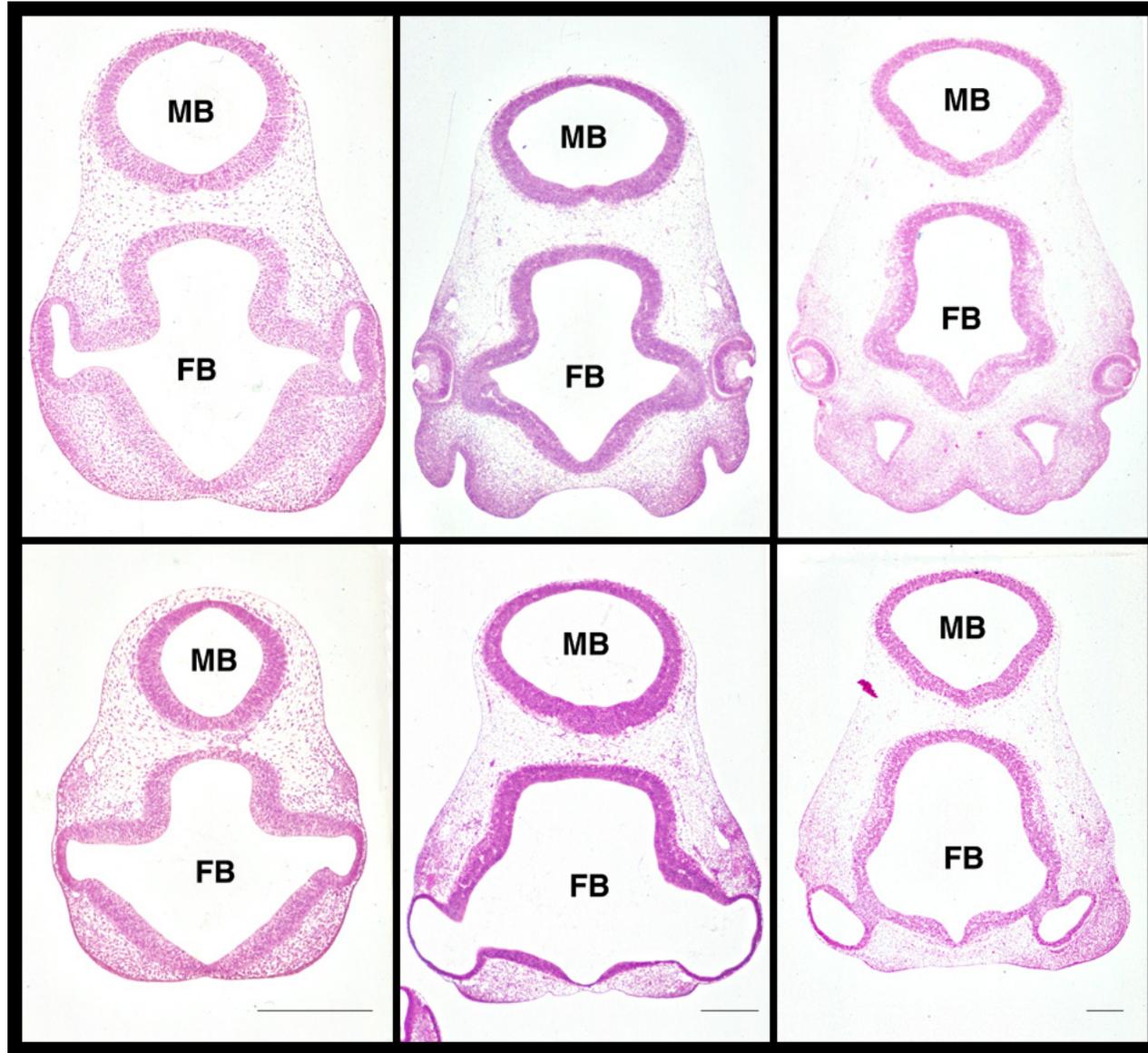


Small eye rat



*Pax6*変異胚における眼の形成異常

野性型
ラット胚



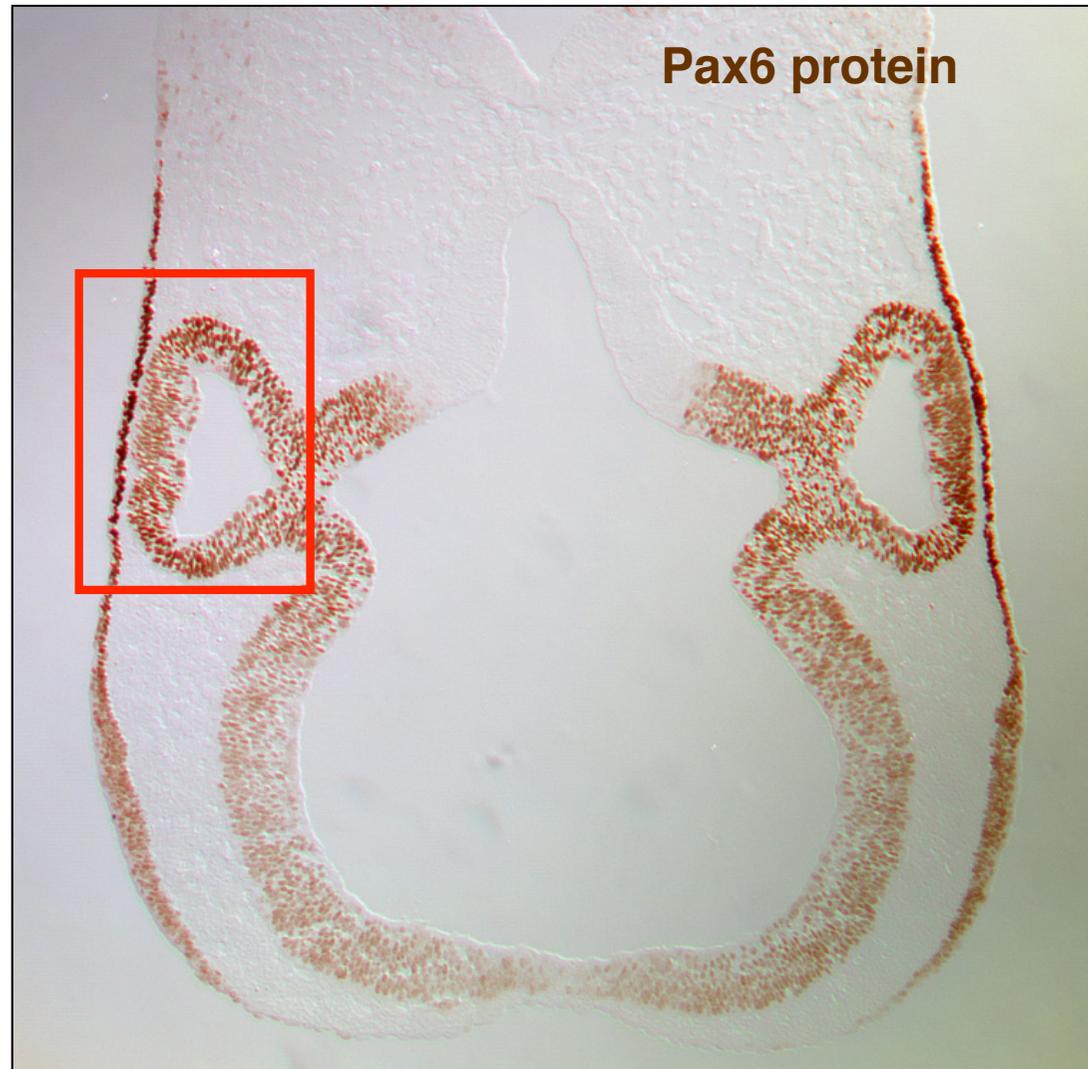
*Pax6*変異
ラット胚

E11

E12

E13

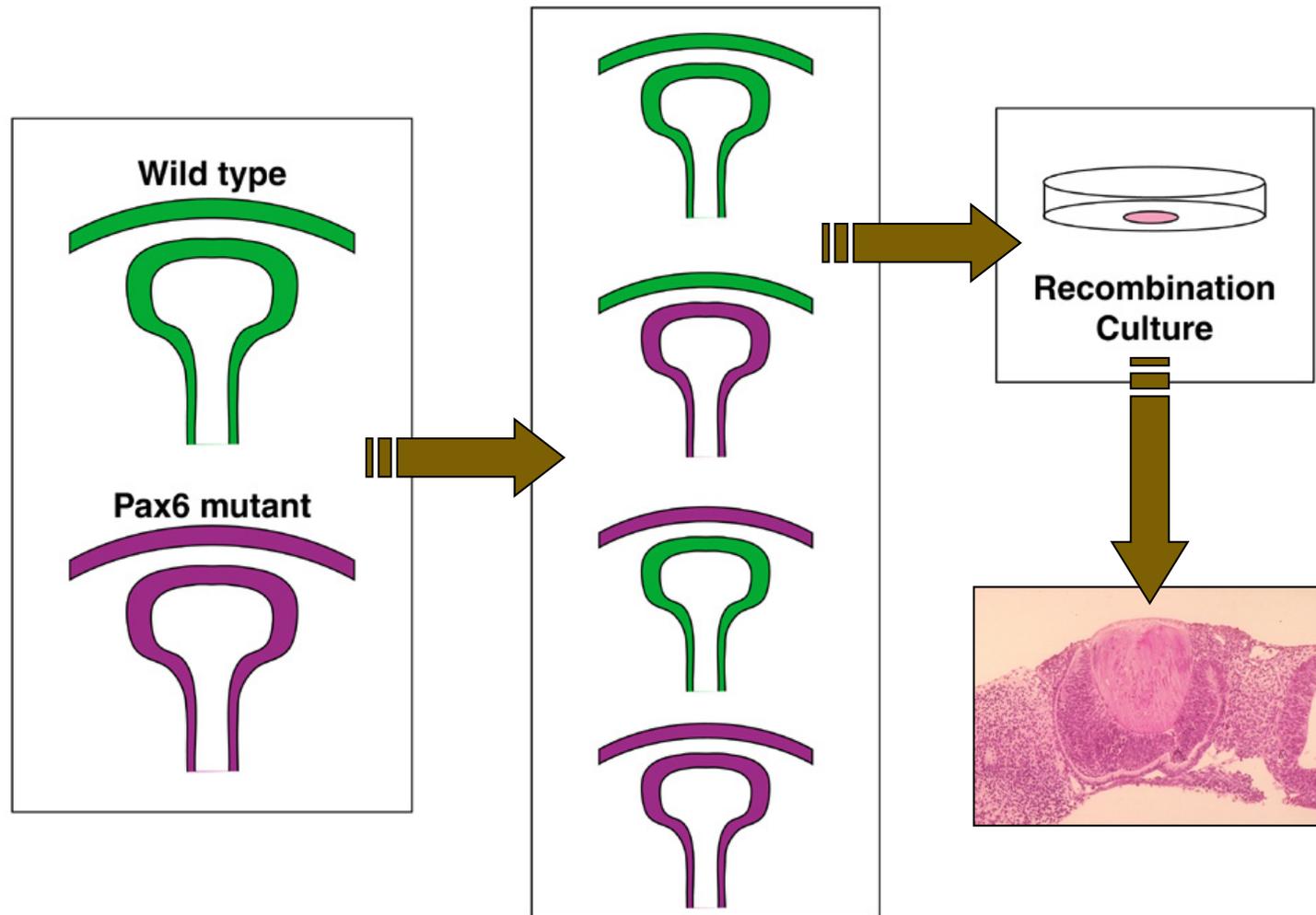
Pax6タンパクの発現部位



E11.5 rat

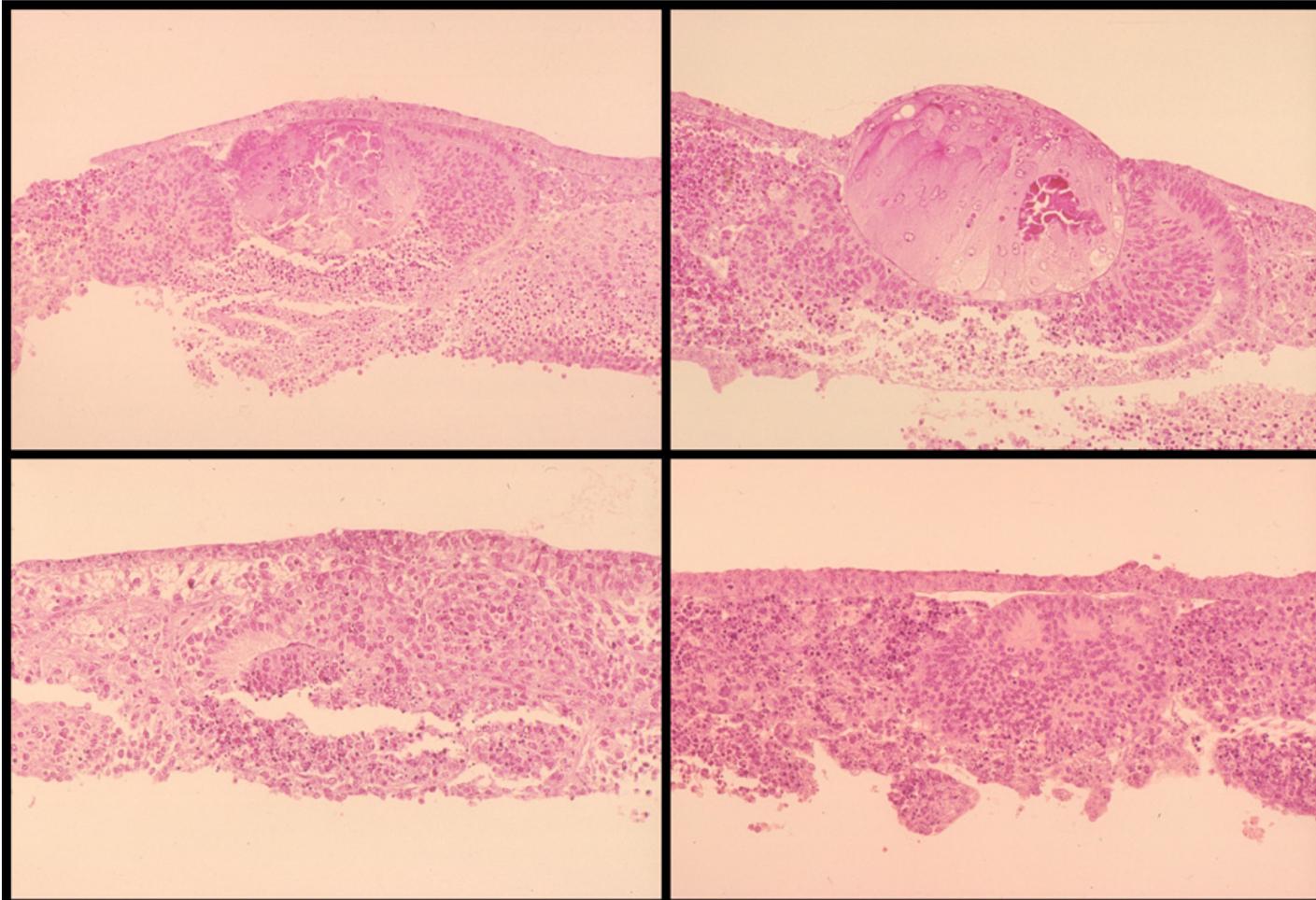
*Pax6*変異胚における眼の形成異常の原因 外表上皮か眼杯か？

組み合わせ培養による解析



誘導能・被誘導能を調べる実験

上皮: +/+
眼杯: +/+



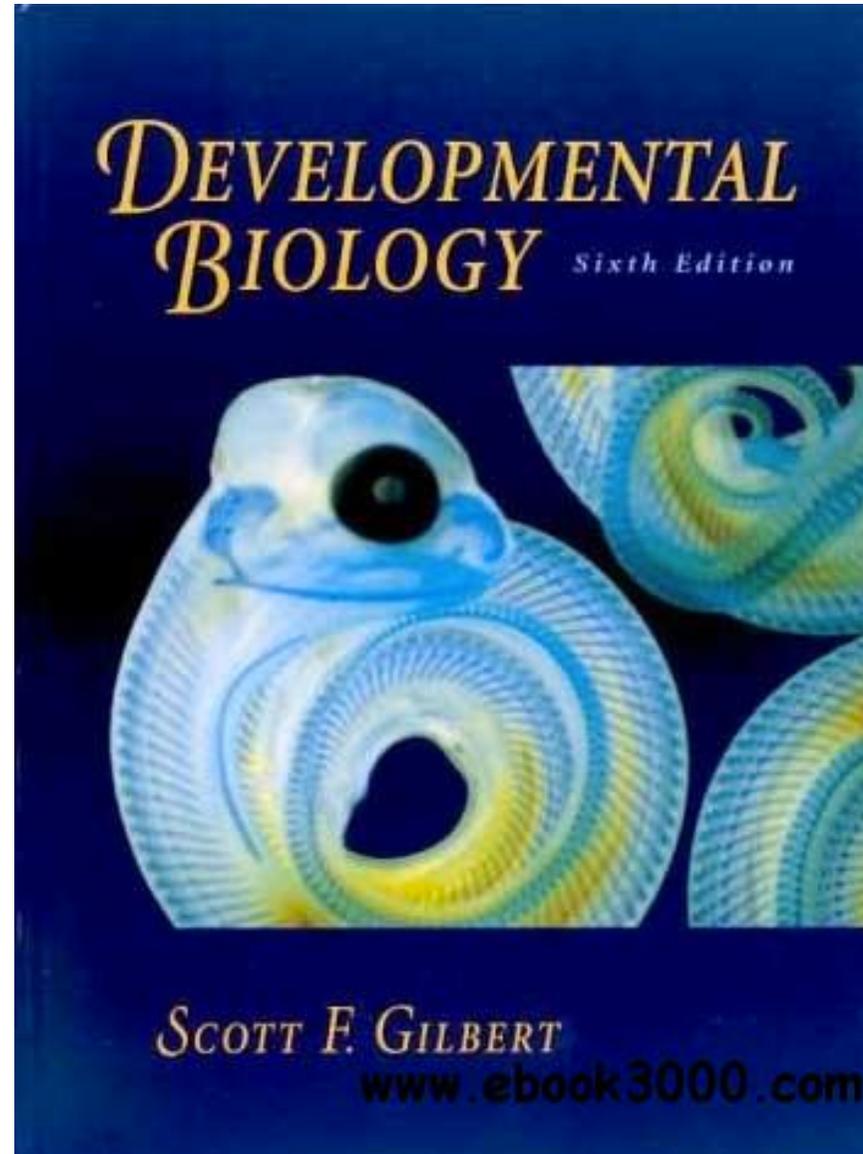
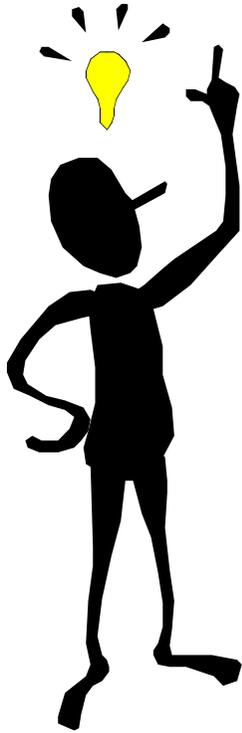
上皮: +/+
眼杯: -/-

上皮: -/-
眼杯: +/+

上皮: -/-
眼杯: -/-

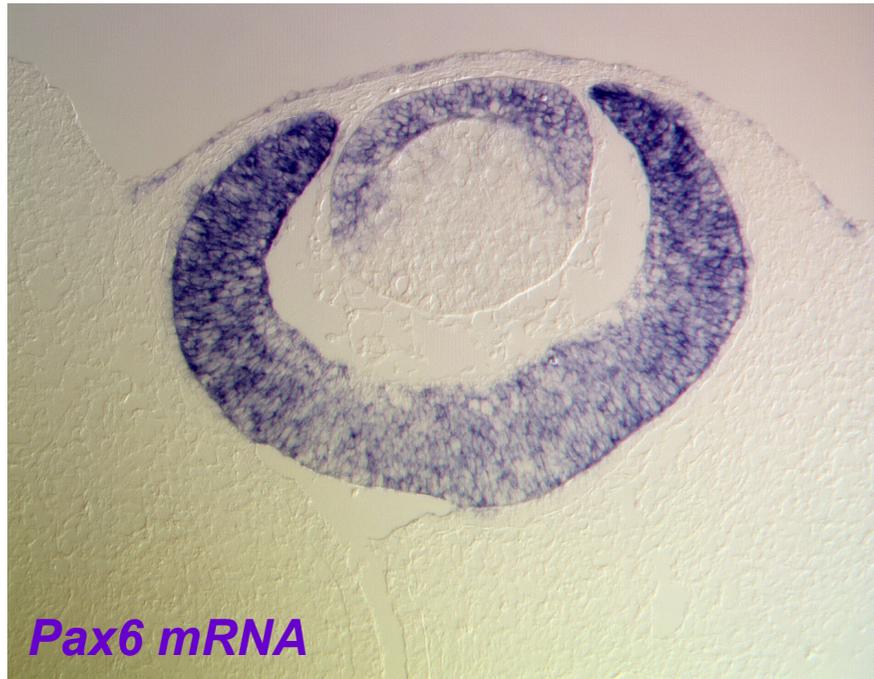
Fujiwara et al., Differentiation, 1994; quoted in Guibert Textbook

長く引用される喜び



眼の発生とPax6

- Pax6は眼の原基で発現（局在）
- Pax6は水晶体の誘導に必要（必要条件）
- Pax6は水晶体の誘導に十分か？

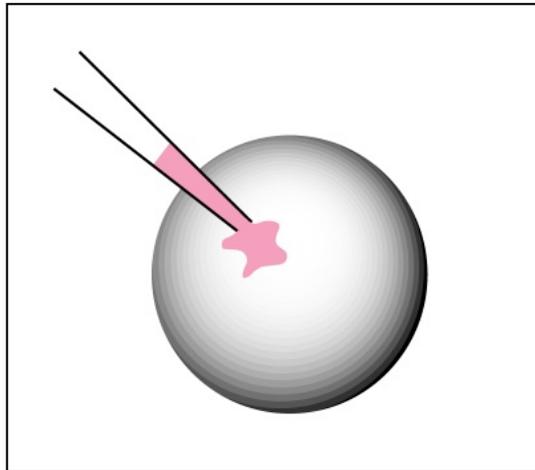


眼の発生とPax6

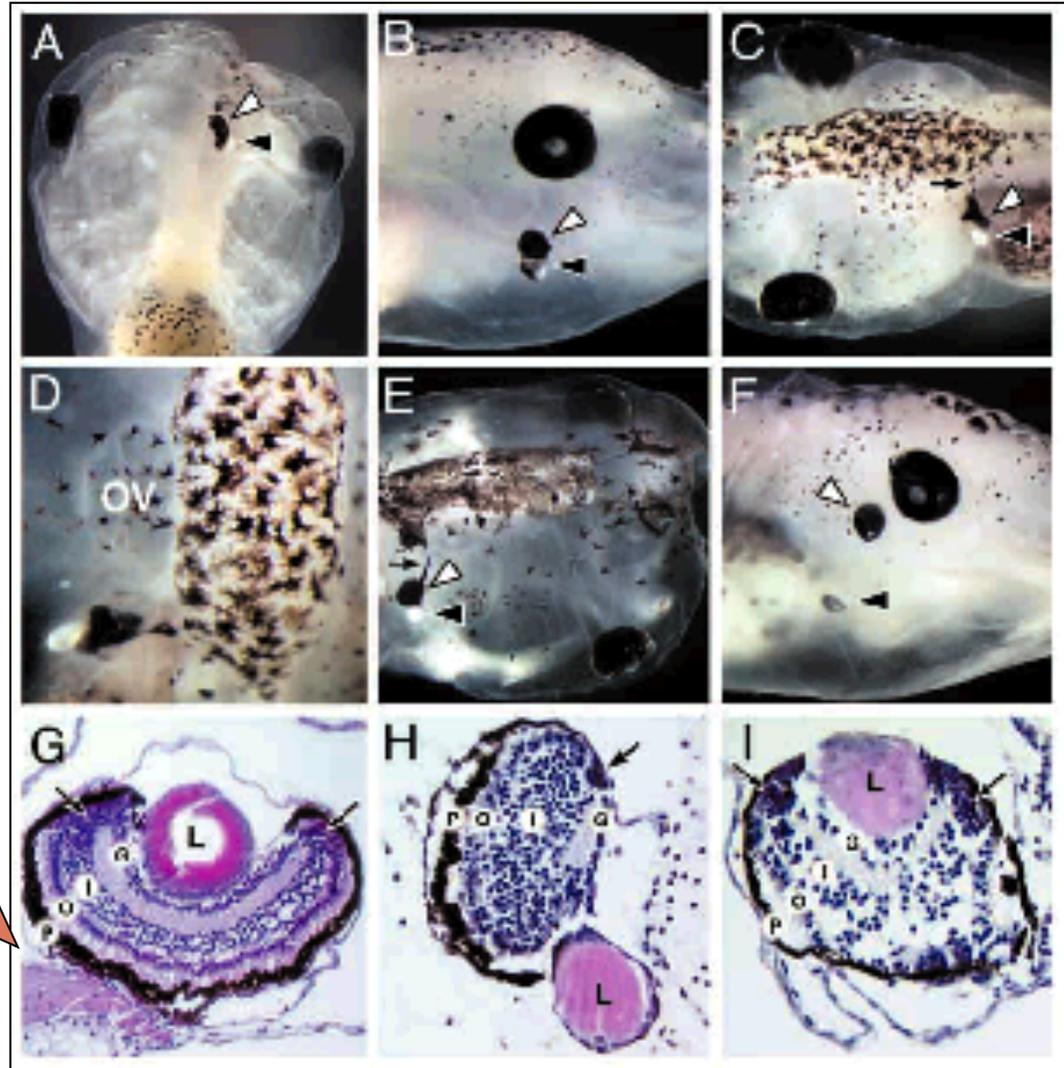
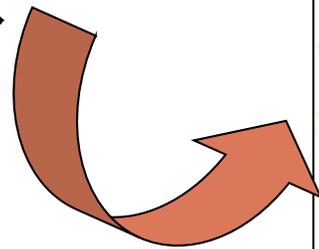
- Pax6は眼の原基で発現（局在）
- Pax6は水晶体の誘導に必要（必要条件）
- Pax6は水晶体の誘導に十分か？



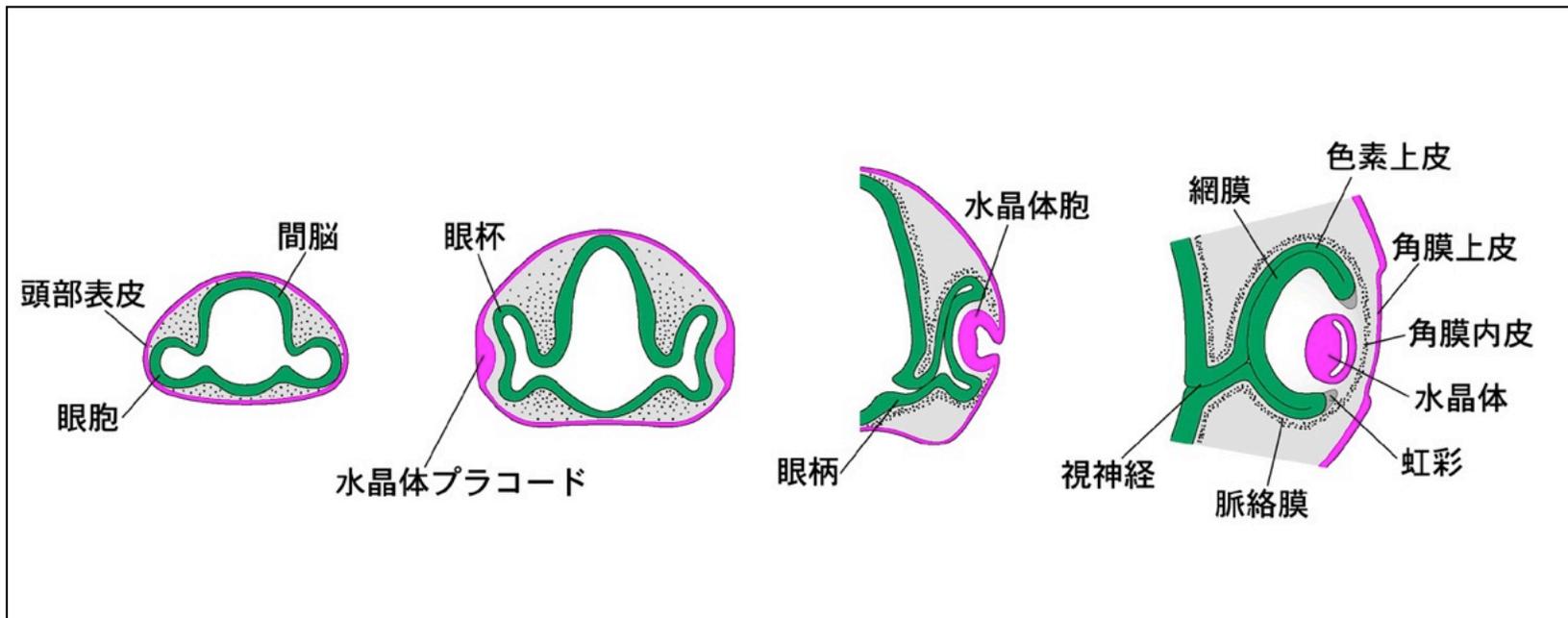
十分条件をゼブラフィッシュで検証する



Pax6 mRNAを合成し受精卵に注入



Chow et al., Development 1999



Otx2 —————

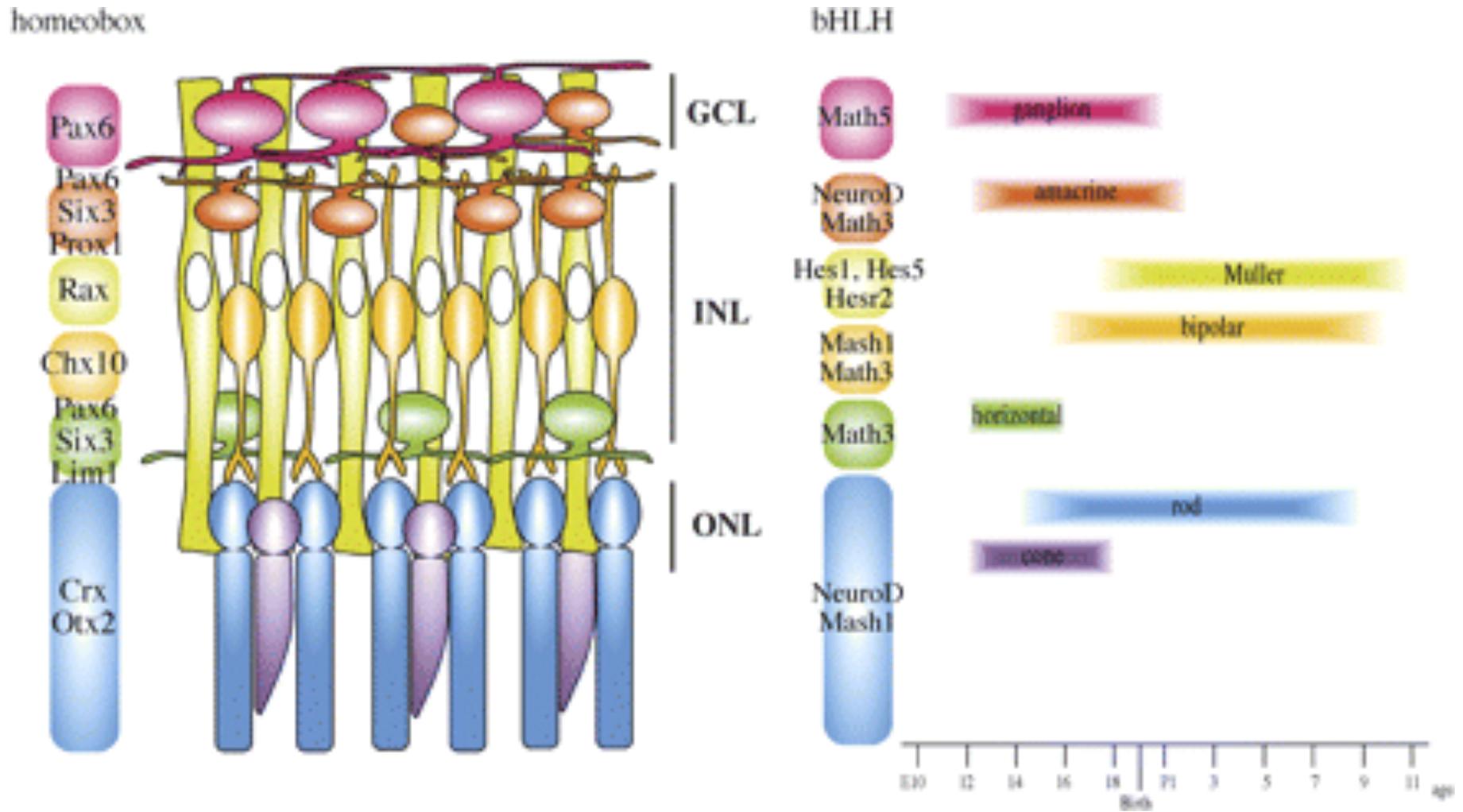
Pax6 —————

Sox2 —————

Prox1 —————

CMaf —————

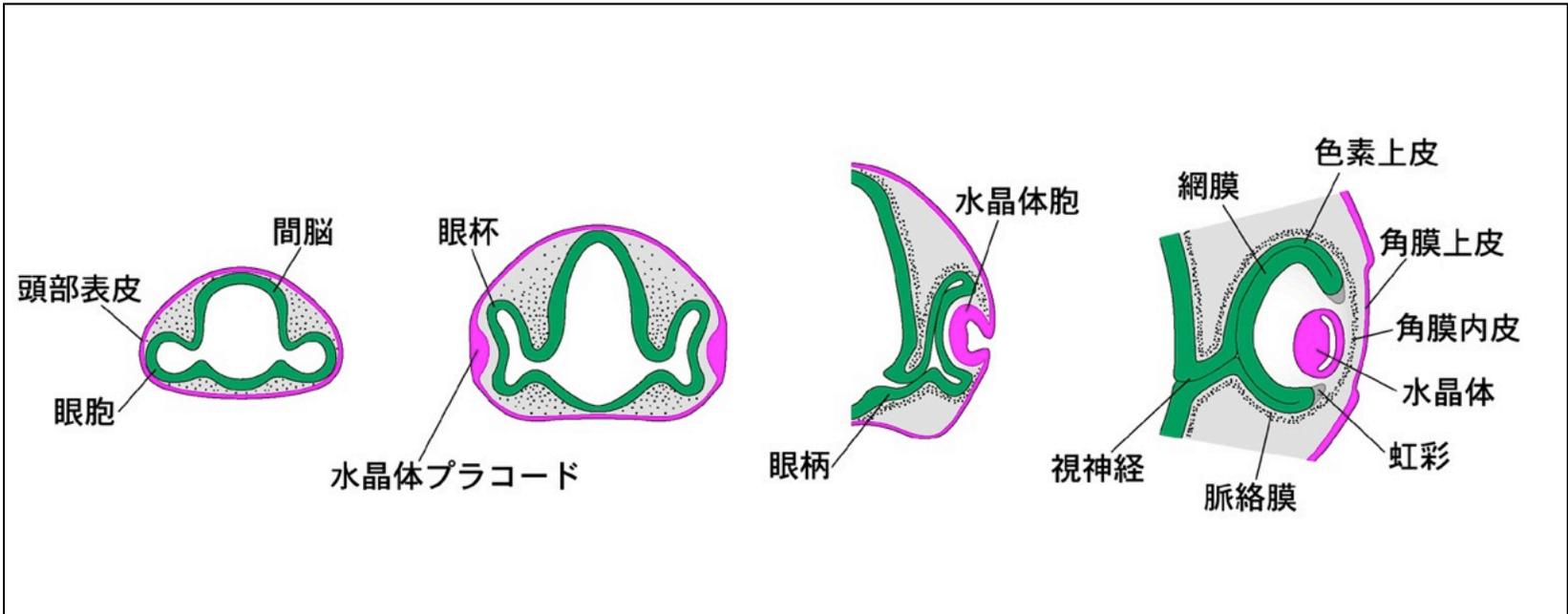
網膜層構造と転写因子



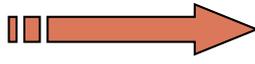
Pax6 変異体



水晶体形成阻害・網膜無形成



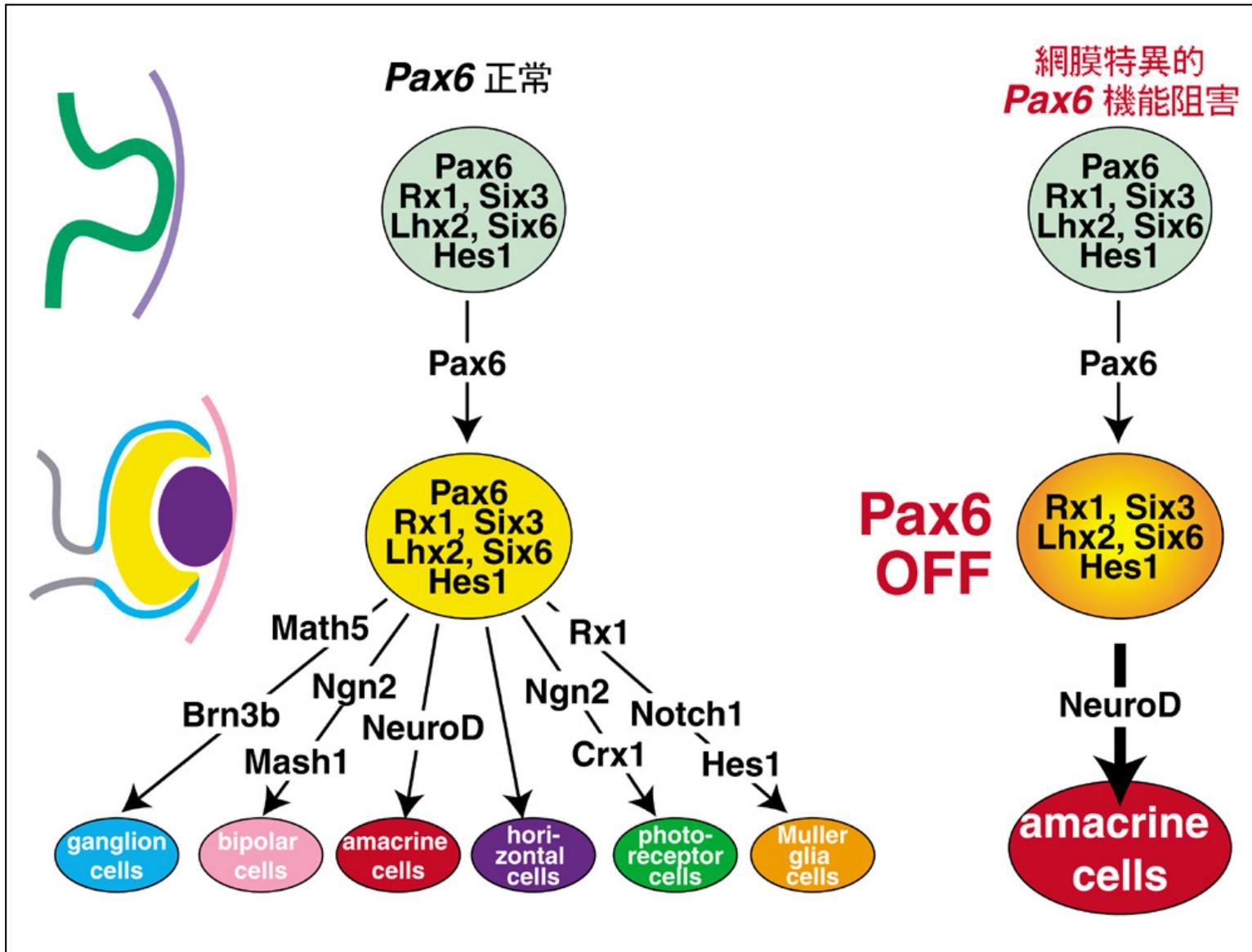
網膜特異的 Pax6 変異体



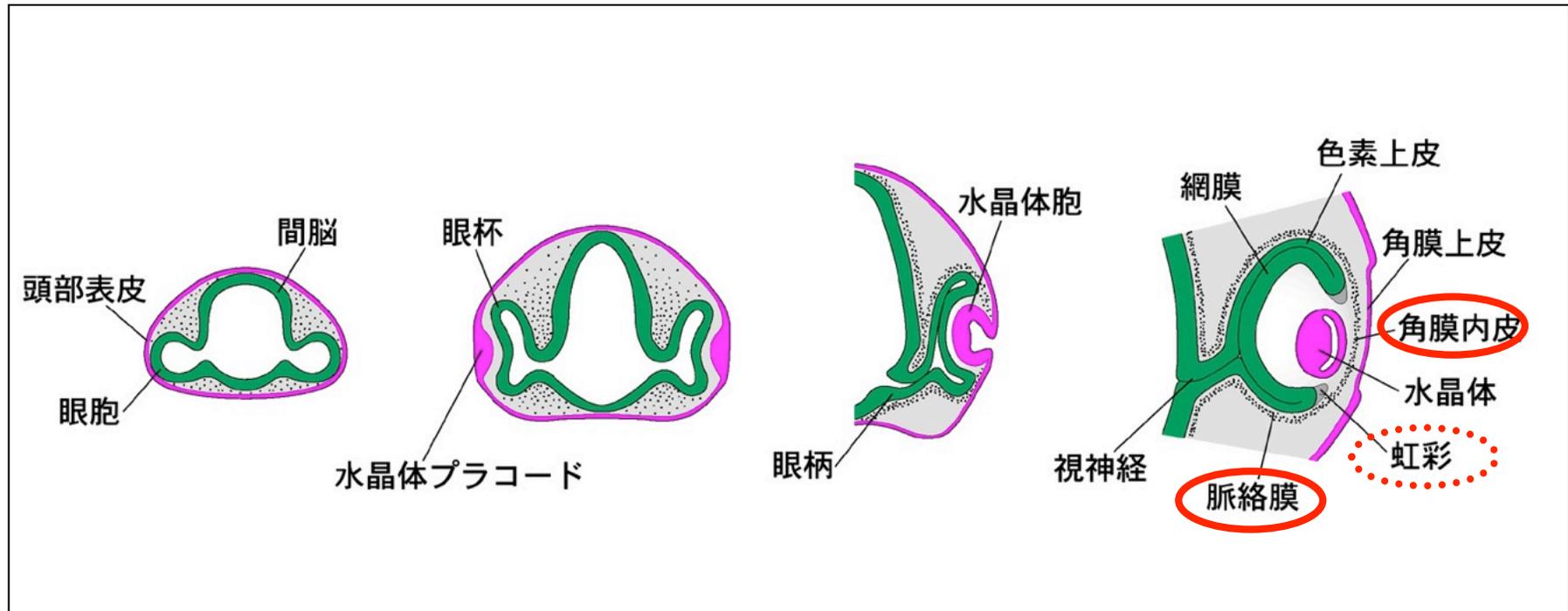
?

条件付きノックアウトマウス作製(板書)

Pax6は網膜神経前駆細胞の多分化能維持に関わる



眼の形成には間葉系も関与する

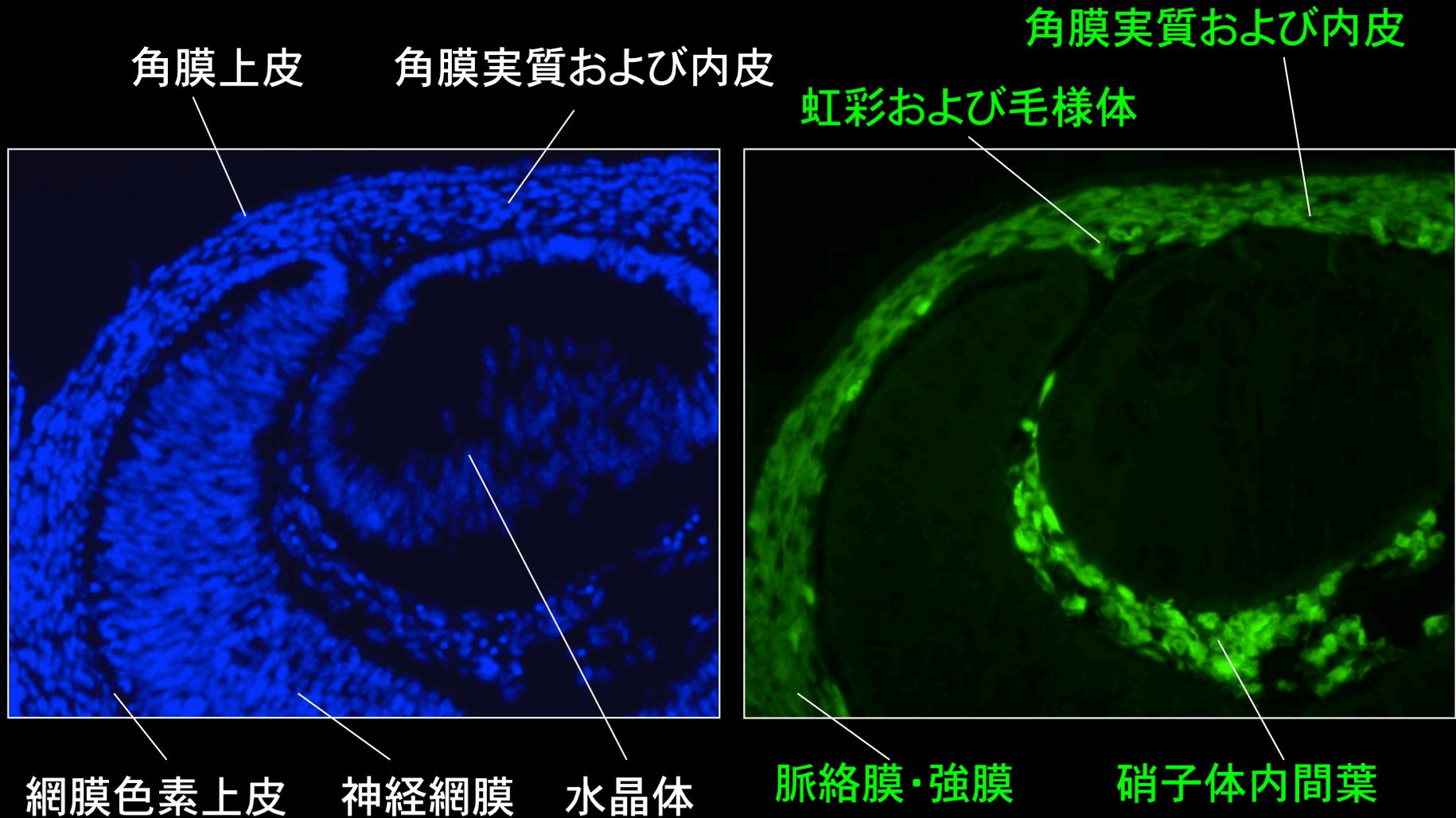


表皮

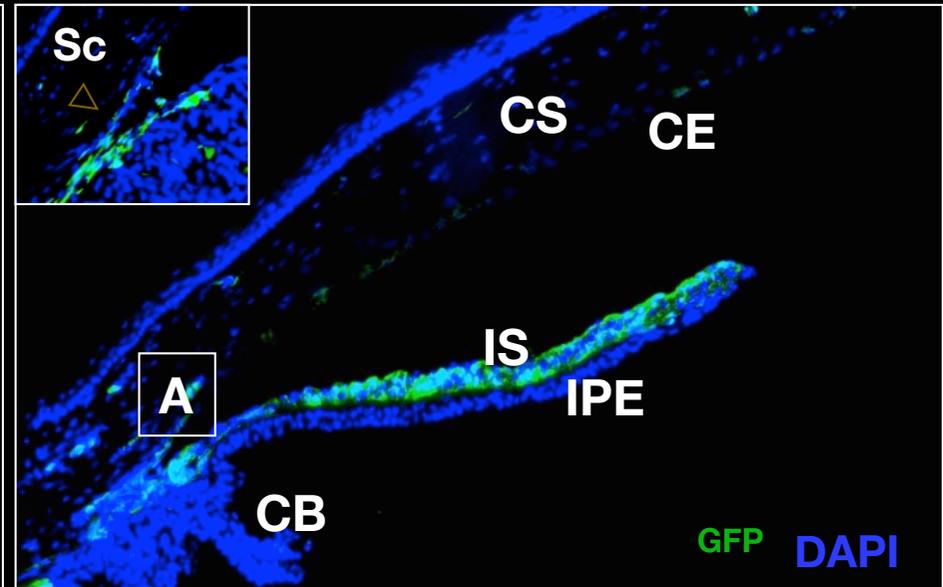
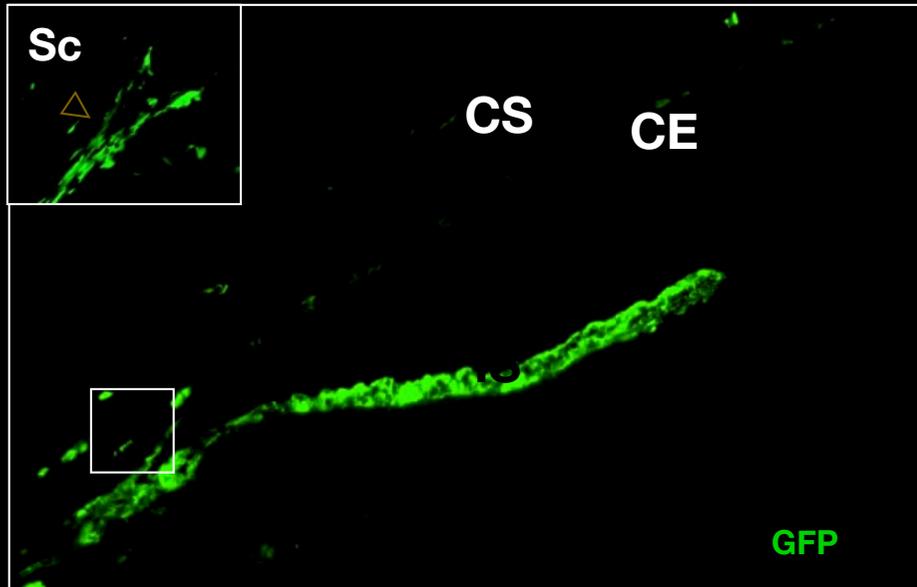
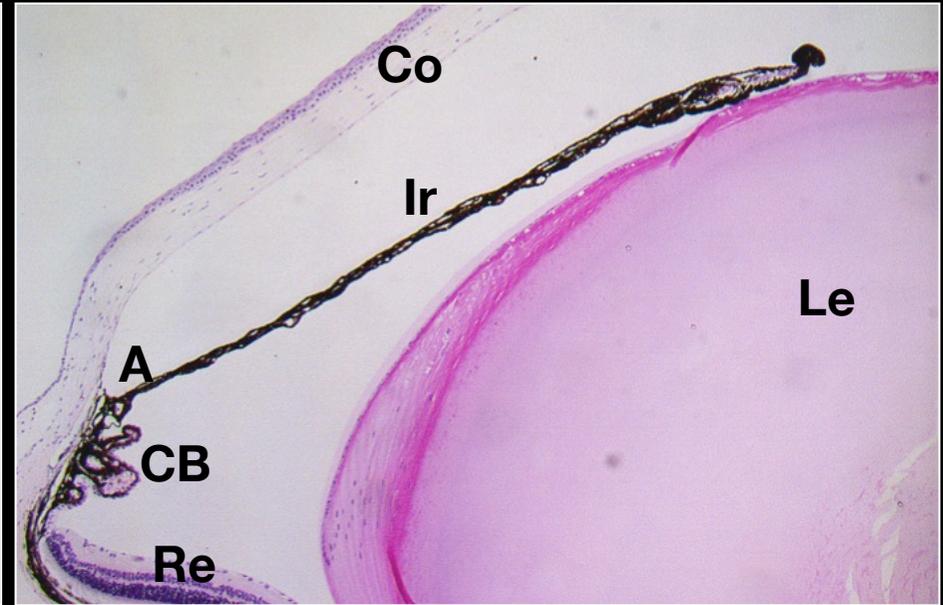
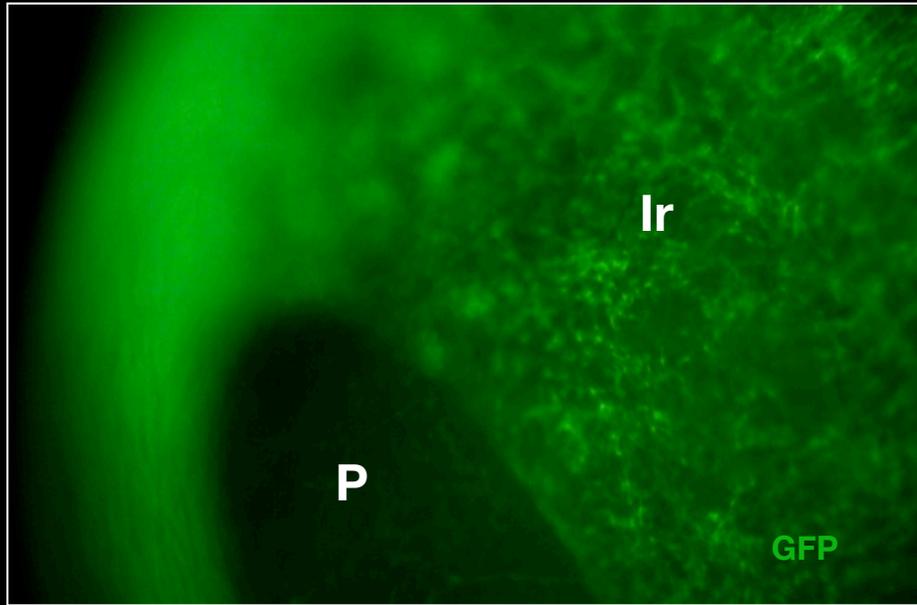
神経上皮

中胚葉と神経堤細胞

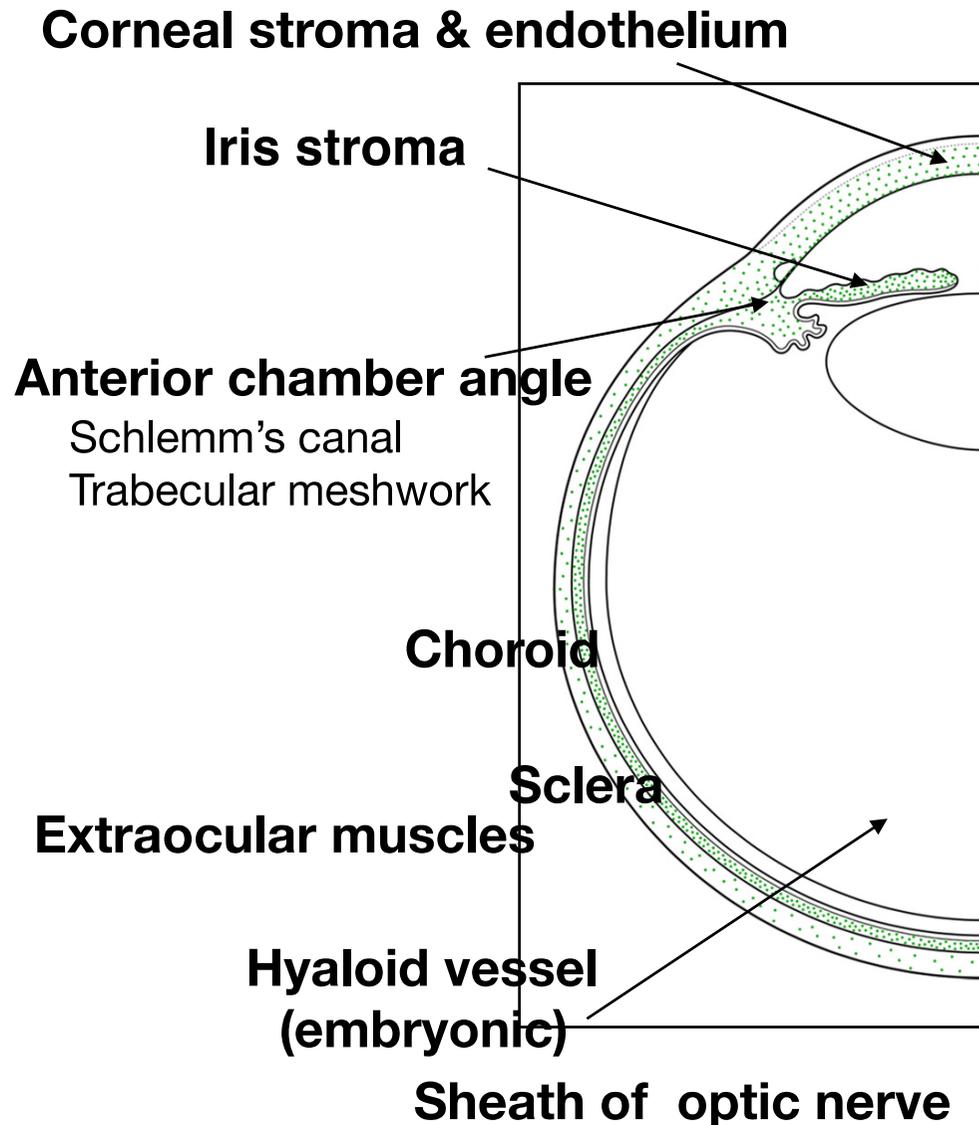
神経堤細胞特異的遺伝学的**蛍光**標識



成体マウス前眼部組織の神経堤由来細胞



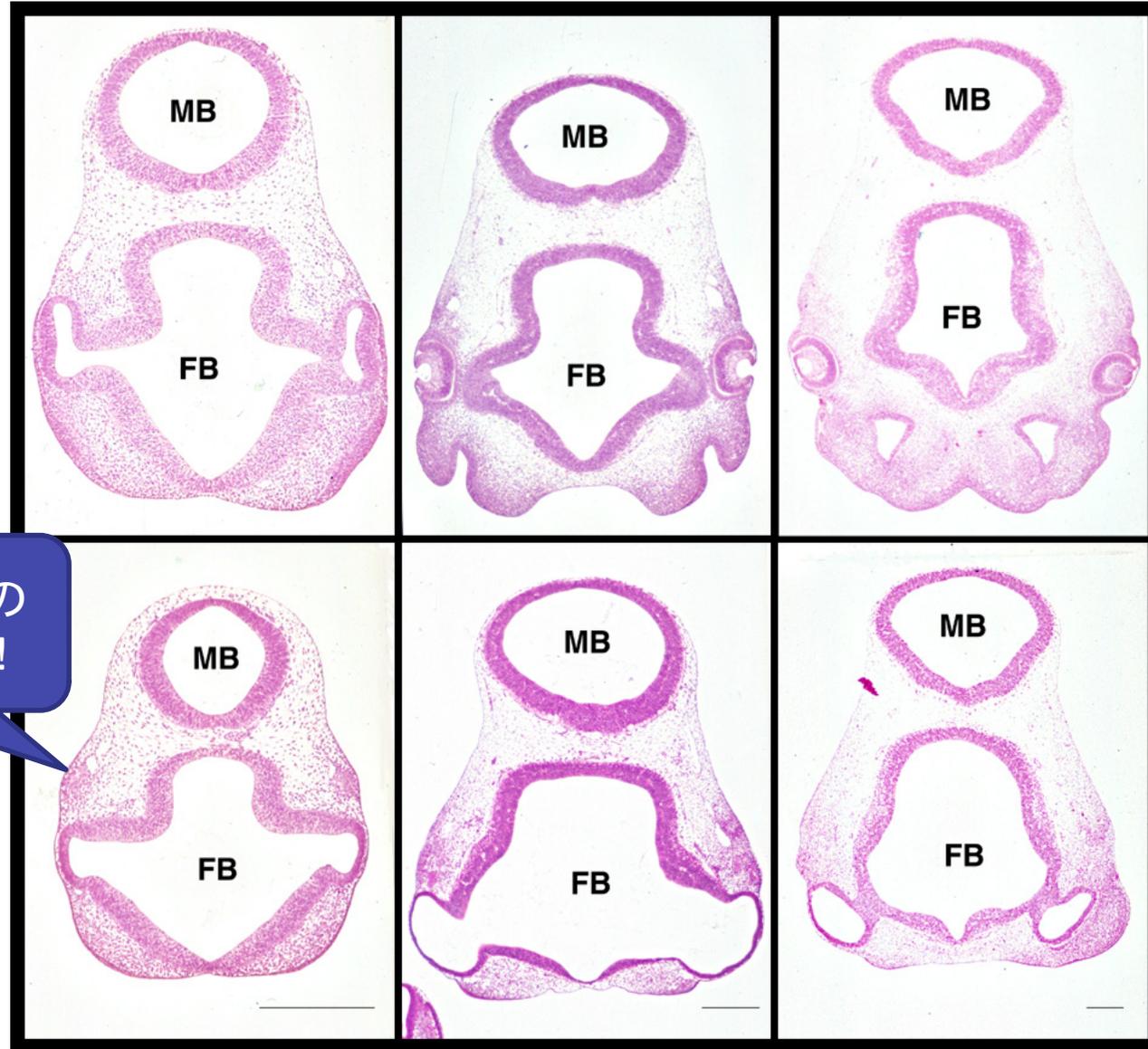
成体眼組織の神経堤由来細胞



Small eye mouse:
a spontaneous
Pax6 mutant

*Pax6*変異胚における眼の形成異常

野性型
ラット胚



実は神経堤細胞の
移動異常がある!

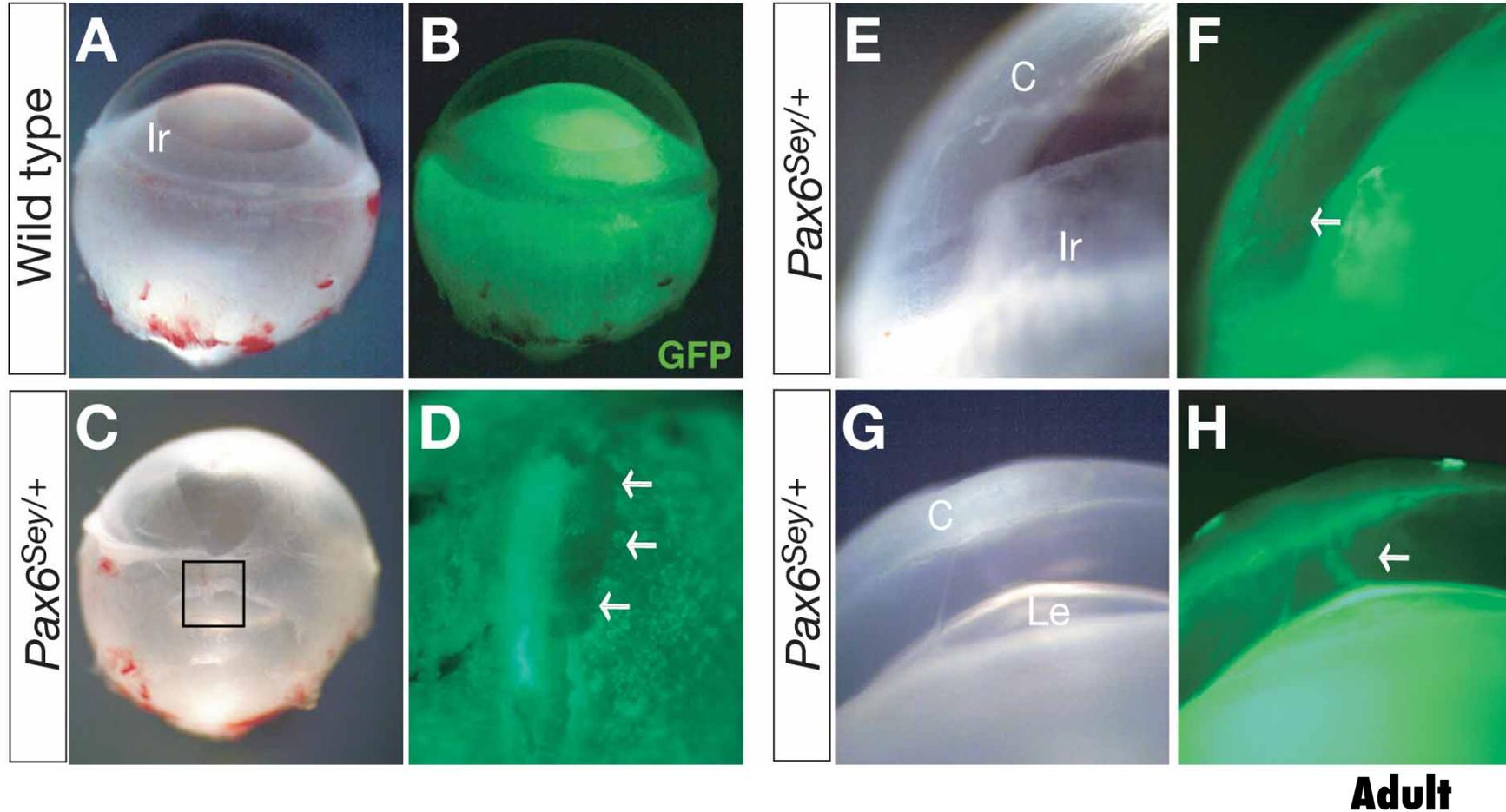
*Pax6*変異
ラット胚

E11

E12

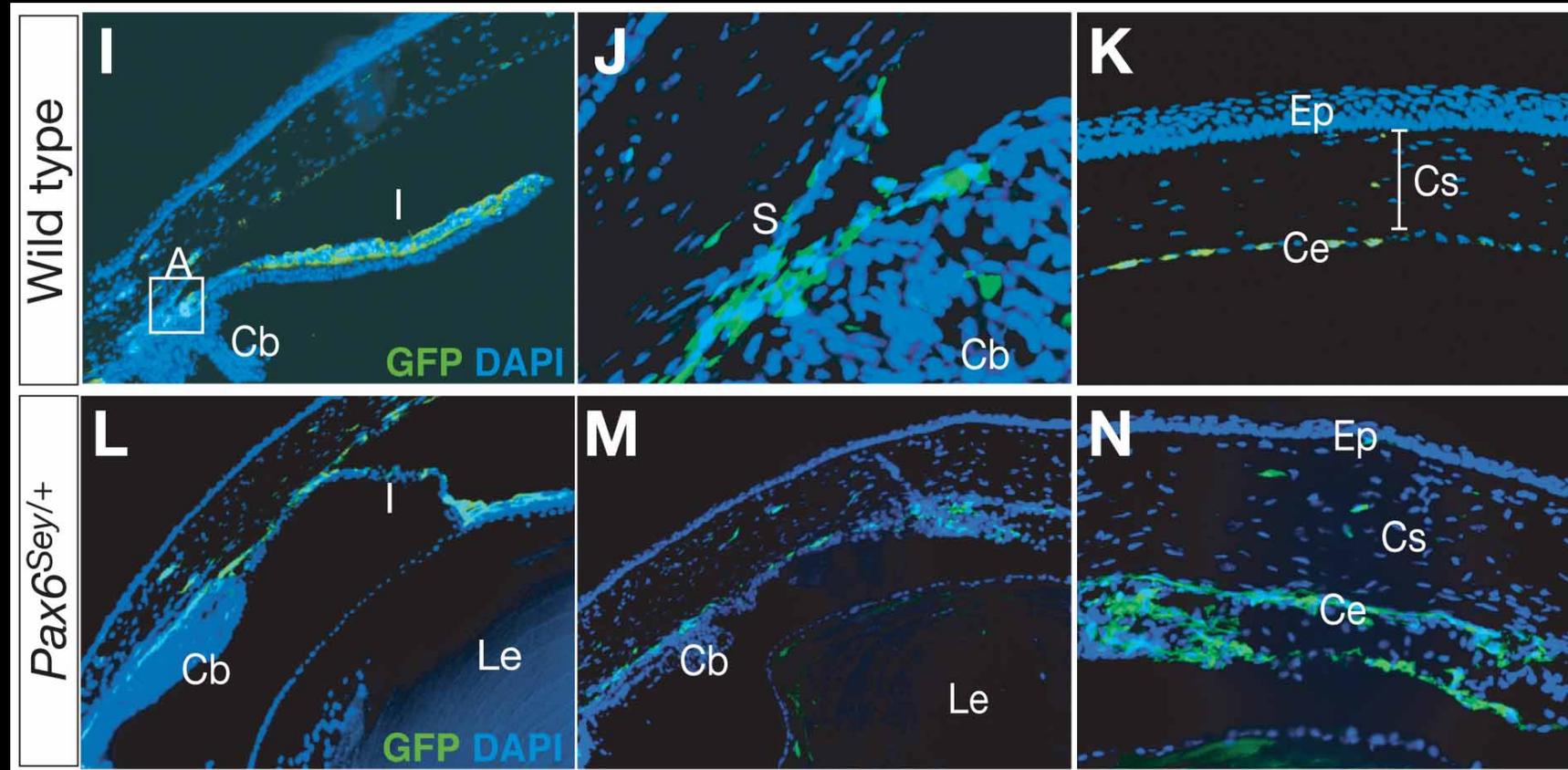
E13

Abnormal distribution of NCCs



追記：神経堤細胞の流入過剰による前眼部形成異常

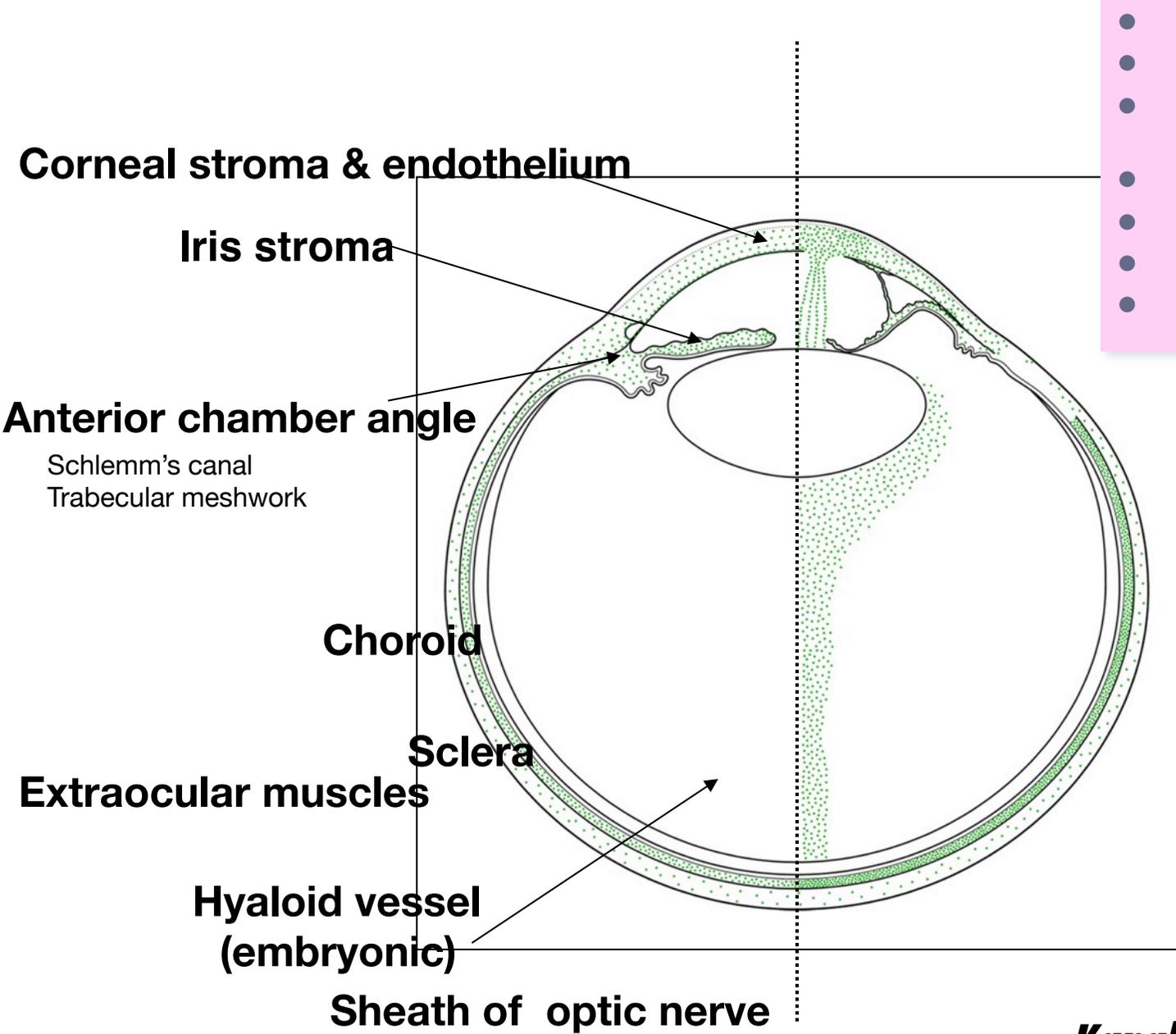
Abnormal distribution of NCCs



Adult

Normal contribution

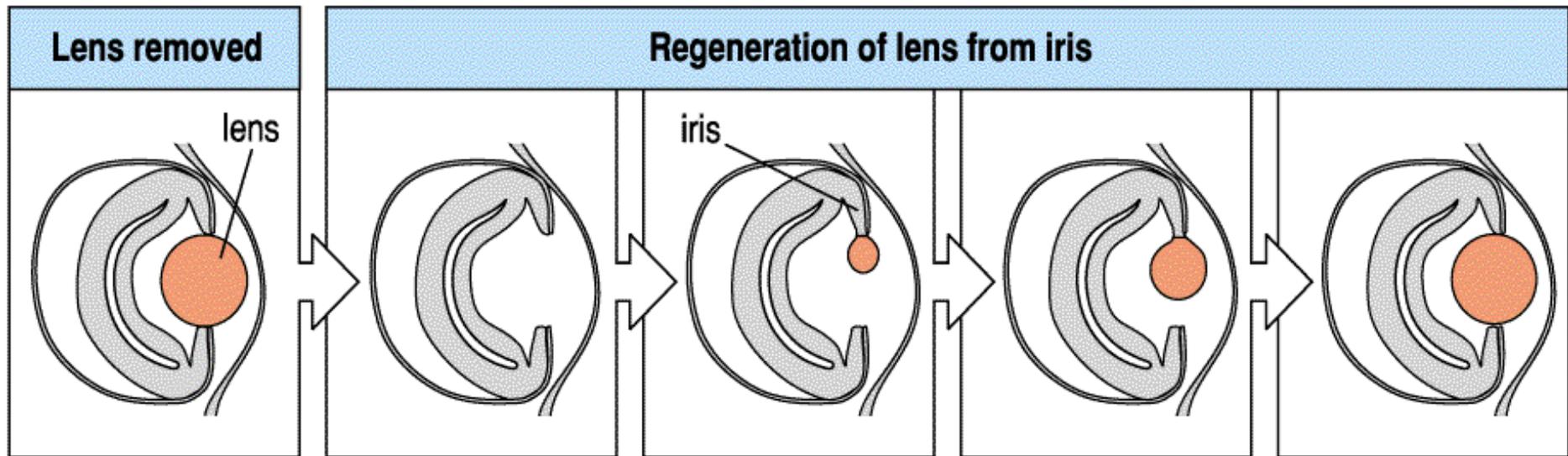
Small eye phenotypes



- Lens
- Retina
- Cornea (stroma, endothelium)
- Iris
- Ciliary body
- Anterior angle
- Vitreous vessels

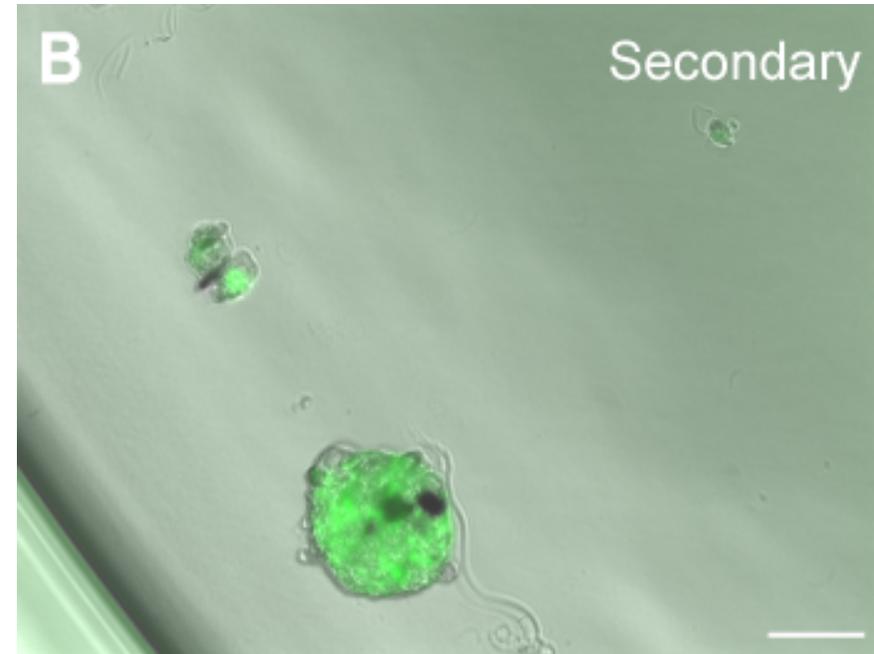
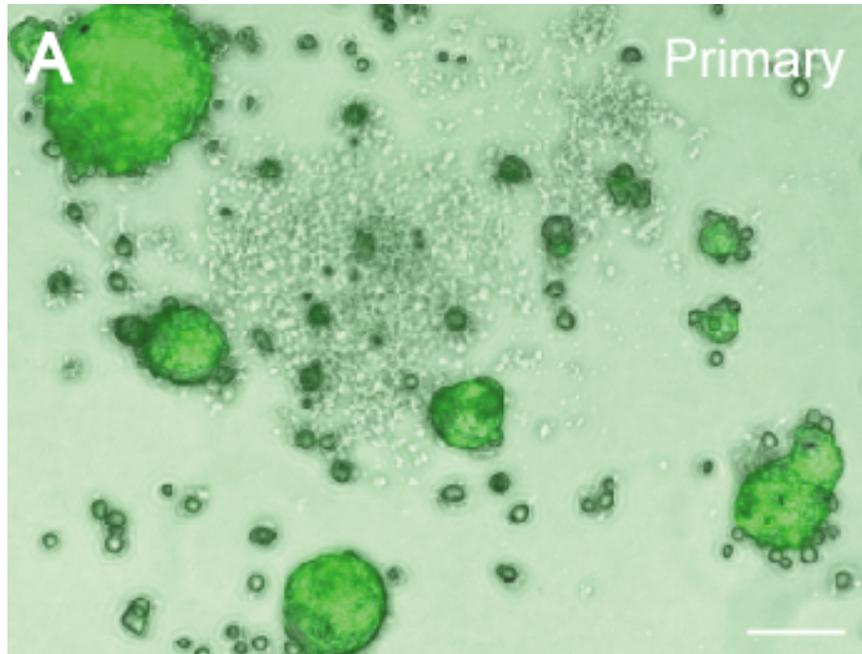
再生能力の高い脊椎動物：両棲類

イモリの水晶体再生



From Principles of Development 2nd ed. by Wolpert

P0-Cre;EGFPマウスの虹彩細胞におけるsphere培養



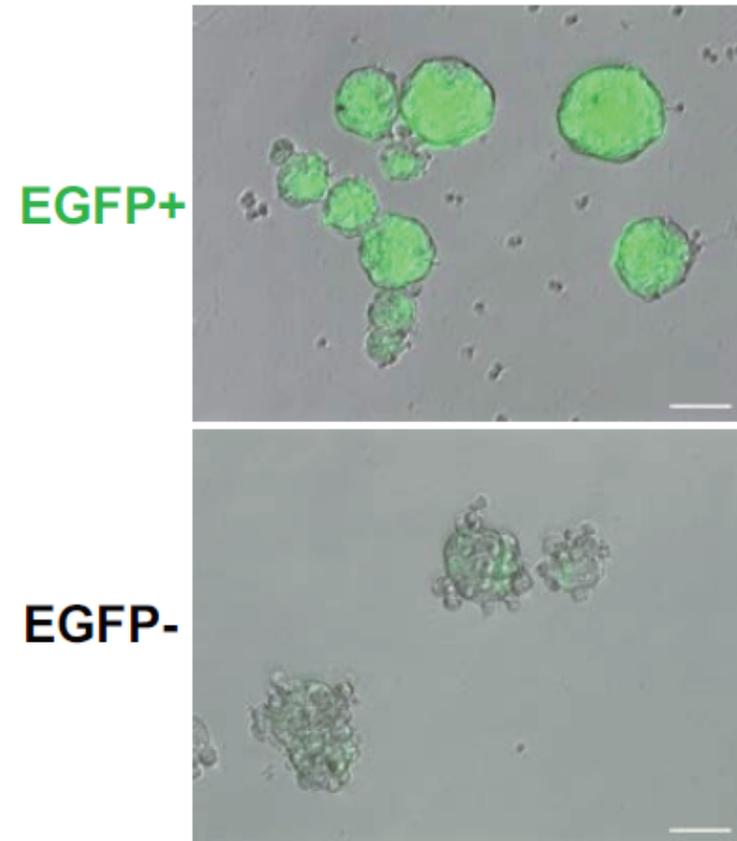
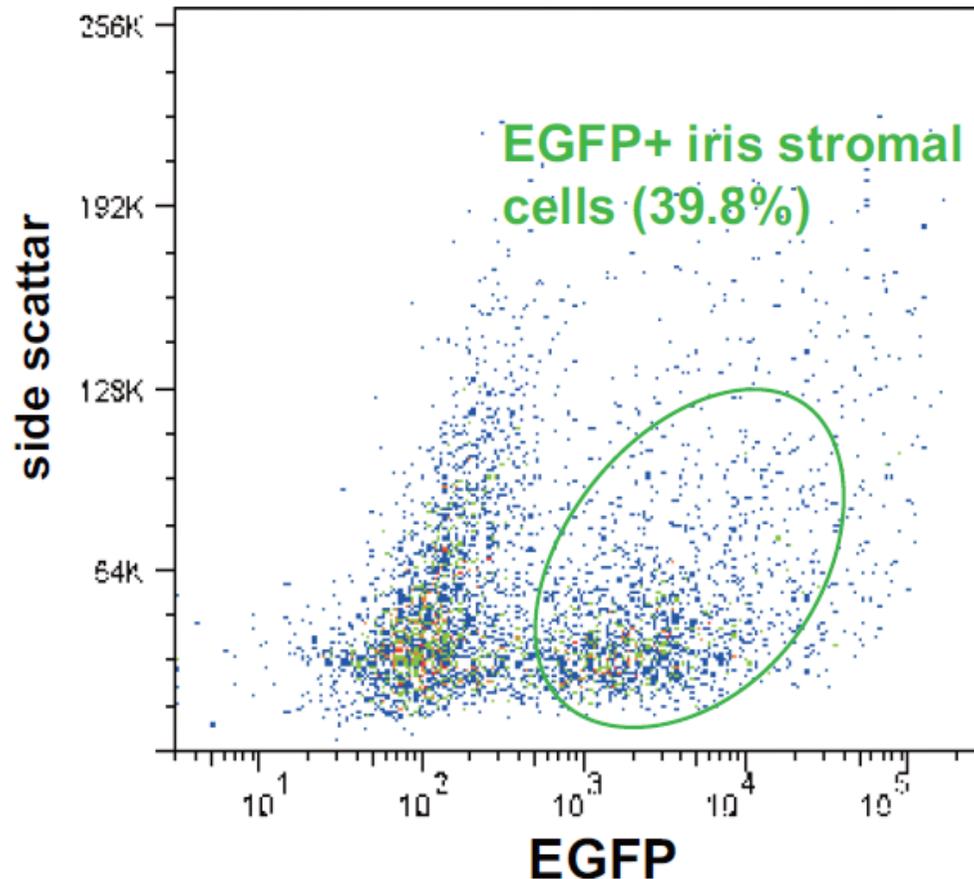
Scale bar: 100 μ m

培養3日目以降においてsphere形成が多数認められ、大部分のsphereはEGFP陽性であった(A)。

EGFP陽性sphereの少なくとも一部は2次sphereも形成可能であった(B)。

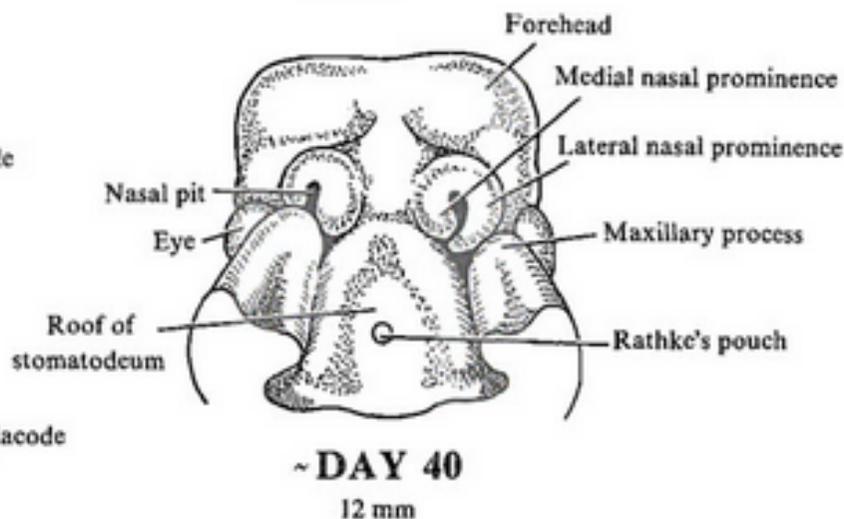
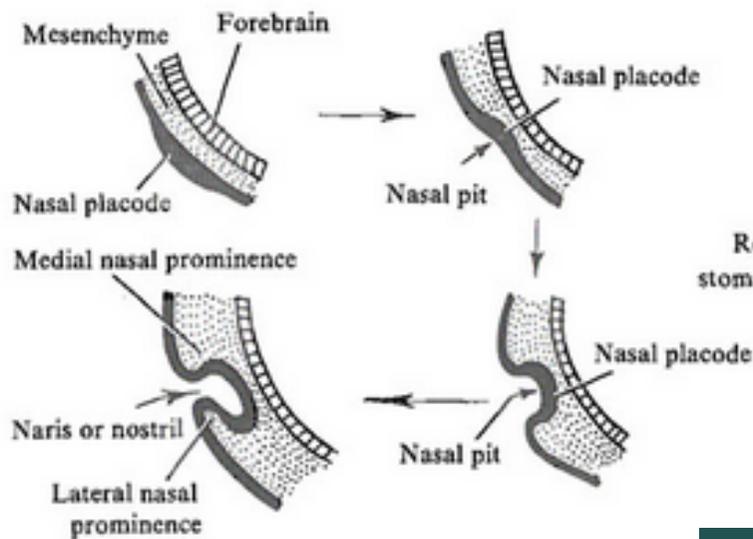
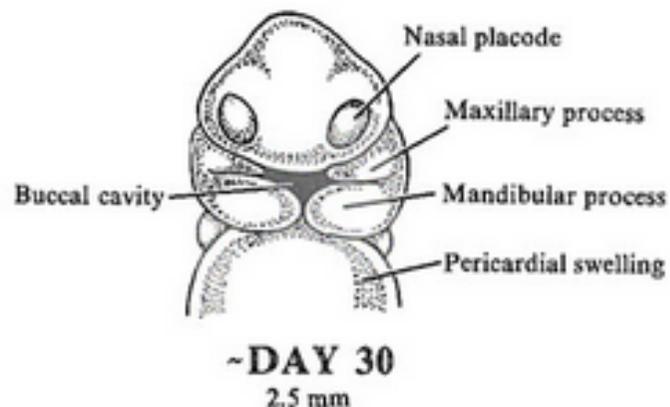
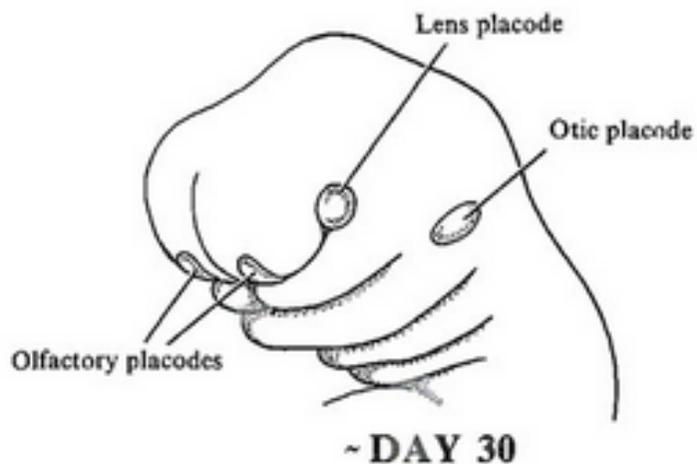
虹彩の神経堤由来細胞によるsphereが形成された

P0-Cre;EGFPマウス虹彩におけるEGFP陽性細胞のフローサイトメトリー解析とsphere培養

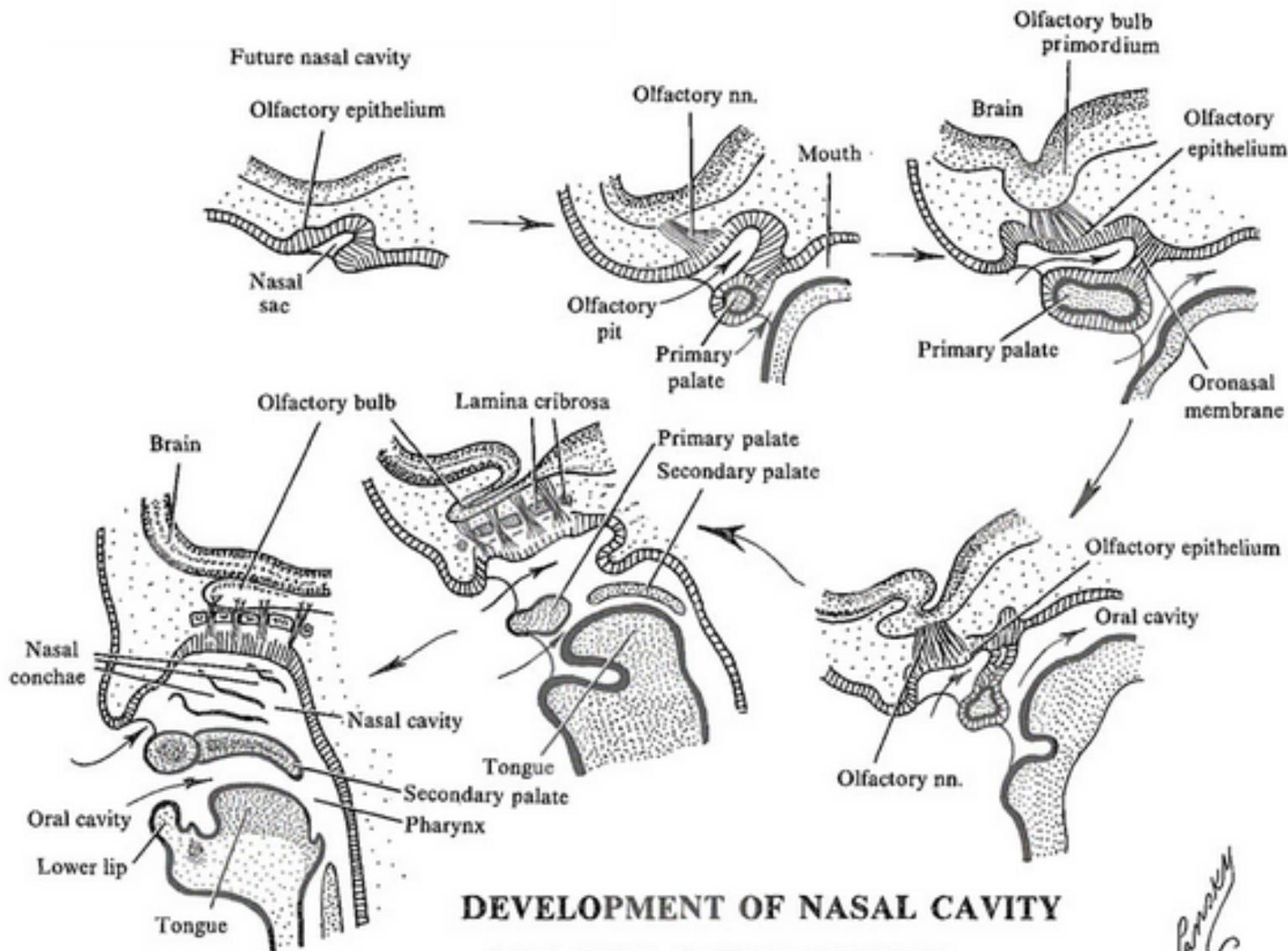


EGFP陽性である虹彩実質細胞は全虹彩細胞の約40% ($39.8 \pm 2.3\%$, $n=6$)であり、単離したEGFP陽性細胞は陰性細胞に比較して高いsphere形成能を有していた。

嗅覚器の発生：嗅上皮→鼻窩



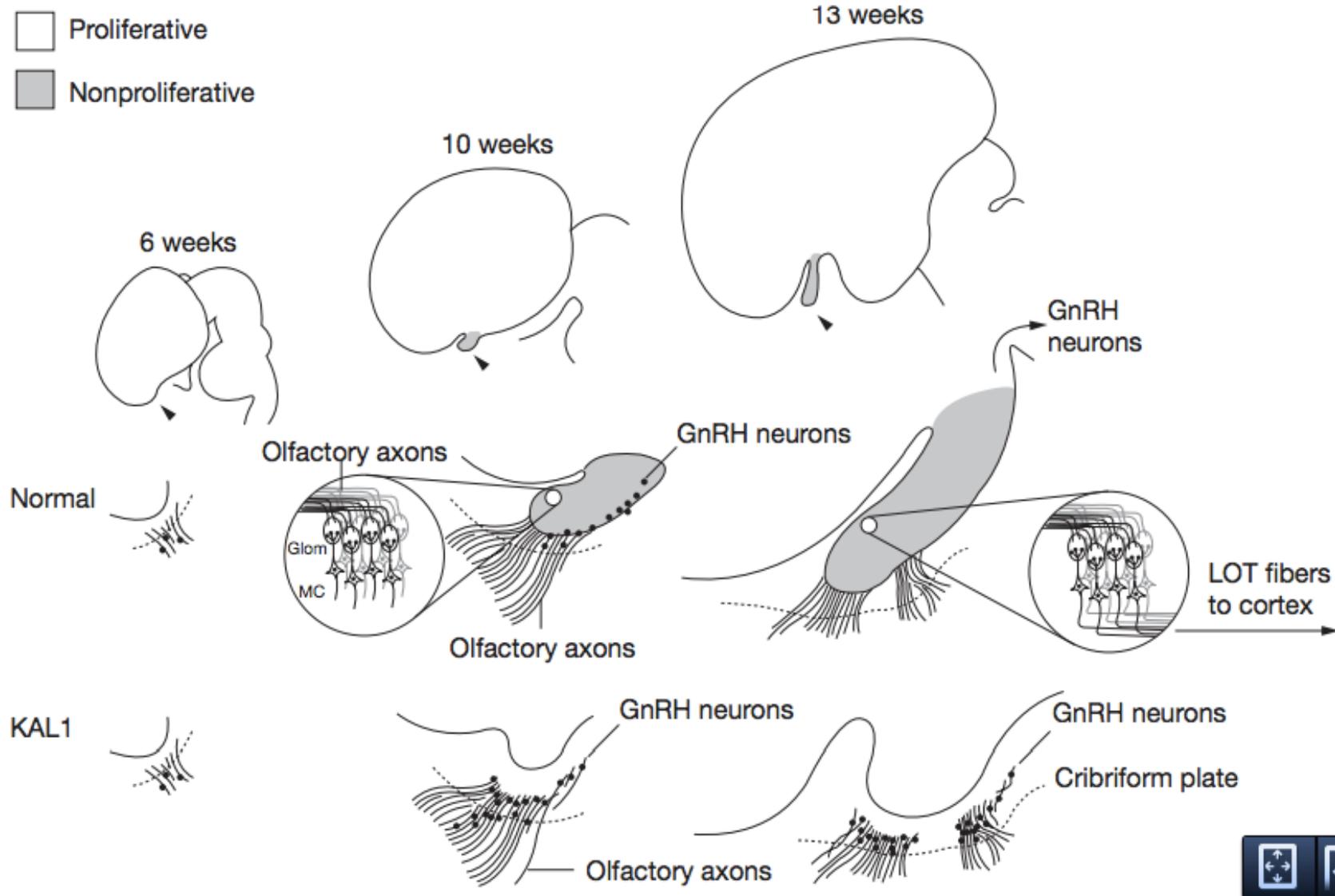
嗅覚器の発生：嗅上皮→鼻窩



**DEVELOPMENT OF NASAL CAVITY
AND OLFACTORY REGION**

Ranaka

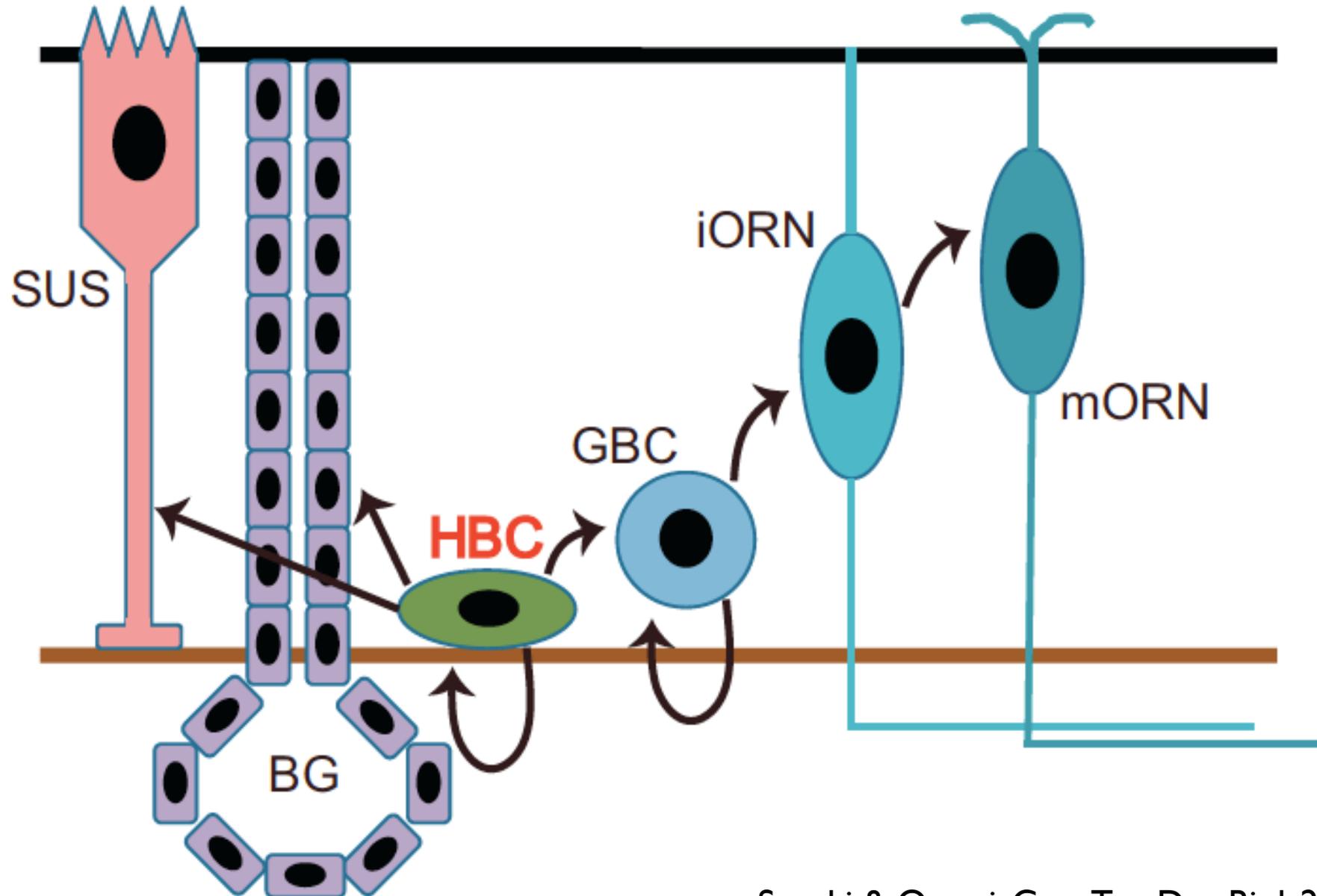
嗅覚器の発生：嗅上皮から移動するニューロン



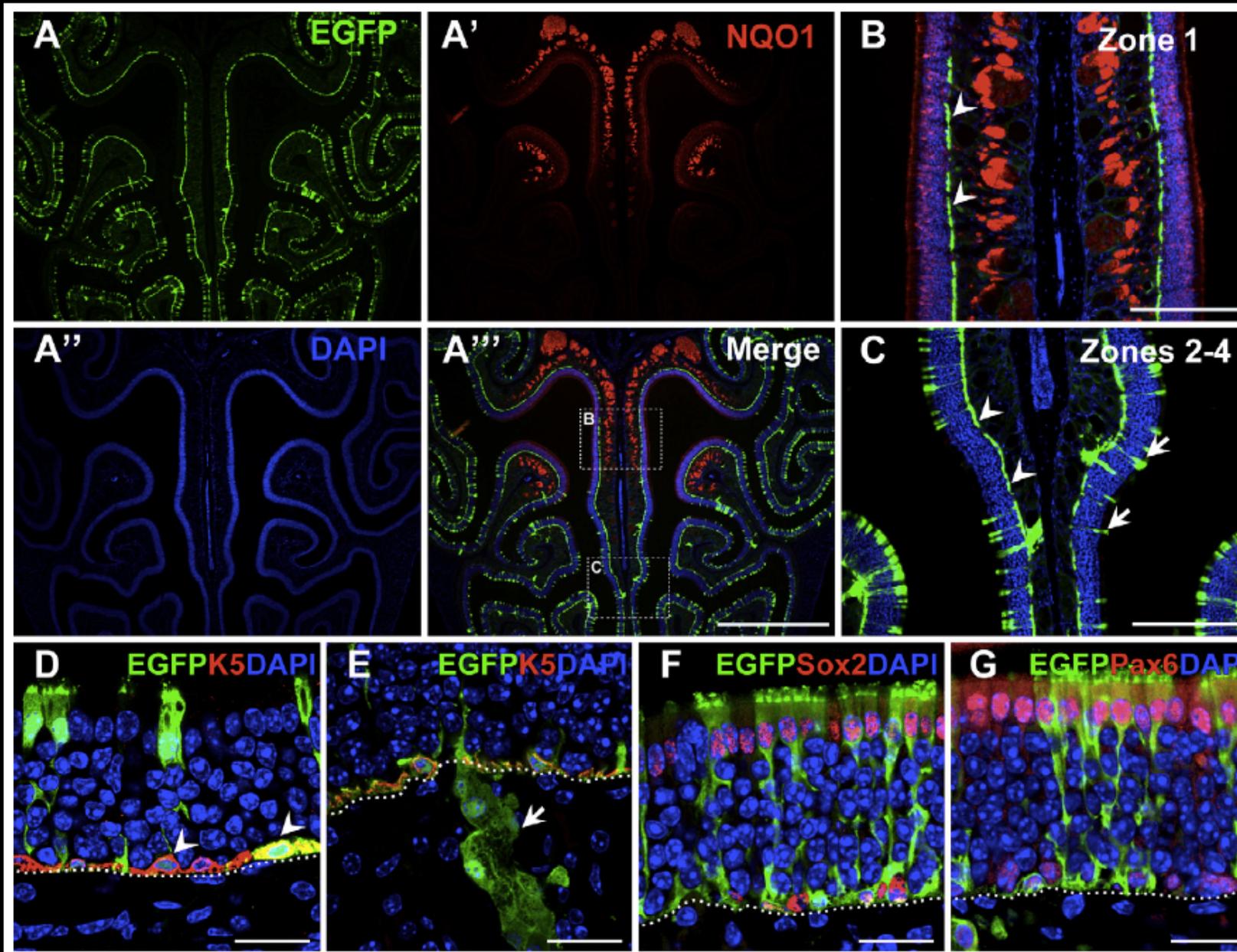
Tsai P-S and Gill JC (2006) Mechanisms of Disease: insights into X-linked and autosomal-dominant Kallmann syndrome *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2: 160–171 doi:10.1038/ncpendmet0119



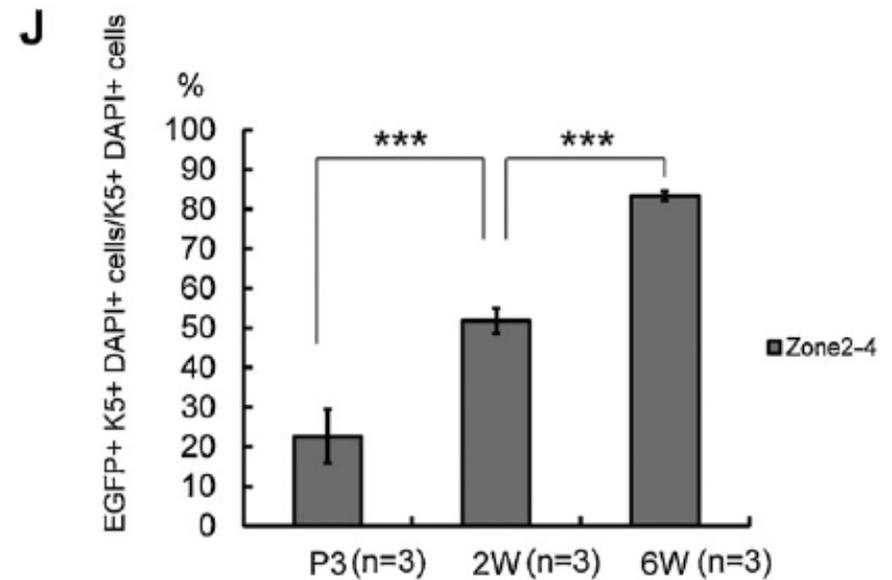
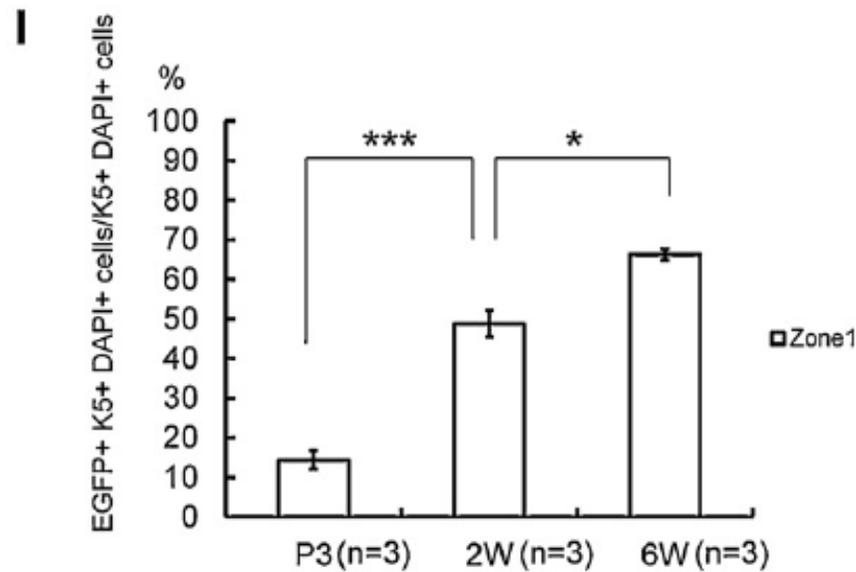
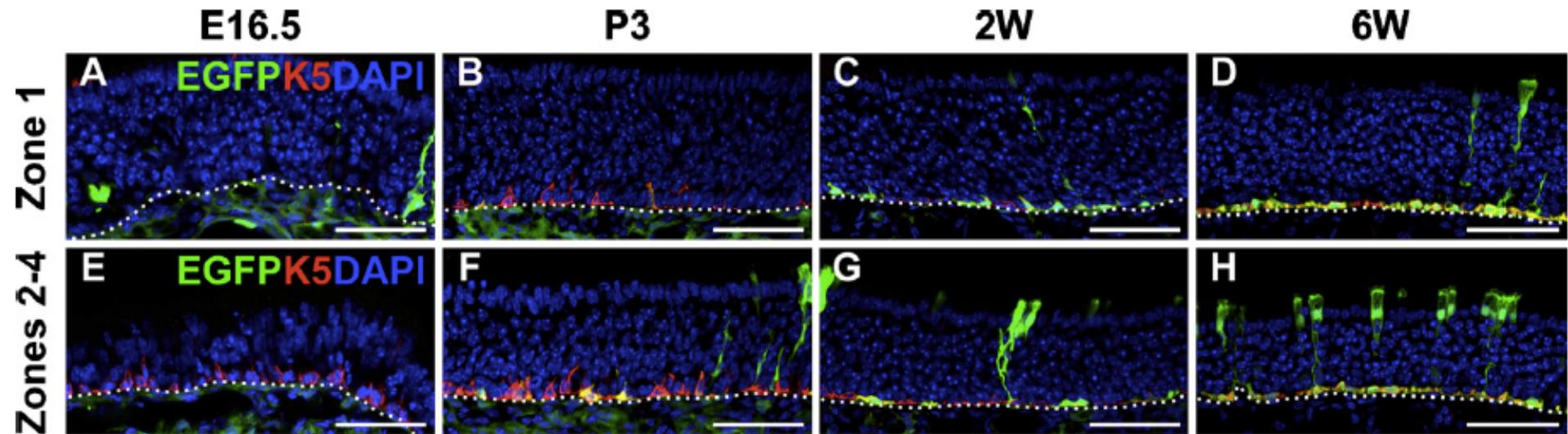
A The recruitment of HBCs after a severe OE injury



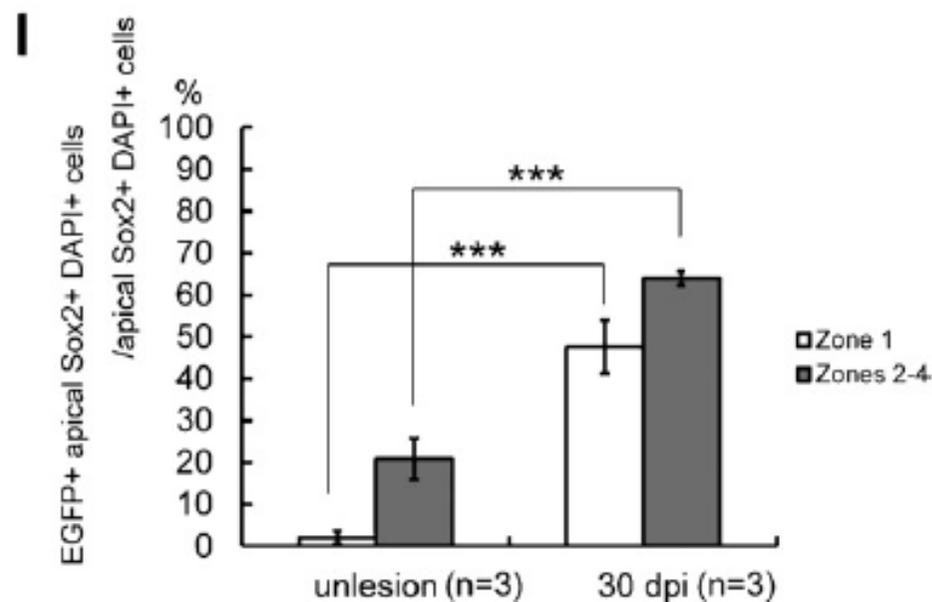
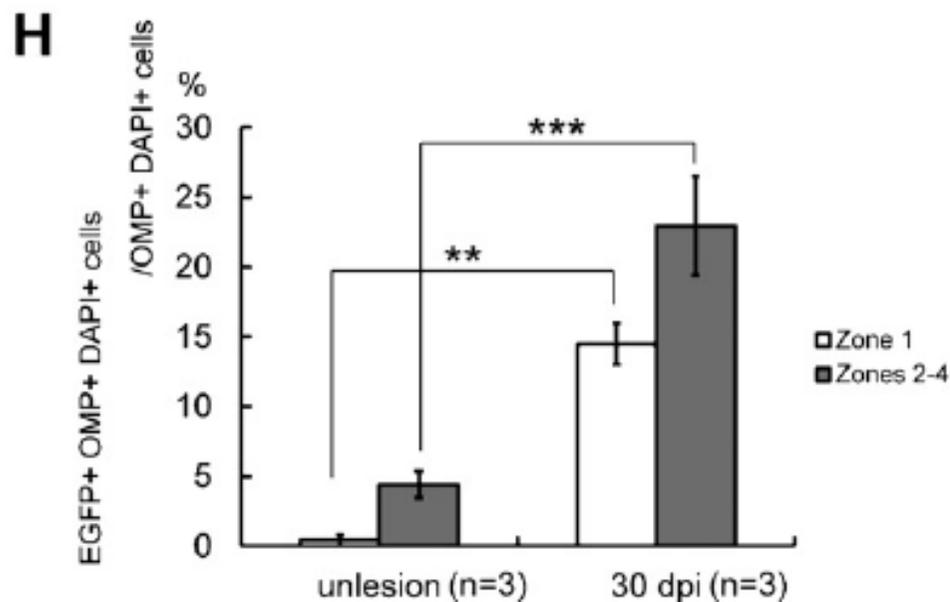
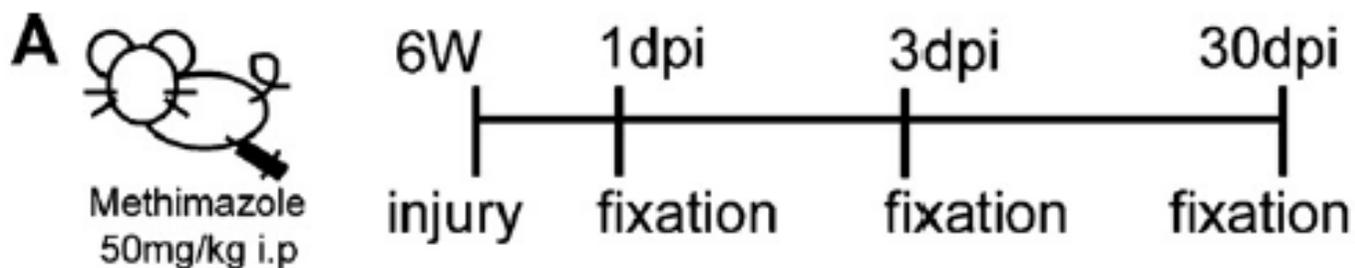
嗅上皮中にもNCCsがいる!



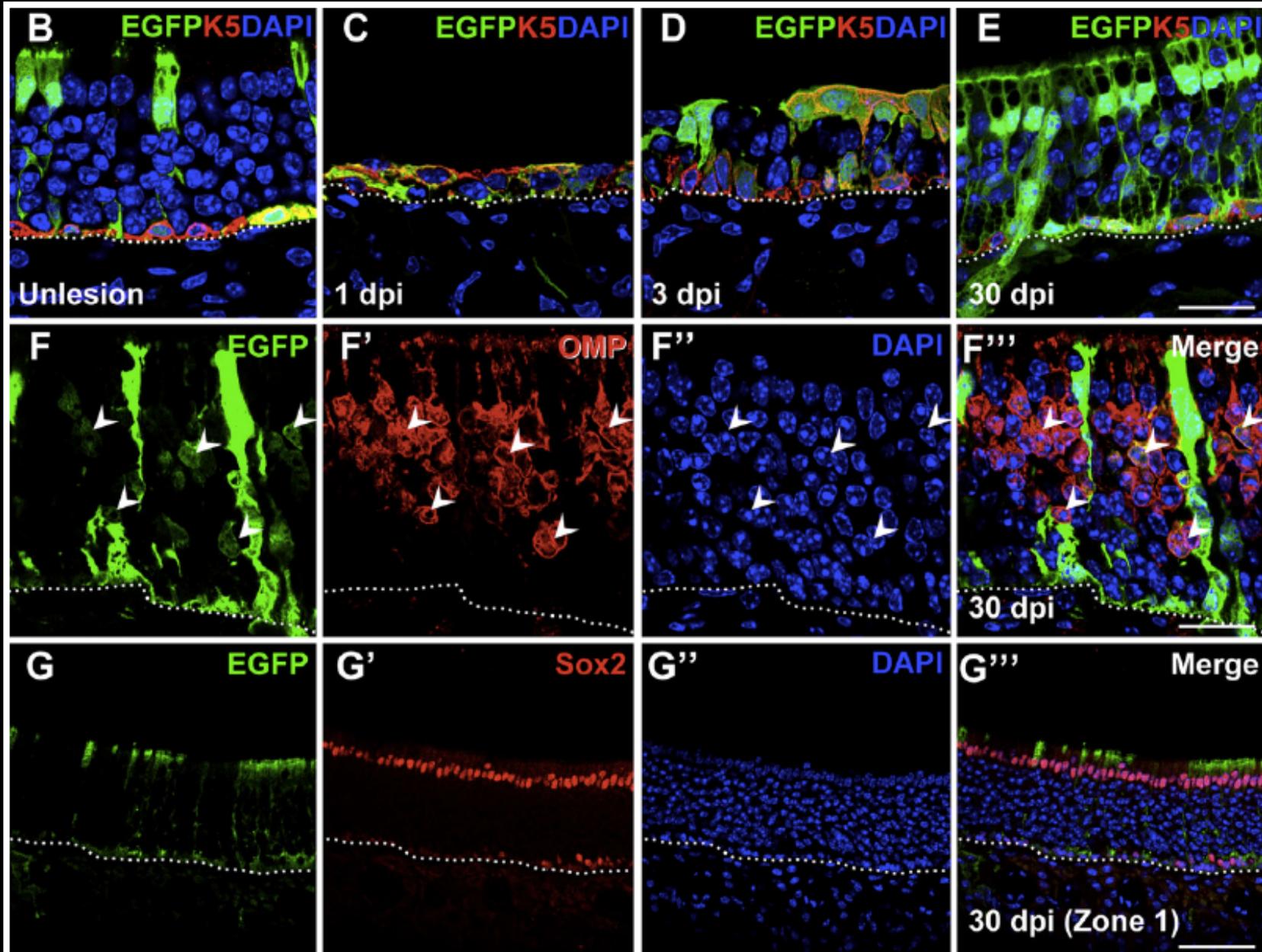
嗅上皮の幹細胞は徐々にNC由来に置き換わる



嗅上皮の再生実験



NC由来細胞の再生力が強い



来週の講義予定（医化学とチェンジして午前）



- 6/15(10) : 第9章（中枢神経系）
- 6/15(11) : 第10章（末梢神経系）
- 6/15(12) : 第17章（視覚聴覚器）
- 6/22(13) : 第11章（呼吸器系・体腔）
- 6/22(14) : 第14章（消化管）
- 6/22(15) : 第16章（顎顔面頭頸部）
- 6/29(16) : 第15章（泌尿生殖器）
- 6/29(17) : 第12章（心臓）（小椋先生）
- 6/29(18) : 第13章（脈管系）（小椋先生）