



2022年10月28日

報道関係者各位

慶應義塾大学

たった一層の表皮が個体全体を曲げる — ホヤの胚の湾曲のメカニズム解明 —

慶應義塾大学大学院理工学研究科の修士2年 小暮悠暉、同大学理工学部の岡浩太郎教授、堀田耕司准教授らは、オーストリア IST 研究所の C. P. Heisenberg 教授、Benoit Godard 博士と共同で、ホヤの腹側方向に湾曲した胚（生まれる前の段階の個体）の形を制御する遺伝子を見出しました。さらに、この遺伝子が一部の表皮細胞の形を変えることにより、勾玉状の胚の形をうみだすことを明らかにし、尾部の湾曲機構の新規モデルを提案しました。

ホヤからヒトまでを含む脊索動物の多くは尾の形成される時期（尾芽胚期）にいくつかの類似した形態を示します。そのうちの一つに胚の腹側への湾曲があります。本研究ではホヤの尾部が腹側へ湾曲する際、表皮細胞は特殊な三次元構造をもつ「舟型細胞」になることを発見しました。また、本研究結果より、この舟型細胞の形成が尾部の湾曲を制御するモデルを提案しました。このモデルでは、尾の中軸組織である脊索の伸長力と腹側表皮のみにある舟型細胞による抵抗力が連携することで、尾部が腹側へ湾曲します。

本研究結果はさまざまな脊索動物の個体全体の形づくりの理解に大きく貢献すると期待されます。また、三次元的な組織・器官を作り出すための再生医療や試験管内で人工的に胚を作り出す技術の発展に役立つと考えられます。

研究成果は、2022年10月19日に発生生物学の国際専門誌『Development』に掲載されました。

1. 研究の背景

生き物の形はどのように決められるのでしょうか。私たち生物はさまざまな形を持っています。その多様性は卵が受精して2細胞に分裂するところから始まり、遺伝子という設計図に従って作られていると考えられます。しかし、遺伝子から立体的な生き物の形が作られる機構には謎が多く残されています。

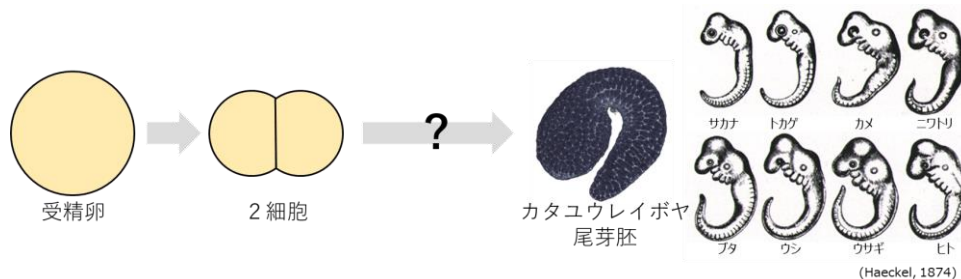


図1. さまざまな脊索動物の尾芽胚

哺乳類を含む脊索動物胚の多くは尾部の形成される時期（尾芽胚期）に類似した形態（図1）と遺伝子発現を示すことが知られています。尾部伸長機構については、多くの研究がなされており、ホヤ

では脊索（尾の中心を通る軸組織）の細胞が形態変化することで前後の伸長方向への力を生み出すことが知られています (Lu *et al.*, 2019; Miyamoto and Crowther, 1985)。

伸長と同時にホヤの尾部は腹側へ湾曲します。伸長についての研究が進む一方、尾部湾曲機構についてはごく最近、脊索における背腹非対称なアクトミオシン（リン酸化ミオシンを含む）の集積が生み出す収縮力が原因であるということが示されました (図 2、脊索モデル Lu *et al.*, 2020)。しかし、依然としてそのような形態を作り出す上流制御遺伝子はわかっていませんでした。そこで本研究では尾部湾曲を制御する遺伝子を探索するとともに、尾部湾曲に伴う形態変化を 1 細胞レベルで観察することで、新たな尾部湾曲モデルを提案しました (図 2、脊索・腹側表皮連携モデル)。

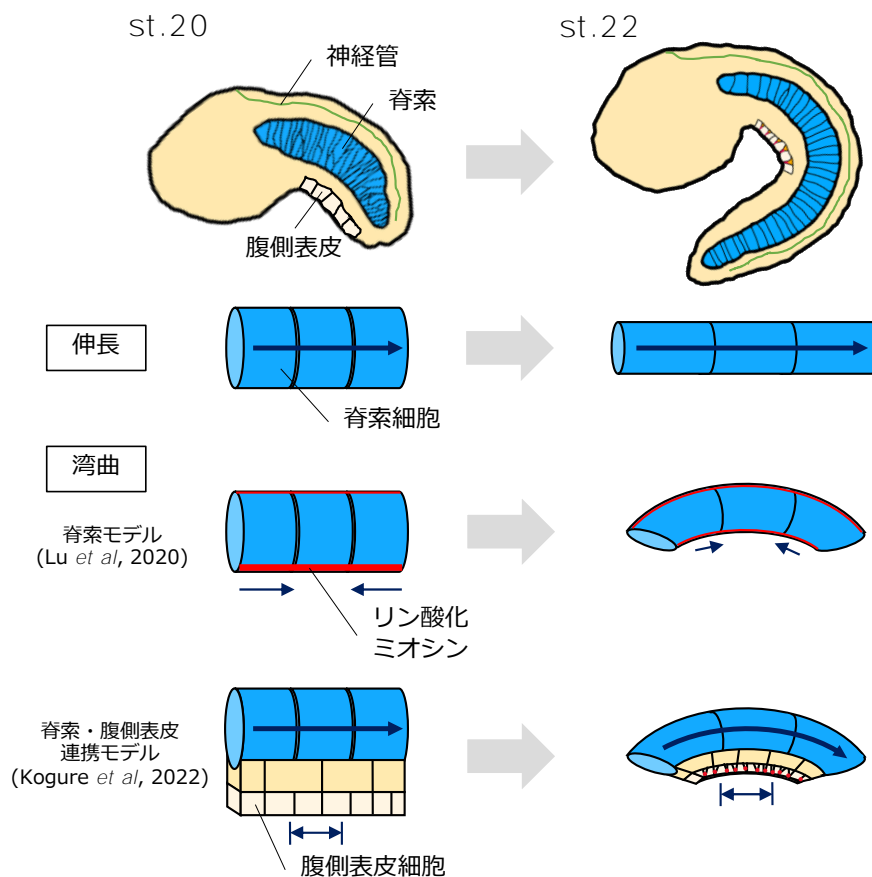


図 2. ホヤ尾部組織と尾部湾曲モデル

2. 研究の概要

ホヤは脊椎動物に最も近縁であり、構成する細胞数が少なく細胞系譜も明らかであるため、脊椎動物の発生や進化を理解する上で非常に有用なモデル生物です。これまでカタユウレイボヤを用いて発生に関する多くの研究がなされてきました。本研究グループはこれらの研究論文を読み込むことで、(尾部湾曲については注目されていませんでしたが) *Admp* 遺伝子を機能阻害（ノックダウン）した際に尾部は湾曲を示さないようにみえることに着目しました。そこで実際に、*Admp* 遺伝子をノックダウンした胚を時系列で観察したところ、腹側への湾曲は観察されませんでした (図 3; [動画リンク※2](#))。また、*Admp/Bmp* のシグナル伝達を阻害することでも同様の湾曲を示さない胚を得ました。このことから、このシグナルが腹側への湾曲を制御していることが明らかになりました。もともと、*Admp/Bmp* シグナルは *Msx* 遺伝子の活性化を通じて腹側表皮の末梢神経細胞への分化を制御していること (Waki *et al.*, 2015) が知られていましたが、*Msx* 遺伝子の機能を阻害しても腹側への

湾曲は観察されることから、Admp/Bmp シグナルは *Msx* 遺伝子を介した経路とは別に腹側への湾曲を制御する経路が存在することが示唆されました。

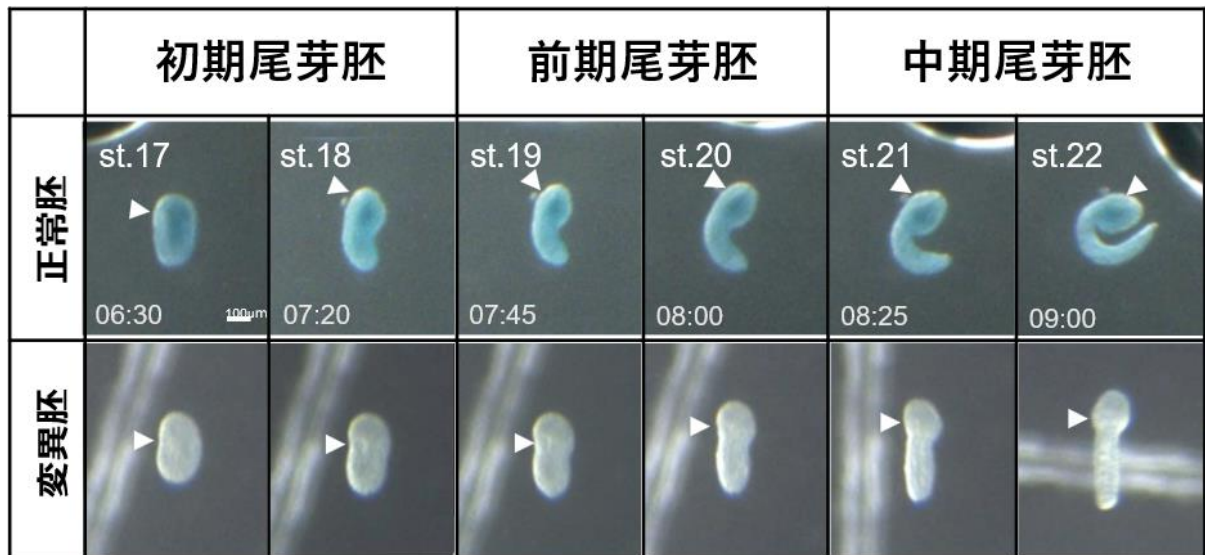


図 3. 正常胚と変異胚 (*Admp* 遺伝子ノックダウン胚) の尾部形成のタイムラプス観察
 時間は受精後経過時間、矢頭は背側の神経孔の位置。
 変異胚では尾は曲がらず、まっすぐ伸びていることがわかる。

次に Admp/Bmp シグナルが胚のどこに伝達しているかを調べました。その結果、胚の腹側表皮細胞でのみシグナルが観察されました。一方、先行研究で曲がりに関わるとされた脊索ではシグナルの伝達は観察されませんでした。さらに、*Admp* 遺伝子ノックアウト胚の脊索ではアクチンの非対称な蓄積は保持されていることがわかりました。このことから、Admp/Bmp シグナル伝達は以前提案された脊索モデルとは独立の経路で尾部湾曲を制御していることが示唆されました。

そこで本研究グループはシグナルの検出された腹側表皮細胞に着目しました。表皮細胞を詳しく観察したところ、インターカレーション（細胞間に隣接する細胞が挿入される運動のこと）を開始するはずの腹側表皮細胞で細胞の形態変化の異常がみられることが明らかになりました（図 4）。また、表皮組織は細胞のインターカレーションにより前後に伸長することが知られています。興味深いことに、腹側への尾部湾曲が起こる時期はインターカレーション中であるにもかかわらず、腹側表皮は伸長しないことがわかりました。

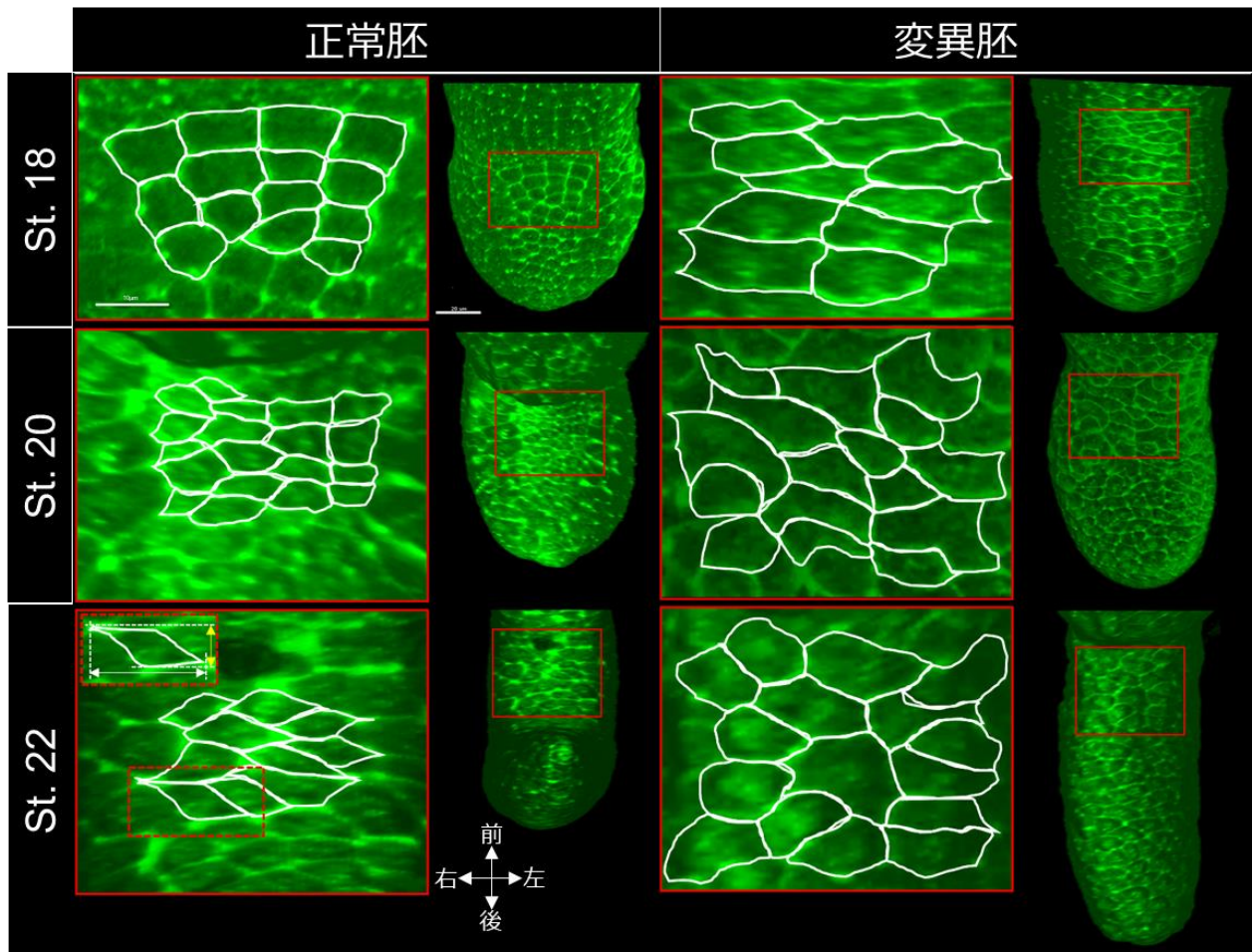


図 4. 正常胚 (WT) と変異胚 (*Admp* 遺伝子ノックダウン胚) の尾部腹側表皮の形態変化
 正常胚では st. 18 から st. 22 にかけてインターカレーションすることで細胞形態が均一な方向に扁平になっていく。一方、この変化は変異胚ではみられない。

さらに詳しくこの時期の腹側表皮細胞の形態を調べるために共焦点顕微鏡を用いて、三次元での形態解析を行いました。その結果、ほぼすべての尾部前半の腹側表皮細胞は特徴的な形態を持つことがわかりました (図 5)。この細胞の形が舟に似ていることから、本研究グループはこの細胞を「舟型細胞 (boat cell)」と名付けました (図 6)。尾部前半は主に湾曲を担っている場所 (Lu *et al.*, 2020) であるため、舟型細胞は湾曲に寄与している可能性が示唆されました。

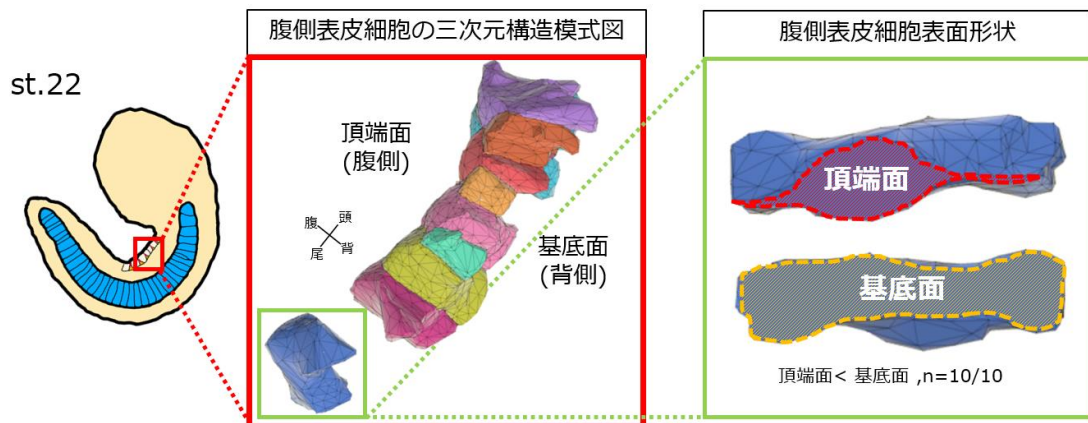


図 5. 尾部湾曲が最大になる時期 (st. 22) における腹側表皮細胞の三次元形態
頂端面より基底面が広く、頂端面は左右方向に
細長い筋状の構造を持つ舟のような形となる。

この舟型細胞への形態変化を理解するために、アクチンとリン酸化ミオシンの局在を調べました。舟型細胞はその特徴的な形態から、三角状の断面 (TSBC) と四角状の断面 (SSBC) があることがわかります (図 6A)。これらをそれぞれ観察すると、舟型細胞の三角状の断面 (TSBC) の頂端側 (胚の腹側表面側) にアクトミオシンが集積していることがわかりました (図 6B)。

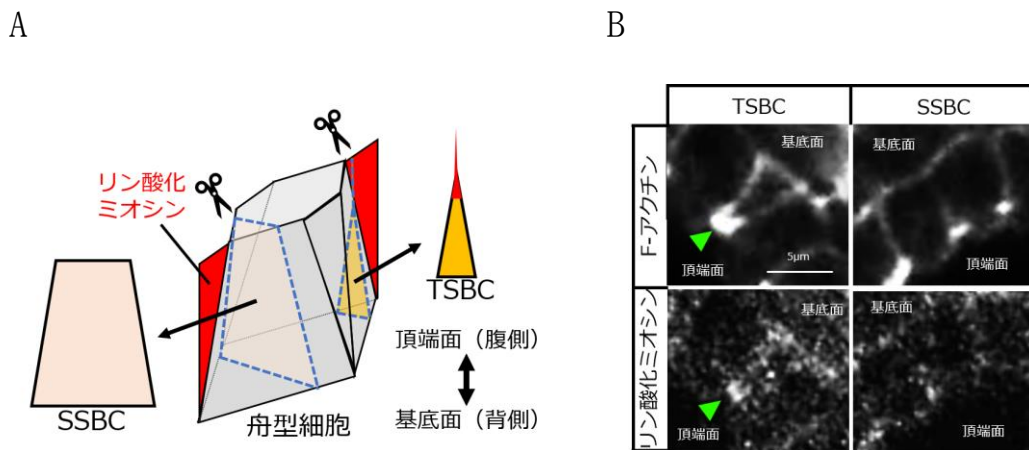


図 6. 舟型細胞の模式図 (左) と舟型細胞断面でのアクトミオシン局在 (右)
緑の矢頭は三角状の断面の頂端面にアクトミオシンが集積していることを示す。

この舟型細胞をホヤの腹側表皮のように複数、1層で並べると湾曲した面が作られることは以下に示したペーパークラフトで実際に検証することができます (図 7)。

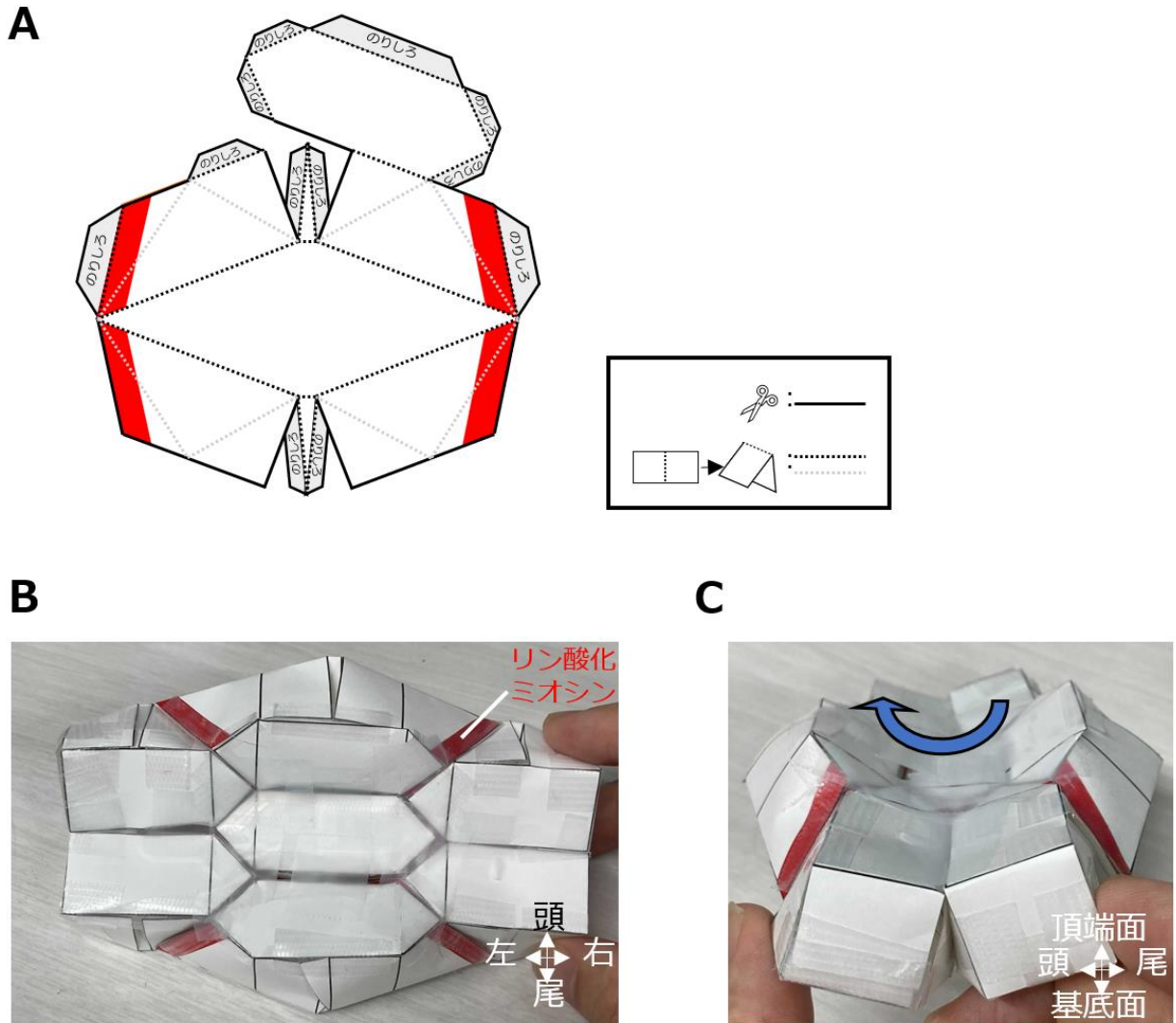


図7. 腹側表皮の舟型細胞を模したペーパークラフト (A ; 付録参照) およびそれらを複数組み立てて曲がった面を再現した模型 (B、C)。赤色の部分はリン酸化ミオシンの局在部位を示す。

次に本研究グループは、舟型細胞への形態変化を *Admp* 遺伝子が制御しているのかを調べました。*Admp* 遺伝子ノックダウン胚の腹側表皮では舟型細胞は観察されませんでした。また、本来 *Admp*/*Bmp* シグナル伝達が起こらない腹側以外の表皮細胞に異所的に *Bmp* を発現させたところ、シグナル伝達が異所的に観察された表皮細胞でも舟型細胞が形成されていることがわかりました。さらに、リン酸化ミオシンは常に舟型細胞の両端側に集積し (図 6A)、ノックダウン胚では観察されませんでした。これらのことから、舟型細胞の形成とリン酸化ミオシンの集積は *Admp* 遺伝子によって制御されていることが示唆されました。

以前より、脊索細胞が形態変化を起こし、前後軸方向への伸長の力を生み出すことが知られています (Lu *et al.*, 2019; Miyamoto and Crowther, 1985)。一方、尾部湾曲時に舟型細胞は (前後の伸長に逆らうように) 伸長方向に直交する方向に形態変化する細胞であること (図 4) から、本研究グループは腹側表皮が尾の伸長力に抵抗し、尾部湾曲を引き起こしているのではないかという仮説を立てました。実際に腹側表皮細胞が前後に伸長する力に抵抗していることを示すため、表皮細胞

をレーザーで切断し、その際に湾曲の緩和が観察されるかを調べました。予想通り、尾は腹側表皮細胞を切断した場合にのみ湾曲の緩和を示しました（[動画リンク※3](#)）。

以上のことから、本研究グループは腹側表皮細胞の抵抗力による尾部湾曲の新規モデルを提案しました（図8）。

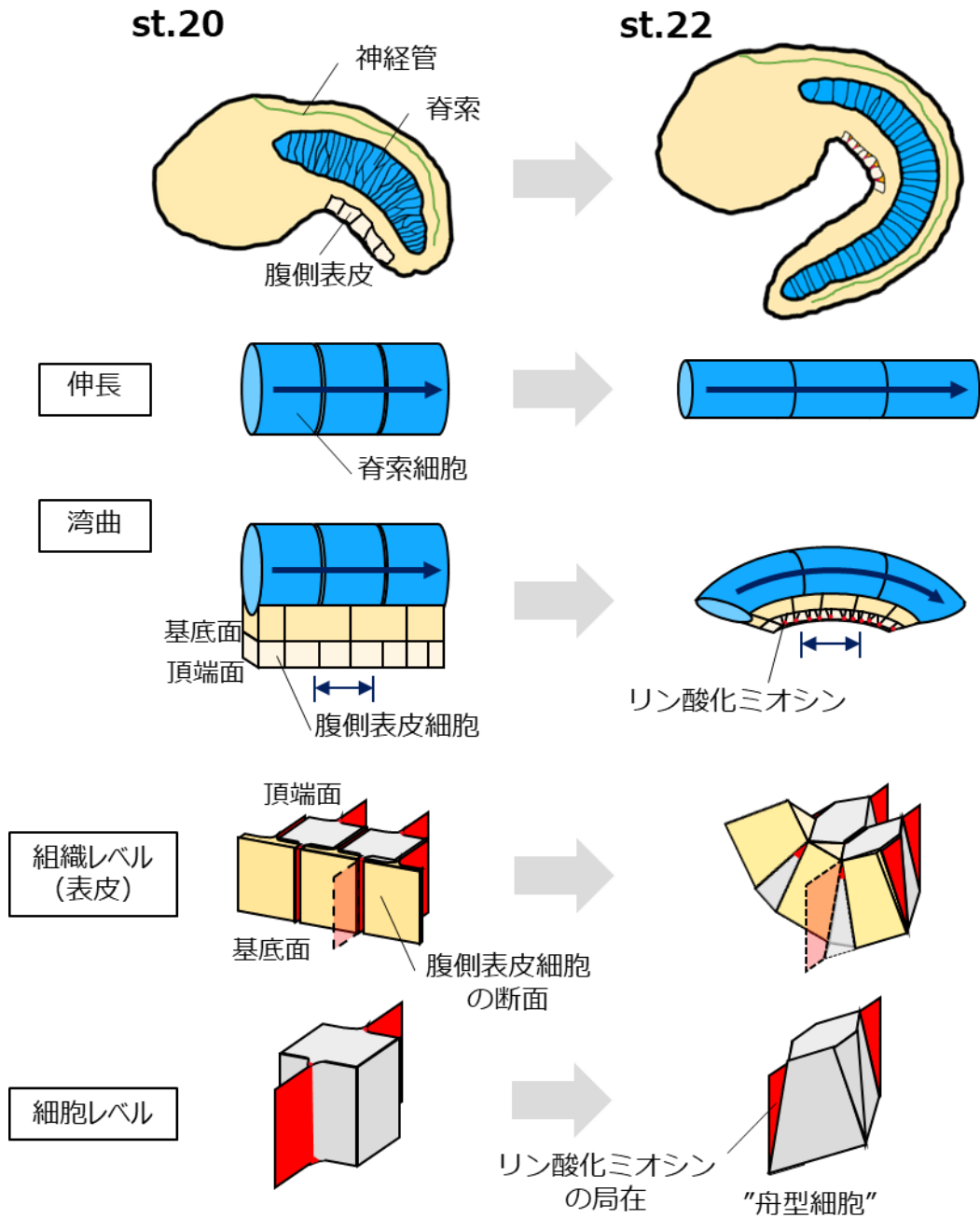


図8. 新規尾部湾曲モデル

3. 今後の展望

本研究により腹側への尾部湾曲を制御する上流遺伝子を見出し、その新規メカニズムを提案することができました。しかし、Admp/Bmp のシグナル伝達下で湾曲を制御する下流の遺伝子は不明です。また、他の脊索動物でも共通の機構で個体の形が制御されているのか調べてみる必要があります。マウスやニワトリでは、発生途中で湾曲方向が背腹で反転することが知られています（軸回転と呼ばれている）。ホヤ胚の尾部も同様に腹側への湾曲の後、背側へ湾曲が逆転することが知られており（Hotta *et al.*, 2007）、本研究では尾部湾曲という大きなテーマのうちの「腹側への湾曲」という一部のメカニズムを解明したにすぎません。軸回転が起こらなくなるとマウスは致死（Faisst *et al.*, 2002）となることから、胚の湾曲機構は単なる形づくりに留まらず、発生において重要なイベントであると考えられます。ホヤにおいて尾部湾曲機構を明らかにすることで脊索動物全般の発生における重大な謎を解明できる可能性があります。また、本研究のように個体全体の形づくりを分子・細胞レベルから解明することは、三次元的な組織・器官を作り出すための再生医療や試験管内で人工的に胚を作り出す技術の発展に役立つと考えられます。

4. 謝辞

本研究は以下の方々のご支援を受けました。

カタユウレイボヤの提供 NBRP

- 京都大学 大学院理学研究科 生物科学専攻 佐藤ゆたか 准教授
- 東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻 吉田学 准教授

Admp/Bmp に関する知見と DNA の提供

- 京都大学 大学院理学研究科 生物科学専攻 佐藤ゆたか 准教授
- 大阪大学 大学院理学研究科 生物科学専攻 今井薫 准教授

本研究は、以下の研究助成の支援を受けて実施されました。

- JSPS 科研費：16H01451・21H00440

<原論文情報>

【題名】 *Admp* regulates tail bending by controlling ventral epidermal cell polarity via phosphorylated myosin localization in *Ciona* (*Admp* 遺伝子はホヤの腹側表皮細胞のミオシンリン酸化局在を制御することで尾部湾曲を制御する)

【著者名】 Yuki S. Kogure, Hiromochi Muraoka, Wataru C. Koizumi, Raphael Gelin-alessi, Benoit Godard, Kotaro Oka, Carl-Philipp Heisenberg*, and Kohji Hotta*

【掲載誌】 *Development*

【論文 URL】 <https://journals.biologists.com/dev/article/149/21/dev200215/278081/>

【DOI】 <https://doi.org/10.1242/dev.200215>

【Twitter】 @Yuki_SKogure, @HottaKohji

<参考文献>

- Faisst, A. M., Alvarez-Bolado, G., Treichel, D. and Gruss, P. (2002). Rotatin is a novel gene required for axial rotation and left-right specification in mouse embryos. *Mech. Dev.* **113**, 15-28.
- Hotta, K., Yamada, S., Ueno, N., Satoh, N. and Takahashi, H. (2007). Brachyury-downstream notochord genes and convergent extension in *Ciona intestinalis* embryos. *Dev. Growth Differ.* **49**, 373-382.
- Lu, Q., Bhattachan, P. and Dong, B. (2019). Ascidian notochord elongation. *Dev. Biol.* **448**, 147-153.
- Lu, Q., Gao, Y., Fu, Y., Peng, H., Shi, W., Li, B., Lv, Z., Feng, X.-Q. and Dong, B. (2020). *Ciona* embryonic tail bending is driven by asymmetrical notochord contractility and coordinated by epithelial proliferation. *Development* **147**, 1-12.
- Miyamoto, D. M. and Crowther, R. J. (1985). Formation of the notochord in living ascidian embryos. *J. Embryol. Exp. Morphol.* **86**, 1-17.
- Waki, K., Imai, K. S. and Satou, Y. (2015). Genetic pathways for differentiation of the peripheral nervous system in ascidians. *Nat. Commun.* **6**, 8719.

<用語説明、参考資料>

※1 カタユウレイボヤ

世界的に研究に用いられているホヤのモデル生物の一つ
学名 *Ciona intestinalis* type A (*Ciona robusta*)

※2 正常胚と *Admp* を機能阻害した胚における尾芽胚期の発生過程比較 (動画)

<https://movie.biologists.com/video/10.1242/dev.200215/video-1>

※3 レーザーカッターを用いた表皮切断による湾曲緩和実験 (動画)

<https://movie.biologists.com/video/10.1242/dev.200215/video-3>

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送信させていただいております。

・研究内容についてのお問い合わせ先

慶應義塾大学 理工学部 生命情報学科 准教授 堀田耕司 (ほったこうじ)

TEL : 045-566-1700 FAX : 045-566-1789 E-mail : khotta@bio.keio.ac.jp

・本リリースの配信元

慶應義塾広報室 (望月)

TEL : 03-5427-1541 FAX : 03-5441-7640

E-mail : m-pr@adst.keio.ac.jp <https://www.keio.ac.jp/>