

平成 22 年 6 月 9 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2008～2009

課題番号：20870024

研究課題名（和文） セロトニン合成酵素 T p h d 2 の体軸形成における役割

研究課題名（英文） Roles of the serotonin synthesis enzyme, TphD2, in body patterning

研究代表者

前川 真吾 (MAEGAWA SHINGO)

京都大学・情報学研究科・助教

研究者番号：30467401

研究成果の概要（和文）：本研究から新規知見として以下の事実が得られた。1. セロトニン合成酵素阻害剤および抗うつ剤（SSRI）Prozac が胚発生異常を引き起こす。2. Prozac が阻害するセロトニントランスポーター（*serta*）が原腸胚期に発現していることを見出した。3. 原腸胚期にセロトニンが存在することが明らかとなった。以上から、セロトニンが体軸の形成に密接に関わることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：I found the following facts with zebrafish embryos. 1. Inhibitors of tryptophan hydroxylase or the antidepressant, Prozac, affected convergence during the body patterning. 2. A serotonin transporter, *serta*, which is the target for Prozac, is expressed during gastrulation. 3. Gastrula embryos produced serotonin. Based on the findings, I conclude that serotonin is involved in regulation of convergence movements during body patterning.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,340,000	402,000	1,742,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,540,000	762,000	3,302,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：胚葉形成・原腸形成・体節形成

## 1. 研究開始当初の背景

受精から始まる一連の初期発生過程により、たった一つの細胞でしかない受精卵から複雑な構造を持つ個体が形作られる。この過程では細胞運命決定と細胞移動が絶妙に制

御される必要がある。それでは個々の細胞はどのようにして自身の運命や正しい移動方向を知るのだろうか？この問題に対するひとつの回答がスーパーマンとマンゴールドによって発見された“オーガナイザー”で

ある。オーガナイザーはツメガエル初期胚を用いた移植実験から発見された組織であり、原腸胚期に背側領域に形成され、体軸誘導活性を示す組織である (Niehrs, 2004)。その後、同様の活性を示す組織が魚類から哺乳類初期胚まで幅広く存在することが示されてきた。これまでの研究から、オーガナイザーは細胞運命決定のシグナルセンターとして機能するだけでなく、原腸胚期に特徴的な細胞移動 (CE) をも制御することが明らかとなっている (Solnica-Krezel, 2005)。しかしながら、オーガナイザーが果たす機能に関してはいまだに未知の部分も多い。本研究では脊椎動物のモデルとして脚光を浴びているゼブラフィッシュを用いて、オーガナイザーの形成機構および機能の解明を目指す。

## 2. 研究の目的

本研究では脊椎動物のモデルとして脚光を浴びているゼブラフィッシュを用いて、オーガナイザーの形成機構および機能の解明を目指す。

## 3. 研究の方法

- a. *tphd2* 遺伝子のより詳細な発現部位の同定。*in situ* 法とプラスチック切片作製法を組み合わせ、原腸胚期における *tphd2* 遺伝子の発現部位の詳細な解析を行った。
- b. PCPA、Prozac 処理胚、*tphd2*MO インジェクション胚の *in situ* 法による形態形成の解析。
- c. RT-PCR 法によるセロトニン受容体、セロトニントランスポーターの単離および *in situ* 法による発現解析。

## 4. 研究成果

本研究から以下の点が明らかとなった。

- a. *Tphd2* 遺伝子はオーガナイザーの epiblast 側に強く発現する (図 1、2)

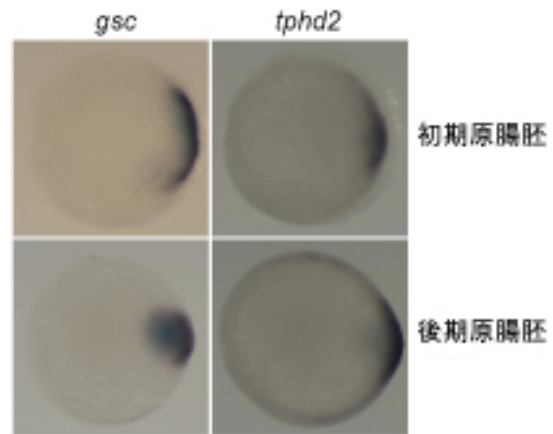


図 1 *tphd2* はオーガナイザーに発現するオーガナイザーのマーカーである *gsc* と発現様式を比較した。*gsc* は陥入する中軸中胚葉に強い発現が認められる。一方、*tphd2* 遺伝子は異なる発現様式を示すことが明らかとなった。



図 2 *tphd2* はオーガナイザーの epiblast 側に強く発現する。

図 1 の胚から薄切切片を作成した。オーガナイザーでは陥入している中軸中胚葉よりも epiblast 側で強い発現が認められる。

- b. セロトニン合成阻害剤および抗うつ剤 Prozac は convergence に異常を引き起こす (図 3)。

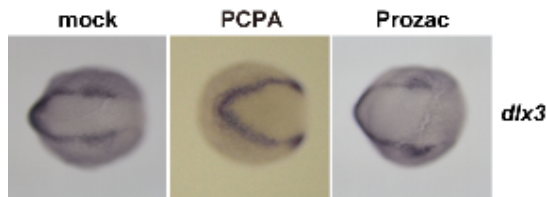


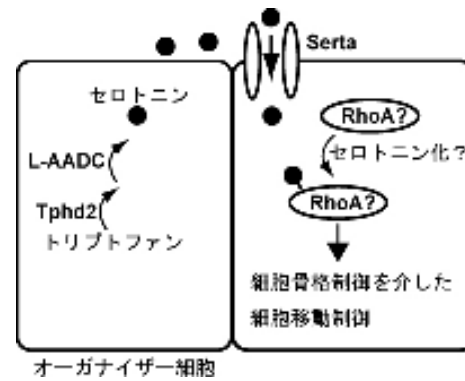
図3 PCPA、Prozac 処理胚では神経板領域の拡大がみられる。

PCPA 処理および Prozac 処理胚の形態形成を *dlx3* 遺伝子を指標として解析した。その結果、神経板領域の拡大が認められた。この結果はセロトニン合成やセロトニンシグナルの機能不全が形態形成運動に重要であることを示している。

- c. セロトニントランスポーター *serta* は原腸胚期に発現する
- 以上の効果から、原腸胚期にセロトニンが産生され、重要な役割を果たすことが明らかとなった。加えて、Prozac はセロトニントランスポーターの阻害剤であり、細胞外に分泌されたセロトニンを細胞内への再回収を阻害することがわかっている。そこで原腸胚期に実際にセロトニントランスポーターが発現しているか明らかとするために RT-PCR を行った。結果、*serta* 遺伝子が原腸胚期において発現することが明らかとなった。この結果から合成されたセロトニンは細胞内に回収されて機能することが示唆された。

#### 結論

セロトニンが胚発生過程に実際に機能し、胚形成過程に関わることを明らかとした。この知見は世界的にも類を見ない新規知見であり、新規学術分野の開拓につながるものである。現在、解析中の仮説を以下に示す。



#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

Shunsuke Hayashi, Shinichi Akiyama, Yutaka Tamaru, Yasuaki Takeda, Toshinobu Fujiwara, Kunio Inoue, Akio Kobayashi, \*Shingo Maegawa, and \*Eiichiro Fukusaki  
A novel application of metabolomics in vertebrate development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 386(1), 268-272, 2009

\*corresponding author, 査読有

[学会発表] (計4件)

Shingo Maegawa, Hiroshi Hosokawa, Eric S. Weinberg and Shigeo Kobayashi  
Roles of tryptophan hydroxylase in early development, American Society for Cell Biology annual meeting, 2008年12月13日—17日、米国 サンフランシスコ

Shingo Maegawa, Hiroshi Hosokawa, Eric S. Weinberg and Shigeo Kobayashi  
Serotonin is involved in zebrafish body patterning, 日本発生生物学会年会、2009年5月28日—31日、新潟、朱鷺メッセ

Shingo Maegawa, Hiroshi Hosokawa, Eric S. Weinberg and Shigeo Kobayahsi

Roles of tryptophan hydroxylase in zebrafish embryogenesis.、国際生理学会、2009年7月27日—8月1日、京都、国際会議場

前川真吾、細川浩、Eric S. Weinberg、小林茂夫、セロトニン合成酵素 Tph1b の体軸形成における役割、小型魚類研究集会、2009年9月12日-13日、名古屋、名古屋大学

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

前川 真吾 (Maegawa Shingo)  
京都大学・情報学研究科・助教  
研究者番号：30467401

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：