

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22127003

研究課題名（和文）到達距離が異なる複数の相互作用が生み出すマクロな構造

研究課題名（英文）macroscopic structure made by the interactions that differ in the effective distance

研究代表者

近藤 滋（KONDO, Shigeru）

大阪大学・生命機能研究科・教授

研究者番号：10252503

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 123,200,000円

研究成果の概要（和文）：本申請研究では、動物の皮膚模様ができる原理をゼブラフィッシュを使って解明することを目的とした。研究開始時点では、ゼブラフィッシュの模様がチューリングの反応拡散波としての性質を持つことは解っていたが、その詳しい原理については未解明だった。理論から予測された細胞間の相互作用と作用分子を、細胞生物学、分子生物学的な手法を使って同定して行き、最終的には、チューリング波を作るために必要な相互作用ネットワークの同定に成功した。インビトロ系での模様形成や、ギャップジャンクションが関与する原理など、興味深い研究の種はまだ多くあるが、模様形成原理という点に関しては、ほぼ目的を完遂することができたと思う。

研究成果の概要（英文）：In this project research, we aimed to clarify the mechanism that generates the skin pattern in animals using zebrafish. At the point of beginning, it was already known that the skin pattern has the nature of Turing pattern. However, the details of the cellular mechanism remained almost unknown. Following the prediction from the theory, we identified the cellular behaviors and the related molecules, and finally figured out the cell-cell interaction network that is compatible to the necessary conditions for the turing pattern formation. Although there are still left unsolved some interesting questions, for example, the in vitro pattern formation or the involvement of gap-junction, we concluded that the major part of our project has completed.

研究分野：発生学

キーワード：形態形成 皮膚模様 ゼブラフィッシュ 反応拡散 色素細胞 チューリング

1. 研究開始当初の背景

動物の模様形成原理は、発生学の中でも大きなトピックではあった。1995年の近藤の発見により、魚の皮膚模様がチューリングの波の性質を持つことが明らかになった。また、近藤のその後の研究により、色素細胞、特に黒色素細胞、黄色素細胞の相互作用が重要であることが解り、ネットワークの推定がなされていたが、残念ながら、細胞レベルの実験で確かめられたものでは無かった。

2. 研究の目的

本研究プロジェクトでは、ゼブラフィッシュを使い、色素細胞間の相互作用を分子レベルで解明して行くことで、模様形成原理の解明を試みる。さらに、それが解明されたことがよりはっきりと解るように、関連分子の遺伝子操作により、ゼブラフィッシュの模様を自在に改変するところまで進みたい。

3. 研究の方法

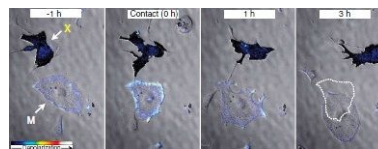
1) チューリング波のシミュレーションによれば、色素細胞の間には、近距離と遠距離の2つの相互作用が有るはず。これまでの研究から近距離はおそらく、細胞と細胞の直接の接触で、遠距離はリガンドによる拡散で伝わると考え、その実態の解明を目指す。

2) 解明されたネットワークが、チューリング波の形成条件を満たすかどうかをシミュレーションで確認。

3) 最後に、細胞間相互作用を遺伝子改変によって変化させることで、計算機上で行っていたパターン形成のシミュレーション実験を、リアルなゼブラフィッシュ上で再現する。すなわち、遺伝子改変により、あらゆる2次元パターンを、ゼブラフィッシュの上で作成する。

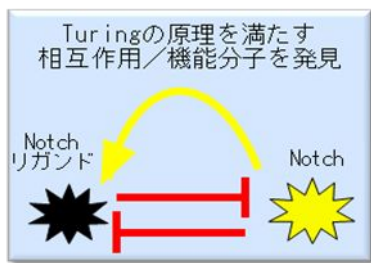
4. 研究成果

1) 直接接触による細胞間相互作用の確認。稲葉の研究(文献1)により、インビトロ培養状態に於いて、黒・黄色素細胞が直接反応するのを、細胞挙動として観察できることが解った。黄色素細胞は、黒色素細胞が接近すると、盛んに樹状突起を出して接触する。黒は、黄色に接触されると、反対の方向に細胞移動し、黄色細胞はそれを追うような動きを見せる。また、黄色細胞の樹状突起による接触は黒細胞に脱分極を起させることも解った。さらに、山中の論文(文献2)では、統計的な解析により、この動きが黄色、黒色素細胞にとって本来のものであることを証明し、シミュレーションの結果は、この細胞挙動が、黄色と黒色素細胞が分離する理由であることを示唆した。この反応が、チューリング理論が予測する「近距離の反応」で有ると考えられる。



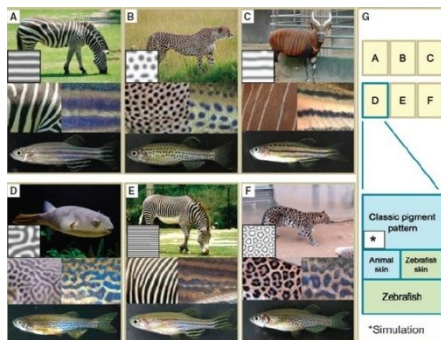
2) 長距離効果の同定

濱田の研究(文献3)が長距離効果の実態を明らかにした。濱田は、黄色・黒色素細胞のRNAの発現解析から、今日距離効果にかかわるリガンド、受容体の候補を見出し、それらを使って遺伝子導入を行ったところ、deltaC-notch1aが関係していることが解った。notchシグナルの特異的阻害剤であるDAPTを使うと、長距離効果の消失と思われる細胞死が起きるので、この分子システムが長距離効果に関係しているはずであるが、deltaC-notch1aは膜局在分子であり、矛盾するかと思われた。しかし、細胞膜をGFPでイメージングしてみると、黒色素細胞は黄色細胞の領域に長い足を伸ばして、黄色細胞に接触していることが解り、長距離刺激を介在できることが解った。



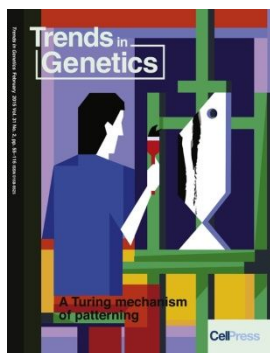
3) 遺伝子活性の tuning による模様の変更

チューリングの理論から、相互作用ネットワークにかかわる遺伝子の活性を人工的に返れば、様々な模様が作れるはずである。レオパード遺伝子（失われると斑点模様になる）のN端を決失させ、少しずつ異なる活性を持つ人工遺伝子をゼブラフィッシュに導入した結果、6種類以上の異なるパターンの模様を作ることに成功した。（文献4）



4) 研究のまとめ

以上の結果をまとめた総説を、cell journalの総説誌である trends in genetics から依頼されて出版した。（文献5）雑誌の表紙には、画家が魚に筆で模様を書いている絵が載っており、模様の謎が解明されたことを象徴している。



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11件)

渡邊正勝、近藤滋、Fish pigmentation. Comment on "Local reorganization of xanthophores fine-tunes and colors the striped pattern of zebrafish", Science, 2015、査読有、348(6232):297、DOI : 10.1126/science.1261947

渡邊正勝、近藤滋、Is pigment patterning in fish skin determined by the Turing mechanism?, Trends in Genetics, 2015、査読有、31(2):88-96、DOI : 10.1016/j.tig.2014.11.005

山中洋昭、近藤滋、Rotating pigment cells exhibit an intrinsic chirality, Genes to cells, 2015、査読有、20(1):29-35、DOI : 10.1111/gtc.12194

浜田裕貴、渡邊正勝、Hiu Eunice Lau、西田倫希、長谷川俊明、Parichy DM、近藤滋、Involvement of Delta-Notch signaling in zebrafish adult pigment stripe patterning, Development, 2014、査読有、141(2):318-24、DOI : 10.1242/dev.099804

山中洋昭、近藤滋、In vitro analysis suggests that difference in cell movement during direct interaction can generate various pigment patterns in vivo、PNAS(Proc Natl Acad Sci U S A.)、2014、査読有、111(5):1867-7、DOI : 10.1111/pcmr.12192

井上新哉、近藤滋、Parichy D.M.、渡邊正勝、Tetraspanin 3c requirement for pigment cell interactions and boundary formation in zebrafish adult pigment stripes、Pigment Cell Melanoma Res, 2014、査読有、27、190-200、DOI : 10.1111/pcmr.12192

Eom, D.-S.、井上新哉、Melanophore migration and survival during zebrafish adult pigment stripe development require the immunoglobulin superfamily adhesion molecule, igsf11、PLOS Genetics, 2012、査読有、8(8)、DOI : 10.1371/journal.pgen.1002899

稲葉真史、Pigment pattern formation by contact-dependent depolarization、Science, 2011、査読有、Vol. 335 no. 6069、677、DOI : 10.1126/science.1212821

〔学会発表〕(計 43 件)

近藤 滋、Mechanism of skin pattern formation in living organisms、MBI-Japan Joint Symposium 2 - 4 December 2014 on “Mechanobiology of Development and Multicellular Dynamics”、2014 年 12 月 3 日、シンガポール(シンガポール)

近藤 滋、Turing pattern without diffusion、JSMB/SMB 2014、2014 年 7 月 29 日、大阪国際会議場(大阪市)

近藤 滋、Turing pattern formation in the skin of living fish、2nd Annual Winter qBIO meeting、2014 年 2 月 18 日、ハワイ(USA)

近藤 滋、Pigmentation pattern、Mechanics and Growth of Tissues: From Development to Cancer、2014 年 1 月 15 日、パリ(フランス)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/skondo>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

近藤 滋 (KONDO, Shigeru)
大阪大学・生命機能研究科・教授
研究者番号：10252503

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし