

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：82675

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2020

課題番号：17K07425

研究課題名（和文）水流が生体に位置情報を伝える機構の解明

研究課題名（英文）Transmission mechanism of positional information to living tissue by fluid flow.

研究代表者

野中 茂紀（Nonaka, Shigenori）

大学共同利用機関法人自然科学研究機構（新分野創成センター、アストロバイオロジーセンター、生命創成探究・生命創成探究センター・准教授

研究者番号：90435529

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000円

研究成果の概要（和文）：哺乳類発生の左右決定においては胚表面の繊毛運動が作る水流が決定的に重要だが、水流が胚自身によって検知される機構は未だ謎である。そこで我々は、その機構として考えられうるモデルの検証を行った。その中で最も有力視されている、「水流のずり応力が左右の情報を伝える（ずり応力モデル）」については、少なくとも提唱されているモデルそのままでは成り立たなそうであることがわかった。他のモデルについては、研究期間中に結論出すには至らず、今後さらに解析を続ける。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、生物物理学的には、生体内において水流がその向きだけでなく上流・下流という位置情報を伝える、他にあまり例のないユニークなシステムの解析である。発生学的には、体軸決定という最も基本的な問題に迫るものである。医学的には、ヒトにも稀に見られる内臓逆位症の原因を理解するためのものである。結果、完全な解明には至らなかったが、今まで最も有力視されてきた仮説について、少なくとも提唱されているそのままのかたちでは成立しないであろうという知見を得ることができた。

研究成果の概要（英文）：In mammalian development, fluid flow on the surface of embryo generated by ciliary movement governs left-right determination, whereas the sensing mechanism of the flow remain enigmatic. We tested several hypotheses for this mechanism, and found that the mechanosensory model, the most influential one, is unlikely to work as its original form. The other ones we did not come to the conclusion and will continue further analyses.

研究分野：発生学

キーワード：左右性 繊毛 ライトシート顕微鏡

1. 研究開始当初の背景

(1) 交尾後 7.5 日マウス胚の腹側表面にはノードと呼ばれる浅い窪みがある。ここでは繊毛が回転運動して胚体の左に向かう水流（ノード流）を作る。この水流は何らかの機構によってノード外縁部での遺伝子発現にわずかな左右差を生み、これが増幅され左側特異的な **Nodal** 発現、すなわち個体レベルの左右決定を引き起こす。

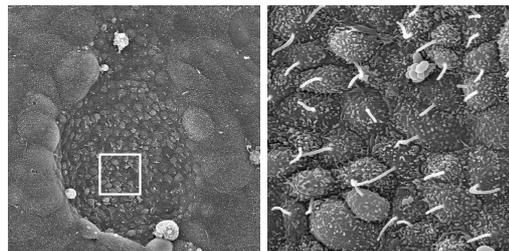


図 1. マウス胚ノードと繊毛

(2) この「何らかの機構」の正体として、これまでいくつかの説が提唱されているがいまだ決着していない。そのうち単なる想像ではなく何らかの根拠を以て提唱されているものとしては、膜小胞に包まれたシグナル因子が細胞外に分泌され濃度勾配を作るとする **NVP** モデル、水流自体の作り出す「ずり応力」が繊毛自身によってメカノセンシングされるとするモデル、のふたつがあり議論が続いている。後者については、マウスのノードと相同なゼブラフィッシュのクッパー胞において、左右で流速が違うという報告がある。

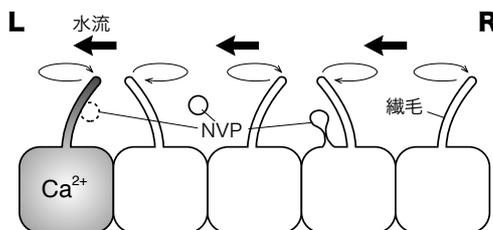


図 2. NVP モデル

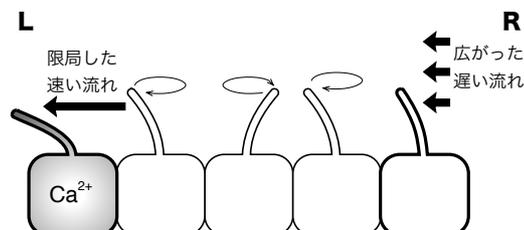


図 3. ずり応力モデル

2. 研究の目的

そこで我々は、上記の 2 説と、第 3 の仮説として「流動電位」がこの機構にかかわる可能性を含め、その妥当性を検討した。

3. 研究の方法

(1) NVP モデルとずり応力モデルの検証のため、以前構築した共焦点顕微鏡と自家製の光学系を組み合わせたライトシート顕微鏡を改良し、電気的可変焦点レンズ (ETL) を組み込み、超高速で立体撮影できるようにした。さらに水と同じ屈折率のフッ化エチレンプロピレン (FEP) チューブにマウス胚を入れてライブ観察する方法、さらに蛍光ビーズをロードして流れを可視化する方法を工夫し確立した。

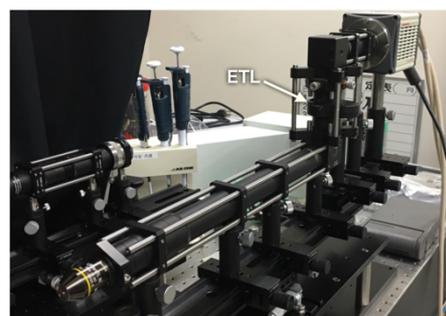


図 4. ETL を組み込んだライトシート顕微鏡 (検出側部分)

(2) 流動電位モデルの検証のためには、その電位の計測を試みた。紆余曲折があったが、最終的にはわずかな直流電位を計測するには「振動プローブ法」と呼ばれる、電極を振動させそれに同期する成分を取り出す方法が必須であるという結論に達し、そのための装置を構築した。

4. 研究成果

(1) 高速ライトシート顕微鏡でノード付近の水流を立体的に可視化し PIV (particle image velocimetry) 解析した結果、ノードの表面において、右側と左側でははっきりした差は認めら

れなかった。この結果は、上記のずり応力モデルがマウスでは成り立たないことを示唆する。

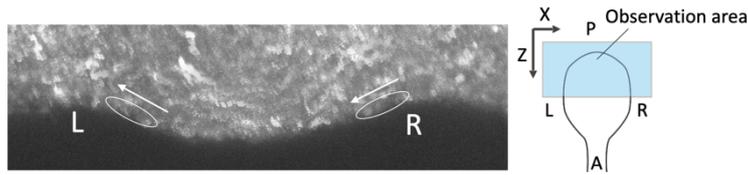


図 5. ノード断面の流れの可視化と PIV

(2) しかしながら、前提を変えればずり応力が働く可能性は排除されない。これまで提唱されていないが、たとえばメカノセンサーとされる繊毛あるいはそれを有する細胞に内側—外側の極性があるとすると、同じ水流がノード左側では外向き、右側では内向きということになる。これに関連して繊毛基部の構造を蛍光観察したところ、母中心子と娘中心子の位置関係がランダムではなく非対称であることを示唆する予備的なデータが得られた。今後この点を追求していく予定である。

(3) NVP モデルについては、小胞が飛んでいくような現象は観察されなかったが、単に光学条件やサンプル調製が不十分である可能性も排除できないので、現状では妥当性を判断するには時期尚早である。他の方法による検証を模索する。

(4) 流動電位の測定は、装置の物品を一通り準備した段階で、まだきちんと動いておらず、やはり妥当性を判断するには時期尚早である。これについても今後解析を続ける。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 7件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Yoon Youngteak, Park Jeonghyuk, Taniguchi Atsushi, Kohsaka Hiroshi, Nakae Ken, Nonaka Shigenori, Ishii Shin, Nose Akinao | 4. 巻 33 |
| 2. 論文標題 System level analysis of motor-related neural activities in larval Drosophila | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Neurogenetics | 6. 最初と最後の頁 179 ~ 189 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/01677063.2019.1605365 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|------------------------|
| 1. 著者名 Nishigami Yukinori, Ohmura Takuya, Taniguchi Atsushi, Nonaka Shigenori, Manabe Junichi, Ishikawa Takuji, Ichikawa Masatoshi | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Influence of cellular shape on sliding behavior of ciliates | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Communicative & Integrative Biology | 6. 最初と最後の頁 e1506666 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19420889.2018.1506666 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Ohmura Takuya, Nishigami Yukinori, Taniguchi Atsushi, Nonaka Shigenori, Manabe Junichi, Ishikawa Takuji, Ichikawa Masatoshi | 4. 巻 115 |
| 2. 論文標題 Simple mechanosense and response of cilia motion reveal the intrinsic habits of ciliates | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences | 6. 最初と最後の頁 3231 ~ 3236 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1718294115 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Ohmura Takuya, Nishigami Yukinori, Taniguchi Atsushi, Nonaka Shigenori, Manabe Junichi, Ishikawa Takuji, Ichikawa Masatoshi | 4. 巻 115 |
| 2. 論文標題 Simple mechanosense and response of cilia motion reveal the intrinsic habits of ciliates | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences | 6. 最初と最後の頁 3231 ~ 3236 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1718294115 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 8件 / うち国際学会 3件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 野中茂紀 |
| 2. 発表標題 高速ライトシート顕微鏡の開発及びそれを用いた発生期の左右初期決定機構の解析 |
| 3. 学会等名 レーザー学会学術講演会第40回年次大会（招待講演） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 野中茂紀 |
| 2. 発表標題 哺乳類発生における左右非対称性の初期決定 |
| 3. 学会等名 弘前大学農学生命科学部研究推進セミナー（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 野中茂紀 |
| 2. 発表標題 光シート顕微鏡の原理と近年の動向 |
| 3. 学会等名 日本学術振興会ナノプロブテクノロジー第167委員会第91回研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 谷口篤史、西上幸範、野中茂紀 |
| 2. 発表標題 三次元粒子画像流速測定法によるノード流の解析 |
| 3. 学会等名 第57回年日本生物物理学会年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Atsushi Taniguchi, Yukinori Nishigami, and Shigenori Nonaka |
| 2. 発表標題 Analysis of nodal flow by three-dimensional particle image velocimetry |
| 3. 学会等名 The 2nd NIBB-Princeton Joint Symposium "Imaging and Quantitative Biology" |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 谷口篤史、西上幸範、野中茂紀 |
| 2. 発表標題 三次元粒子画像流速測定法によるノード流の解析 |
| 3. 学会等名 第2回ExCELLSシンポジウム |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Hiroshi Yoke and Shigenori Nonaka |
| 2. 発表標題 Study on left-right bias in arrangements of basal body-associated proteins in mouse node cilia |
| 3. 学会等名 The 2nd NIBB-Princeton Joint Symposium "Imaging and Quantitative Biology" |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 餘家博、野中茂紀 |
| 2. 発表標題 Study on left-right bias in arrangements of basal body-associated proteins in mouse node cilia |
| 3. 学会等名 第2回ExCELLSシンポジウム |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|------------------------------|
| 1. 発表者名 餘家博、野中茂紀 |
| 2. 発表標題 マウス胚ノード繊毛基底小体の左右性 |
| 3. 学会等名 第10回繊毛研究会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 野中茂紀 |
| 2. 発表標題 Analysis of initial determination of left-right asymmetry in development using fast light-sheet microscopy |
| 3. 学会等名 新学術領域レゾナンスバイオ国際支援共催セミナー（招待講演）（国際学会） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 野中茂紀 |
| 2. 発表標題 高速ライトシート顕微鏡の開発及びそれを用いた発生期の左右初期決定機構の解析 |
| 3. 学会等名 第25回医用近赤外線分光法研究会・2018年度分光学会生細胞分光部会・第7回レーザー学会ニューロフォトンクス研究会 合同研究会 "Medical Optics & Spectroscopy 2018"（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shigenori Nonaka |
| 2. 発表標題 Initial determination of left-right asymmetry in mammalian development |
| 3. 学会等名 ExCELLS Frontier Bioorganization Forum（招待講演）（国際学会） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Atsushi Taniguchi, Shigenori Nonaka |
| 2. 発表標題 Three-dimensional analysis of the nodal flow in the mouse embryo by the rapid 3-D light-sheet microscopy |
| 3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会（国際学会） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 野中茂紀 |
| 2. 発表標題 ライトシート・ライトフィールド顕微鏡が実現する細胞・組織レベルの超高速3Dイメージング |
| 3. 学会等名 パイオナノフォトニクス新産業創造研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2017年 |

〔図書〕 計3件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|---|
| <p>Laboratory for Spatiotemporal Regulations http://www.nibb.ac.jp/~bioimg2/index.html 簡単な物理モデルで解き明かす微生物の生存戦略～ 繊毛虫テトラヒメナの壁面付近への集積メカニズムを解明～ http://www.nibb.ac.jp/pressroom/news/2018/03/15.html</p> |
|---|

| | | |
|---------------------------|-----------------------|----|
| 6. 研究組織 | | |
| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|