

令和 5 年 6 月 30 日現在

機関番号：12608

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2022

課題番号：19K23741

研究課題名（和文）ゼブラフィッシュ胚正中軸組織における協調した伸長機構の力学的解析

研究課題名（英文）Biomechanics of coordinated elongation of midline tissues in zebrafish embryos

研究代表者

河西 通（Kawanishi, Toru）

東京工業大学・生命理工学院・助教

研究者番号：80830752

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではゼブラフィッシュ胚の体軸伸長プロセスにおけるfloor plate（FP）と脊索の協調した伸長現象に着目し、そのメカニズムを解析した。ライブイメージングと組織培養により、FP細胞群が尾部方向へ集団で能動的に移動することを明らかにした。さらに、FP細胞の集団移動がFPの組織内での細胞増殖を促進し、FPを伸長させることがわかった。FP細胞の集団移動が脊索の伸長と協調することにより、両組織が協調しながら伸長できることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胚発生過程において、しばしば複数の異なる組織が協調して伸長し、長さを揃える現象がみられるが、その制御機構はほとんどわかっていない。本研究では、観察・操作に理想的な系であるゼブラフィッシュFP・脊索系に着目することにより、この発生生物学上の未解明な問題に初めて手掛かりを与えた。また、本研究で提唱するメカニズムは、四肢の伸長など他の発生現象においても同様に働いている可能性があり、学術的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：We investigated the developmental mechanism on coordinated elongation of floor plate (FP) and notochord during body axis elongation of zebrafish embryos. Live timelapse imaging revealed that FP cells collectively migrate posteriorly during the elongation process. We found that the collective migration triggered cell proliferation within the FP tissue, enabling FP elongation. We propose that coordinated elongation of FP and notochord is achieved by synchronous migration of FP cells together with the elongating notochord.

研究分野：発生生物学

キーワード：組織伸長 体軸伸長 ゼブラフィッシュ 形態形成

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

組織の伸長は、胚体内の様々な部位や器官で見られる重要な発生現象である。例えば、体軸伸長によって頭尾軸方向に伸びた体幹が形成され、肢芽の伸長によって長軸方向に伸びた四肢が発達する。これらの伸長する器官は単一の組織によるものではなく、一般に表皮、筋肉、骨組織など複数の組織によって構成されている。さらにこれら複数の組織が協調した長さを持つことが、器官の正常な機能の発揮に重要である。

発生過程における組織の伸長機構については、ショウジョウバエ初期胚上皮や脊椎動物神経管、腎管など、単一の組織のみに注目して研究されてきた。しかし、伸長する複数の組織がいかに協調して長さを揃えているのだろうかという問いに対しては、これまでほとんどアプローチされてこなかった。

そこで本研究では、ゼブラフィッシュ胚の体軸伸長に着目する。ゼブラフィッシュ胚は透明で体内深部の複数の組織を細胞レベルで容易に観察でき、しかも体軸伸長が数時間のうちに完了するため、複数組織の伸長ダイナミクスの解析に適している。ゼブラフィッシュ胚の中央に位置する正中軸組織と呼ばれる領域には、神経管を裏打ちする floor plate (FP) という単層で幅一列の組織が存在し、脊索と同一の長さを保ちながら、尾部方向へと伸長するが、その仕組みはわかっていない(図1)。

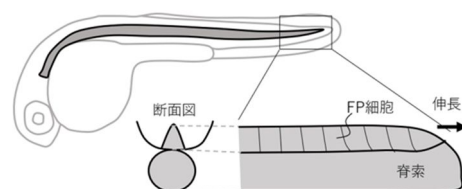


図1 Floor plate (FP) と脊索は協調して伸長する

### 2. 研究の目的

本研究ではゼブラフィッシュ胚の体軸伸長プロセスにおける floor plate (FP) と脊索の協調した伸長現象に着目し、そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 正中軸組織で発現することが知られている *shha* 遺伝子のプロモーターを用いたゼブラフィッシュトランスジェニック系統を用いて正中軸組織の細胞を可視化し、共焦点顕微鏡を用いたタイムラプスイメージングによって細胞の動態を解析した。また、*KikGR* mRNA を顕微注入した胚の一部領域に UV 照射することにより細胞を標識し、細胞のトラッキング解析を行った。

(2) メダカトランスジェニック系統 *zic1:GFP*; *zic4:DsRed* および変異体 *Da* を、共焦点顕微鏡を用いたタイムラプスイメージングによって解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) FP と脊索が協調して伸長するメカニズムの解析

複数の組織が協調して伸長する仕組みを明らかにするため、まずどのように FP が伸長するかを解析した。これまで、体幹の組織はいずれも、尾部末端に前駆細胞の集団があり、逐一細胞が組織後端部に付加されることで伸長すると考えられてきた。実際に、脊索については尾芽に存在する chordoneural hinge (CNH) から脊索前駆細胞が供給されていくことが知られている。しかし長時間タイムラプスイメージングにより、FP については尾部から新たな細胞の供給は行われず、すでに一列に配列した細胞が組織内で増殖することで伸長することがわかった。このことは、光変換タンパク *KikGR* を用いた細胞系譜追跡によっても確認された。

さらに、ライブイメージングにより FP 細胞が後方へ向かって脊索の上を集団で細胞移動することがわかった。集団で細胞移動することにより細胞増殖が誘発され、その結果 FP 全体が伸長することが明らかとなった。

本研究から、FP が隣接する脊索細胞の伸長に合わせた速度で細胞移動することにより、FP と脊索が協調して伸長するというメカニズムを提唱した。

(2) 体幹筋が背側方向へ伸長するメカニズムの解析

組織伸長に着目した本研究をおこなう過程で派生したテーマとして、正中軸組織に隣接する体節から分化した体幹筋が背側へ伸長するメカニズムの解析も行った。メダカ胚を用いたライブイメージングにより、背側筋節に隣接して存在する皮筋節細胞集団が長い突起を出しながら背側方向へと移動することにより、筋節細胞の背側方向への伸長が協調して促進されることがわかった(図2)。また非近接の移動には *wnt11* が関わることもわかった。

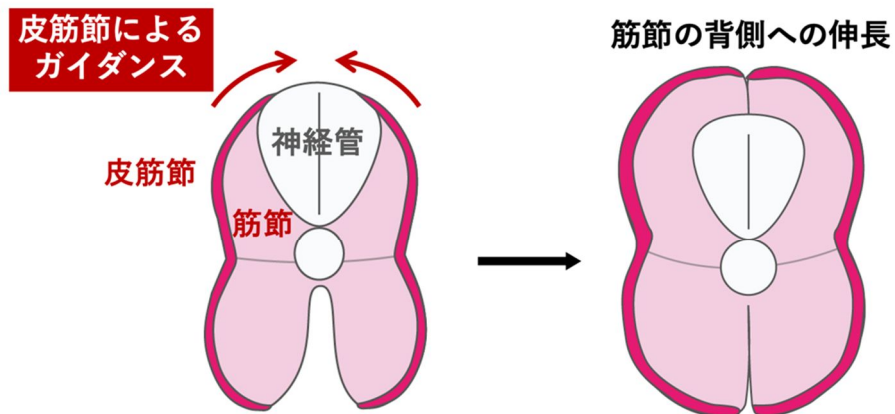


図2 筋節の伸長モデル。筋節に隣接した皮筋節細胞が背側方向へと移動することにより、筋節の背側方向への伸長が促進され、孵化期には筋節が神経管を覆う

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Heilig Ann Kathrin, Nakamura Ryohei, Shimada Atsuko, Hashimoto Yuka, Nakamura Yuta, Wittbrodt Joachim, Takeda Hiroyuki, Kawanishi Toru	4. 巻 11
2. 論文標題 Wnt11 acts on dermomyotome cells to guide epaxial myotome morphogenesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e71845
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.71845	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 該当する

1. 著者名 Ikeda Takafumi, Inamori Kiichi, Kawanishi Toru, Takeda Hiroyuki	4. 巻 64
2. 論文標題 Reemployment of Kupffer's vesicle cells into axial and paraxial mesoderm via transdifferentiation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 163 ~ 177
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/dgd.12774	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 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Toru Kawanishi, Takamichi Sushida, Hiroyuki Takeda, Sean Megason
2. 発表標題 ゼブラフィッシュ体軸伸長過程における正中軸組織の協調した伸長
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toru Kawanishi, Hiroyuki Takeda, Sean Megason
2. 発表標題 Coordinated growth of midline tissues in the zebrafish body axis elongation
3. 学会等名 日本発生物学会第53回年会（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Toru Kawanishi, Hiroyuki Takeda, Sean Megason
2. 発表標題 Coordinated growth of midline tissues in the zebrafish axis elongation
3. 学会等名 日本発生物学会第52回年会 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河西 通
2. 発表標題 ゼブラフィッシュ胚における正中軸組織の協調した伸長現象
3. 学会等名 第9回 Tokyo Vertebrate Morphology Meeting (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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