

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22770221

研究課題名（和文）

消化管の左右非対称性形成過程における上皮細胞の左右極性を制御する分子機構の解明

研究課題名（英文）

Studies on the molecular mechanisms of left-right polarization of epithelial cells during left-right asymmetric development of *Drosophila* gut

研究代表者

前田 礼男 (MAEDA REO)

東京理科大学・基礎工学部生物工学科・助教

研究者番号：40453831

研究成果の概要（和文）：

左右相称動物の多くは、その外部形態や内臓器官に左右非対称性を示す。脊椎動物を中心としたこれまでの研究から、左右非対称性の形成に関与する多くの遺伝子が同定されてきた。しかしながら、左右情報に基づいた個々の細胞レベルの変化が臓器形態の左右非対称性につながる機構については、ほとんど明らかになっていなかった。本研究課題では、ショウジョウバエの消化管に注目し、*Myosin31DF*と*DE-Cadherin*を介して形成される細胞形状の左右非対称性が、消化管の臓器形態の左右非対称性形成に関与していることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Many bilateral animals show left-right (LR) asymmetry in their body. Many genes involved in the left-right axis formation have been identified in vertebrates. However, the cellular mechanisms how LR asymmetric organ morphology is generated are still largely unknown. In this study, we studied the LR asymmetry of *Drosophila* gut. Our results suggest that *Myo31DF* and *DE-Cad* are required for the LR biased cell shape formation and LR biased cell shape is sufficient to induce the directional LR asymmetric morphogenesis of the *Drosophila* gut.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

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：左右非対称性、ショウジョウバエ、消化管、上皮細胞、*Myosin31DF*、*DE-Cadherin*、中心体、極性

## 1. 研究開始当初の背景

左右相称動物の多くは、その外部形態や内臓形態に左右非対称性を示す。複雑な構造を

もつ内臓器官が形成されるためには、からの前後軸、背腹軸、左右軸の3つの体軸に基づいた位置情報が必要であり、左右非対称性

の形成機構を明らかにすることは、臓器形態の形成を理解するうえで重要な課題だと考えられる。これまでに、脊椎動物のモデル生物を使った研究から、左右軸形成に関与する遺伝子が多数同定されており、その分子機構が明らかになりつつある。たとえば、マウスや小型魚類では、結節（ノード）に存在する単繊毛の回転により胚体外液の左方向への流れ（ノード流）が生じ、これが最初の左右極性を決定すると考えられている。ノード流によって決定された左右極性に基づき、*nodal*、*lefty*、*pitx2*を中心とした遺伝子群がからだの左側特異的に発現し、左右の位置情報の確立につながる。しかしながら、左右の位置情報に基づいて個々の細胞がどのように変化し、臓器レベルの左右非対称な形態形成につながるかについては、ほとんど明らかになっていなかった。

## 2. 研究の目的

研究代表者は、遺伝学的手法が駆使できるという利点から、ショウジョウバエをモデルとして左右非対称性に関する研究を行ってきた。ショウジョウバエの胚発生時の消化管は、発生過程において最初に左右非対称性を示す器官である。大きく分けて、前腸、中腸、後腸の3つの領域から成り、それぞれがステレオタイプな左右非対称性を示す。本研究の中心である後腸は、最初、胚の正中線に沿って存在し、その前方部が腹側に屈曲した形態をとる。その後、後腸は、後方から見て反時計回りに90°捻転することで、右側に屈曲した形態をとる。これまでの研究において、左右非対称性が異常になる突然変異体の網羅的探索を行い、非定型ミオシンID (MyosinID (MyoID)) をコードする *Myosin31DF* (*Myo31DF*) の突然変異体では、後腸の左右非対称な捻転が逆転することを明らかにしている。また、その後の研究から、後腸の左右非対称な捻転に先立ち、後腸上皮細胞における中心体の位置や後腸上皮細胞の形状

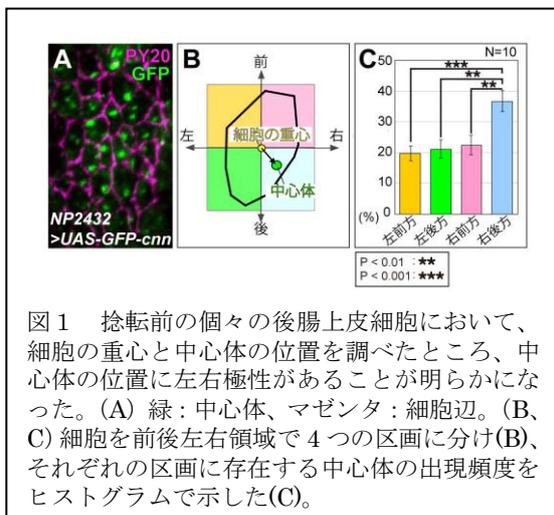


図1 捻転前の個々の後腸上皮細胞において、細胞の重心と中心体の位置を調べたところ、中心体の位置に左右極性があることが明らかになった。(A) 緑：中心体、マゼンタ：細胞辺。(B、C) 細胞を前後左右領域で4つの区画に分け(B)、それぞれの区画に存在する中心体の出現頻度をヒストグラムで示した(C)。

に左右非対称性があることが明らかになった(図1)。このような細胞レベルの左右極性が生体内に存在することを明らかにしたのは本研究が初めてである。そこで、本研究では、細胞レベルの左右極性が形成される機構を明らかにし、臓器レベルの左右非対称な形態ができるプロセスを理解することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 中心体の左右極性化に関与する遺伝子の探索

これまでの研究から、野生型胚の捻転後の後腸において、細胞内における中心体の位置に左右極性があることを明らかにしている。研究代表者は、後腸の左右非対称性形成が異常になる突然変異体を同定しており、その中のいくつかは原因遺伝子まで同定されている。これらの突然変異体胚において、中心体の細胞内における位置を調べて、中心体の配置の左右極性が異常になるかどうかを検証した。また、中心体の挙動に機能することが報告されている遺伝子の突然変異体において、消化管の左右非対称性が異常になるかどうかを調べ、中心体の左右極性と消化管の左右非対称な形態形成との関連を調べた。

### (2) 細胞形状が左右非対称化する機構の解析

後腸の左右非対称な捻転に先立ち、中心体の配置の左右極性だけでなく、後腸上皮細胞の形状にも左右極性があることが明らかになっている。そこで、後腸の左右非対称性が異常になる突然変異体において、これらの細胞形状を詳細に調べ、細胞形状の左右非対称性ができる仕組みを調べた。

## 4. 研究成果

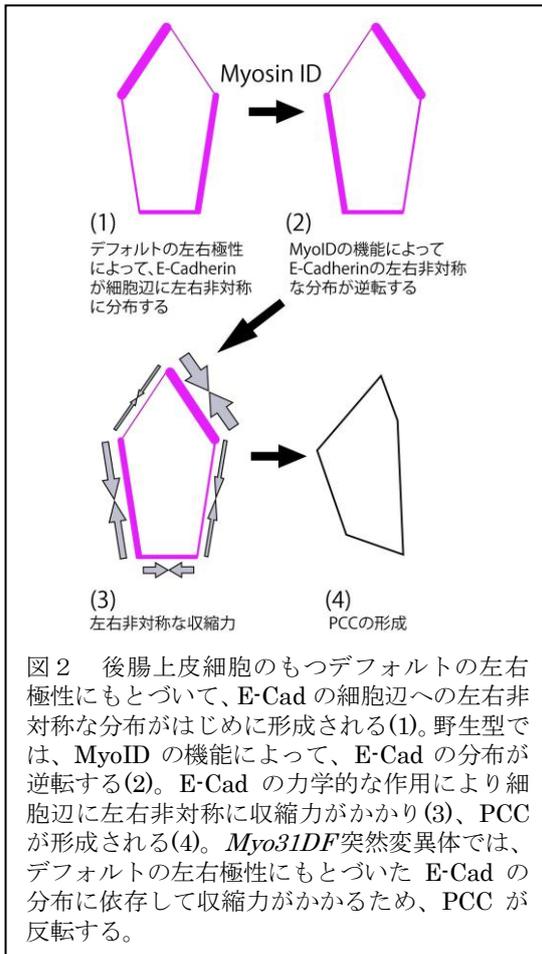
### (1) 中心体の左右極性化に関与する遺伝子の探索

後腸の左右非対称な捻転に先立ち、野生型の後腸上皮細胞における中心体の位置を調べると、中心体は、細胞内の右後方に多く存在している(図1)。一方、後腸の左右非対称性が逆転する *Myo31DF* 突然変異体において中心体の位置を調べたところ、中心体の左右極性が失われていることが明らかになった。このことから、*Myo31DF* は、細胞レベルの極性形成に関与していることが示唆された。また、後腸の左右非対称性がランダム化する *DE-Cad* 突然変異体では、中心体の形成異常が観察された。中心体の挙動に機能することが報告されている遺伝子のうち、特に重要だと考えられる18遺伝子について、消化管の左右非対称性を調べた。しかし、左右非対称性の異常は認められなかった。これらの遺伝子の多くは母性効果遺伝子と考えら

れ、今後は、母性効果を除いた突然変異体胚において、左右非対称性の異常があるかどうかを検証する必要があると考えられる。

## (2) 細胞形状が左右非対称化する機構の解析

後腸を構成する上皮細胞の形状に注目すると、左右非対称な後腸の捻転に先立って、細胞形状の左右非対称な歪みが観察されることが、これまでの研究から明らかになっていた。我々は、このように細胞が左右非対称に歪んだ性質を、「Planar Cell-shape Chirality:PCC」と名付けた。一方、捻転後の上皮細胞の形状を調べたところ、PCCが解消されていた。後腸の左右非対称性が反転する *Myo31DF* 突然変異体では、PCCが反転していた。また、細胞同士の接着に重要な役割をはたしている E-Cadherin (E-Cad) をコードしている *DE-Cad* 突然変異体では、後腸の左右非対称性がランダム化するが、その後腸上皮細胞の形状を観察すると、PCCは見られなかった。これらの結果から、*Myo31DF* と *DE-Cad* は正常な PCC を作り出す上で機能していることが示唆された。次に、PCCの形成機構を明らかにするために、E-Cadの細胞内の局在を詳細に観察した。その結果、野生型胚において、細胞辺(2つの細胞の接着面)へ偏って分布していることが明らかになっ



た。一方、*Myo31DF*突然変異体では、E-Cadの分布の偏りが逆転していることから、*Myo31DF*に依存したE-Cadの偏った分布が正常なPCCを作る上で重要だと考えられた(図2)。

これらの結果から、後腸の捻転が、*Myo31DF*と*DE-Cad*に依存して形成された細胞レベルの形状変化に起因して起こっていると考えた。この可能性を検証するために、後腸の捻転のコンピュータ・シミュレーションを行った。コンピュータ上において、後腸を模したモデル上皮細胞シートを構築し、それぞれの細胞辺に左右非対称な収縮力を導入した。その結果、*in vivo*で観察されるようなPCCを再現することができた。PCCを導入したモデル上皮細胞シートにおいて、細胞辺にかかる収縮力の差を解消し、モデル細胞を安定な形状に変化させるシミュレーションを行ったところ、*in vivo*と同様の後腸の捻転を再現することができた。

本研究の成果から、生体内において細胞レベルの左右非対称性が存在することを初めて明らかにすることができた。また、細胞レベルの左右非対称性が*Myo31DF*と*DE-Cad*を介して形成され、多数の細胞から構成される組織レベルの形態変化を引き起こしている可能性が示唆された。

## 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2件)

1. Junpei Kuroda, Mitsutoshi Nakamura, Masashi Yoshida, Haruka Yamamoto, Takaaki Maeda, Kiichiro Taniguchi, Naotaka Nakazawa, Ryo Hatori, Akira Ishio, Ayumi Ozaki, Shunsuke Shimaokaa, Tamiko Ito, Hironao Iida, Takashi Okumura, Reo Maeda, Kenji Matsuno Canonical Wnt signaling in the visceral muscle is required for left-right asymmetric development of the *Drosophila* midgut *Mechanisms of Development*, vol.128, 625-639 (2012) 査読有
2. Kiichiro Taniguchi\*, Reo Maeda\* (\*: equally contribution), Tadashi Ando, Takashi Okumura, Naotaka Nakazawa, Ryo Hatori, Mitsutoshi Nakamura, Shunya Hozumi, Hiroo Fujiwara, Kenji Matsuno Chirality in planar cell-shape contributes to left-right asymmetric epithelial morphogenesis.

Science, vol.333, 339-341 (2011)  
査読有

[学会発表] (計 9 件)

1. **前田 礼男**, Chirality in planar cell-shape contributes to left-right asymmetric epithelial morphogenesis, 定量生物学の会第四回年会, 2012 年 1 月 8 日, 名古屋大学野依学術記念館
2. **Reo Maeda**, Kiichiro Taniguchi, Tadashi Ando, Takashi Okumura, Naotaka Nakazawa, Ryo Hatori, Mitsutoshi Nakamura, Shunya Hozumi, Hiroo Fujiwara, and Kenji Matsuno, Chirality in planar cell-shape contributes to left-right asymmetric epithelial morphogenesis, 第 34 回日本分子生物学会年会, 2011 年 12 月 13 日, パシフィコ横浜
3. **Reo Maeda**, Kiichiro Taniguchi, Tadashi Ando, Takashi Okumura, Naotaka Nakazawa, Ryo Hatori, Mitsutoshi Nakamura, Shunya Hozumi, Hiroo Fujiwara, and Kenji Matsuno, Planar Cell Chirality Contributes to Left-Right Asymmetric Epithelial Morphogenesis in *Drosophila*, exciting biology 2011 conference, 2011 年 9 月 30 日, RIKEN CDB 神戸
4. **前田 礼男**, ミオシン ID による細胞形態のキラリテイとその左右非対称な形態形成における意義, 第 1 回 分子モーター討論会, 2011 年 6 月 22 日, 東京大学本郷キャンパス
5. **Reo Maeda**, Kiichiro Taniguchi, Tadashi Ando, Naotaka Nakazawa, Ryo Hatori, Mitsutoshi Nakamura, Takashi Okumura, and Kenji Matsuno, Planar Cell Chirality Contributes to Left-Right Asymmetric Epithelial Morphogenesis in *Drosophila*, 第 44 回日本発生物学会大会, 2011 年 5 月 19 日, 沖縄コンベンションセンター
6. **Reo Maeda**, Kiichiro Taniguchi, Tadashi Ando, Naotaka Nakazawa, Ryo Hatori, Mitsutoshi Nakamura, Takashi Okumura, Kenji Matsuno, Planar Cell Chirality Contributes to Left-Right Asymmetric Epithelial Morphogenesis in *Drosophila*, 52nd Annual *Drosophila* Research Conference, 2011 年 3 月 31 日~4 月 2 日, アメリカ合衆国 (San Diego)
7. **Reo Maeda**, Planar cell chirality contributes to left-right asymmetric

epithelial morphogenesis in *Drosophila* (Asymmetry in Biological Systems (Biology/Life Science)), 5th Japanese-French Frontiers of Science Symposium, 2011 年 1 月 22 日, 東京都・晴海グランドホテル

8. **Reo Maeda**, Kiichiro Taniguchi, Tadashi Ando, Naotaka Nakazawa, Ryo Hatori, Mitsutoshi Nakamura, Takashi Okumura, Kenji Matsuno, Planar cell chirality contributes to left-right asymmetric epithelial morphogenesis in *Drosophila*, ASCB 50th Annual Meeting, 2010 年 12 月 12 日, Philadelphia・Pennsylvania Convention Center
9. **Reo Maeda**, Kiichiro Taniguchi, Tadashi Ando, Naotaka Nakazawa, Ryo Hatori, Mitsutoshi Nakamura, Takashi Okumura, Kenji Matsuno, Planar cell chirality contributes to left-right asymmetric epithelial morphogenesis in *Drosophila*, BMB2010(第 33 回日本分子生物学会年回・第 83 回日本生化学会大会 合同大会), 2010 年 12 月 9 日, 神戸市・神戸ポートアイランド

[図書] (計 4 件)

1. **前田 礼男**, 「ハエの消化管から見る左右非対称な形づくり」  
生命誌ジャーナル 72 号 (2012)
2. 中澤 直高, 谷口 喜一郎, **前田 礼男**, 安藤 格士, 松野 健治, 「左右非対称な組織形態形成の新たな機構 上皮細胞における平面内細胞形状のキラリテイの意義」,  
実験医学, Vol.30 No.1(2012 年 1 月号)
3. **前田 礼男**, 谷口 喜一郎, 安藤 格士, 松野 健治, 「細胞のキララな形状が上皮組織の左右非対称な形態変化を誘発する」,  
細胞工学, vol.30, No.12, 1298-1300 (2011 年 12 月号)
4. **前田 礼男**, 谷口 喜一郎, 安藤 格士, 松野 健治, 「キララな細胞形状の変化による左右非対称な形態形成」,  
ライフサイエンス新着論文レビュー, (2011 年 8 月)