

生物のからだはどのように左右非対称になるのか？

～ショウジョウバエを用いてその仕組みを探る～



研究ノート

黒田 純平*, 中村 充利**, 松野 健治***

How animal body develops left-right asymmetry?
 ~Researching the mechanisms using *Drosophila*~

Key Words : left-right asymmetry, *Drosophila*, gut

1. はじめに

動物は外見が左右対称でも、その内臓器官は左右非対称であることが多い。内臓器官が左右非対称になる機構については、脊椎動物を用いた研究によって多くの知見が得られている。マウスでは、胚発生期に形成される結節（ノード）に存在する単繊毛の回転運動により、胚体外液の左方向の流れが生じ（ノード流）、これによって *nodal* や *lefty* といった遺伝子の左右非対称な発現が誘導される^{1),2)}。左右非対

称に発現する遺伝子群の一連の働きによって、心臓や消化器官などの内臓器官の左右非対称な形態が作られることが多くの研究によって明らかとされてきた³⁾。ノード流に基づいた左右非対称性形成機構は、小型魚類でも保存されていることが報告されているが^{4),5)}、両生類や鳥類などの脊椎動物では、これとは異なった左右非対称性の形成機構が働いている^{6),7)}。また、ショウジョウバエ、線虫、巻貝などの旧口動物では、ノードに相当するものは形成されない。これらの動物には、まだ解明されていない左右非対称性の形成機構が存在すると考えられている。そこで、我々の研究室では、遺伝学研究を行うのに優れたモデル生物であるショウジョウバエを用いて、左右非対称性形成に関与する遺伝子の同定、及び、その機能について研究を行ってきた。



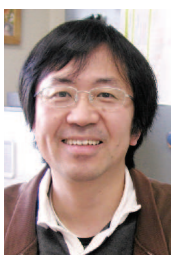
* Junpei KURODA

1981年10月生
 東京理科大学大学院基礎工学研究科生物工学専攻博士課程卒業（2012年）
 現在、大阪大学 生命機能研究科パターン形成研究室 博士研究員 博士(工学) 発学生物学
 E-mail : jkuroda@fbs.osaka-u.ac.jp



** Mitsutoshi NAKAMURA

1985年9月生
 東京理科大学大学院基礎工学研究科生物工学専攻博士課程卒業（2013年）
 現在、大阪大学 細胞生物学研究室 日本学術振興会特別研究員 博士(工学) 発学生物学
 E-mail : m-nakamura@bio.sci.osaka-u.ac.jp



*** Kenji MATSUNO

1960年7月生
 早稲田大学大学院理工学研究科博士後期課程卒業（1990年）
 現在、大阪大学 大学院理学研究科生物科学専攻 教授 理学博士 発学生物学、細胞生物学
 E-mail : kmatsuno@bio.sci.osaka-u.ac.jp

2. ショウジョウバエ胚消化管の左右非対称性

キイロショウジョウバエの幼虫や成虫の外部形態は左右対称である。しかし、消化管、成虫の脳、雄の生殖器官の構造は、ステレオタイプな左右非対称性を示す⁸⁾ (図1A)。胚の消化管は、ショウジョウバエの発生過程で最も早い時期に左右非対称性を示す器官であり、観察も容易である (図1B)。そこで、我々は、胚期の消化管の左右非対称性形成に着目した。

ショウジョウバエ胚の消化管は、前腸、中腸、後腸の3つの部分からなり、それぞれが明瞭な左右非対称性を示す (図1B)。野生型の胚を観察しても、これらの部分の左右非対称性が反転している胚はほとんど観察されないことから、胚消化管の左右非対称性は遺伝的に厳密に決定されていると考えられる。我々は、突然変異誘発物質を用いて、ショウジョウバエのゲノム DNA の任意の部位に突然変異を導入した突然変異系統を多数樹立し、それぞれの突然変

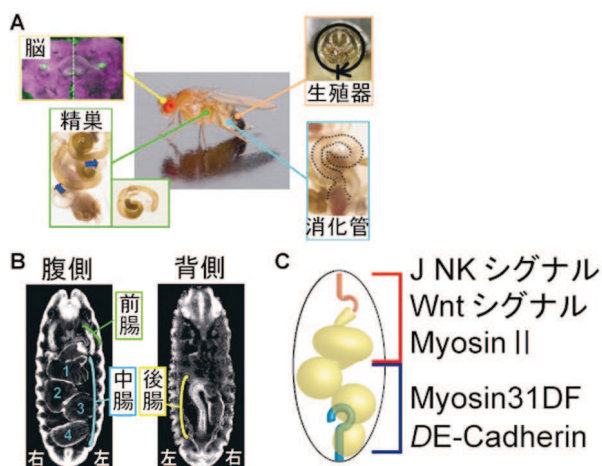


図1 (A) ショウジョウバエの内臓は左右非対称である。
 (B) 前腸、中腸、後腸から成る胚消化管の左右非対称性。
 (C) 胚消化管の前方部と後方部の左右非対称性は独立の機構で形成される。

異のホモ接合体の消化管に左右非対称性の異常を示すものを網羅的に探索した。その結果、胚消化管の左右非対称性が異常になる突然変異を複数同定することに成功した。これらの突然変異は、胚消化管の左右非対称性の異常を指標として、大きく2つのグループに分けられた。一つは、消化管の前方部の左右非対称性形成に影響する突然変異のグループ (図1C)。もう一つは、消化管の後方部の左右非対称性形成に影響する突然変異のグループである (図1C)。つまり、ショウジョウバエの左右非対称性は、からだの前方と後方で異なった機構によって形成されている可能性が考えられた。これは、他の動物では知られていないユニークな性質である。

3. 胚前方部の左右非対称性が形成される機構

野生型胚の消化管前方部において、前腸は、腹側から見て右側に弧を描く構造をとり、左側に傾いた前胃を介して、中腸の右側と連結している。我々は、これまでに、消化管前方部の左右非対称性形成において、Wntシグナルが重要な役割をはたしていることを明らかとした⁹⁾ (図2)。Wntシグナルは、多細胞動物で進化的に広く保存された細胞シグナル伝達経路であり、発生過程において、細胞増殖、細胞極性、細胞分化など多岐にわたった機能をはたしている。ショウジョウバエ胚の中腸は、一層の上皮細胞層と、それを覆う環状筋細胞と縦走筋細胞の層から成る。野生型胚では、消化管前方部の左右非対称

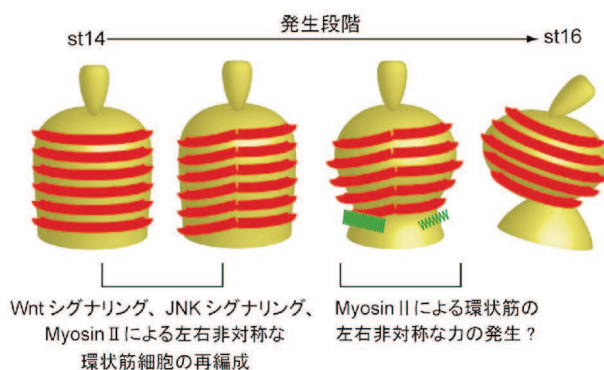


図2 内臓筋の左右非対称な再編成によって左右非対称な形態ができる。

性が形成される前の時期では、紡錘形の環状筋細胞は、その長軸が正中線に対して垂直になるよう、正中線の両側に配列している (図2)。消化管前方部の左右非対称性が形成される直前に、右側の環状筋細胞だけが正中線に対して傾く (図2)。このような環状筋細胞の再編成が起こった後、前胃と中腸の連結部が右側に引っ張られるようにして移動する。その結果、消化管前方部の正常な左右非対称性が形成される (図2)。Wntシグナルのいろいろな構成因子をコードしている遺伝子の突然変異のホモ接合体では、中腸環状筋細胞の左右非対称な再編成が起こらなかった。このことから、Wntシグナルは、中腸環状筋細胞の左右非対称な再編成に必要であることが示唆された。

我々は、中腸環状筋細胞の左右非対称な再編成には、Wntシグナル以外にも、JNKシグナルやMyosin IIが関与することを明らかとしている^{10), 11)}。しかし、WntシグナルやJNKシグナルの活性、Myosin IIの分布には、左右非対称性が認められない。これらの研究結果から、我々は、消化管前方部の左右非対称性は、以下のような機構によって形成されると考えている。まず、未知の因子によって、中腸前半部の環状筋細胞に左右極性が生み出される。続いて、中腸環状筋細胞で、Wntシグナルが活性化され、JNKシグナルが抑制されることによって、環状筋細胞の左右非対称な再編成が引き起こされる。次に、Myosin IIによって環状筋細胞内に物理的な力が発生し、中腸前半部の左右非対称な形態が形成される。現在のところ、環状筋細胞に左右極性を付与する機構は明らかになっていない。また、Myosin IIによって発生した機械的力に左右非対称性が

あるかどうか、残された重要な課題である。

4. 胚後方部の左右非対称性が形成される機構

野生型胚の消化管の後腸は、発生の早い時期では左右対称で、先端部が腹側に屈曲した形態をとる。発生が進むにつれて、後腸は、後方から見て反時計回りに90度捻転する。この結果、野生型胚の後腸は、その先端側が右側に屈曲した形態になる(図3)。後腸は、単層上皮の管と、これを取り巻く内臓筋から成る。後腸の捻転は、上皮の管だけで正しく起こる。このことは、胚の消化管前方部の左右非対称性形成が、内臓筋の働きで起こることと対照的である。また、捻転が起こる過程では、上皮細胞に分裂や細胞死は起こっていない。したがって、後腸上皮の管の捻転は、細胞の形態変化や再編成に起因するものと考えられる。

後腸上皮が捻転する機構を明らかにするために、後腸が反時計回りに捻転することに伴う後腸上皮細胞の形態変化の観察を行った。一般に、上皮組織の形態の変化には、上皮組織の頂端面付近で起こる細胞間接着面の再編成(細胞接着面の組み換え)が関与している。そこで、我々は、後腸が反時計回りに90度捻転する直前における後腸上皮細胞の頂端面(消化管の内側にあたる)の形態を計測した(図3)。その結果、後腸上皮細胞の頂端面での形態が左右に歪んでいることがわかった(図3)。上皮の細胞の頂底極性を考慮すると、このように左右に歪んだ形態は、その鏡像と重ならないことから、後腸上皮細胞の形態はキララルであると考えられた。我々は、このような後腸上皮細胞のキラリティを、平面内細胞キラリティ [Planar Cell Chirality (PCC)] と名付けた。この研究が、*in vivo* でPCCの存在を報告した最初のものである。さらに、後腸の捻転後には、PCCは解消され、上皮細胞の頂端面の形態は左右対称となった(図3)。さらに、我々は、PCCが、後腸の捻転を誘発するのに十分であることを、コンピュータ・シミュレーションによって示した¹²⁾。

我々は、消化管後方部の左右非対称性形成に影響する突然変異のグループとして、*Myosin31DF*(*Myo31DF*)や*DE-Cadherin*を同定している。*Myo31DF*突然変異のホモ接合体胚の消化管後半部(後腸を含む)は鏡像化する。*Myo31DF*は、アクチン細胞骨格に沿って移動する、非定型ミ

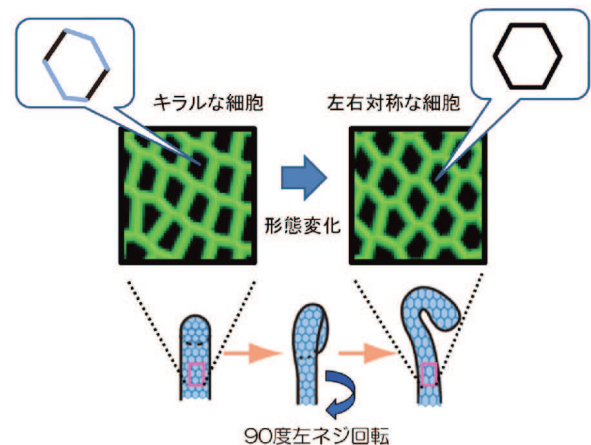


図3 細胞のキララルな形が左右対称化することで、消化管の左ネジ方向の捻転が起こる。

オシンのグループに属するモーター・タンパク質をコードしている。我々の結果は、ショウジョウバエ後腸のデフォルトの左右非対称性は逆位であり、これが、*Myo31DF*によって反転することで、野生型後腸の左右非対称性が形成されることを示唆している。次に、野生型胚と*Myo31DF*ホモ接合体のPCCをそれぞれ測定し比較したところ、*Myo31DF*ホモ接合体胚の後腸上皮細胞では、PCCが鏡像化していることが明らかとなった。また、後腸の左右非対称性がランダム化する*DE-Cadherin*突然変異ホモ接合体の後腸上皮においては、PCCが形成されることはなかった。これらの結果は、PCCが後腸の捻転の向きを決定していると考えようまく説明できる。

5. おわりに

我々の研究成果によって、ショウジョウバエ胚の消化管の左右非対称性形成が、その前半部分は中腸の内臓筋、後半部分は後腸上皮によって、それぞれ独立に形成されていることがわかった。消化管前半部の左右非対称性形成機構を理解するために、現在、中腸内臓筋をライブで可視化し、消化管前半部の左右非対称性が形成される過程における筋肉細胞の形態変化について調べている。消化管後半部の左右非対称性形成においては、後腸上皮のPCCが捻転の方向を決定している。中腸の内臓筋がPCCを示すかどうかについては現在のところ不明である。

モノアラガイなどの巻貝では、胚が4細胞の時期にみられる各割球のキラリティが、からだ全体の左

右非対称性を決定する¹³⁾。したがって、個々の細胞のキラリティが、その後の組織や胚全体の形態の左右非対称を決める機構が、無脊椎動物の間で保存されている可能性がある。また、哺乳類の培養細胞においても、細胞のキラリティの存在が報告されている¹⁴⁾。したがって、PCCが、進化的に広く保存された細胞の性質である可能性がある。今後は、PCCが形成される分子レベルの機構を明らかにしていく必要があると考えている。

参考文献

- 1) Hirokawa N, Tanaka Y, Okada Y, Takeda S. *Cell*. 2006 Apr 7;125(1):33-45.
- 2) Nonaka S, Shiratori H, Saijoh Y, Hamada H. *Nature*. 2002 Jul 4;418(6893):96-9.
- 3) Meno C, Takeuchi J, Sakuma R, Koshiba-Takeuchi K, Ohishi S, Saijoh Y, Miyazaki J, ten Dijke P, Ogura T, Hamada H. *Developmental Cell*. 2001 Jul;1(1):127-38.
- 4) Amack JD, Yost HJ. *Curr Biol*. 2004 Apr 20;14(8):685-90.
- 5) Hojo M, Takashima S, Kobayashi D, Sumeragi A, Shimada A, Tsukahara T, Yokoi H, Narita T, Jindo T, Kage T, Kitagawa T, Kimura T, Sekimizu K, Miyake A, Setiamarga D, Murakami R, Tsuda S, Ooki S, Kakihara K, Naruse K, Takeda H. *Dev Growth Differ*. 2007 Jun; 49(5):395-405.
- 6) Adams DS, Robinson KR, Fukumoto T, Yuan S, Albertson RC, Yelick P, Kuo L, McSweeney M, Levin M. *Development*. 2006 May;133(9):1657-71. Epub 2006 Mar 22.
- 7) Levin M, Johnson RL, Stern CD, Kuehn M, Tabin C. *Cell*. 1995 Sep 8;82(5):803-14.
- 8) Okumura T, Utsuno H, Kuroda J, Gittenberger E, Asami T, Matsuno K. *Dev Dyn*. 2008 Dec;237(12):3497-515. doi:10.1002/dvdy.21788.
- 9) Kuroda J, Nakamura M, Yoshida M, Yamamoto H, Maeda T, Taniguchi K, Nakazawa N, Hatori R, Ishio A, Ozaki A, Shimaoka S, Ito T, Iida H, Okumura T, Maeda R, Matsuno K. *Mech Dev*. 2012 Jan-Feb;128(11-12):625-39. doi:10.1016/j.mod.2011.12.002. Epub 2011 Dec 17.
- 10) Taniguchi K, Hozumi S, Maeda R, Ooike M, Sasamura T, Aigaki T, Matsuno K. *Dev Biol*. 2007 Nov 1;311(1):251-63. Epub 2007 Sep 5.
- 11) Okumura T, Fujiwara H, Taniguchi K, Kuroda J, Nakazawa N, Nakamura M, Hatori R, Ishio A, Maeda R, Matsuno K. *Dev Biol*. 2010 Aug 15;344(2):693-706. doi:10.1016/j.ydbio.2010.05.501. Epub 2010 May 27.
- 12) Taniguchi K, Maeda R, Ando T, Okumura T, Nakazawa N, Hatori R, Nakamura M, Hozumi S, Fujiwara H, Matsuno K. *Science*. 2011 Jul 15;333(6040):339-41. doi:10.1126/science.1200940.
- 13) Shibasaki Y, Shimizu M, Kuroda R. *Curr Biol*. 2004 Aug 24;14(16):1462-7.
- 14) Wan LQ, Ronaldson K, Park M, Taylor G, Zhang Y, Gimble JM, Vunjak-Novakovic G. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Jul 26;108(30):12295-300. doi:10.1073/pnas.1103834108. Epub 2011 Jun 27.

