

変態期にホヤ幼生の尻尾が吸収されるメカニズムの解析

山路 草太 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 笹倉 靖徳 (筑波大学 生命環境系)

[背景と目的]

ホヤを含む尾索動物亜門は脊椎動物に最も近い無脊椎動物として知られており、そのホヤのオタマジャクシ型幼生は、単純ながらも典型的な脊索動物のボディプランを持つことから、発生学と進化学研究の好材料として用いられている。そのため、受精卵からオタマジャクシ型幼生までへと至る初期発生過程の研究がホヤ研究の殆どを占めていた。

一方、ホヤのオタマジャクシ幼生が、固着生活を送り濾過摂餌を行う成体へと変化する変態過程の理解は十分ではない。ホヤの成体の様な固着生活を送る生活様式を持つ動物群は、脊索動物の中ではホヤ以外に存在しない。また、脊索動物の祖先動物は一生を遊泳して過ごす動物であったと推定されており、ホヤの祖先動物が他の脊索動物群と分岐した後に変態する能力を獲得し、固着生活するように進化したと考えられる。そのため、ホヤの変態過程を詳しく研究することは、ホヤがその独特の生活様式をどのように獲得したのかを知ることに繋がる。

本研究では、様々な変態イベントの中で、大きく形態が変化する「尾部吸収」に注目した。遊泳生活から固着生活へと変遷するにあたり、これまで幼生の遊泳運動を駆動してきた尾部は、たった1~2時間で吸収されてしまう。この僅かな時間で、幼生の体の大部分を占める尾部が見かけ上消失することは、細胞の振る舞いとしても非常に興味深い。そこで、この尾部吸収過程で、各組織がどのように変化することによって尾部を体幹部へ吸収させているのかを明らかにすることを目的とした。

[材料]

カタユウレイボヤ

[方法と結果]

1. *p35*の過剰発現によるアポトーシスの阻害

先行研究により、尾部吸収に伴って生じる尾部の筋肉や表皮組織のアポトーシスが尾部吸収に必要であることが報告されている^①。しかし、単なる細胞死で、急速に完了する尾部吸収を説明できるのか、疑問の余地が残る。そこで、本当にアポトーシスが尾部吸収に重要であるか検証するために、アポトーシス抑制遺伝子である*p35*の強制発現を試みた。*p35*はbaculovirus由来のタンパク質であり、これを強制発現することにより様々な動物においてアポトーシスを抑制できることが報告されている^②。

この*p35*を全身で発現させアポトーシスを抑制したところ、先行研究の結果に反して「尾部吸収は完了する」ことが分かった。つまり、両生類の尾部吸収と異なり、アポトーシスはホヤの尾部吸収に必須ではない事が示唆された。

2. 薬剤処理による尾部吸収の阻害

細胞死が尾部吸収に必須ではない事が分かったため、細胞形態の変化や細胞運動によって尾部吸収が生じている可能性が考えられた。そこで、細胞形態や細胞運動を調節する細胞骨格であるアクチン繊維の重合を阻害し、尾部吸収への影響を検討した。

アクチン重合阻害剤であるCytochalasin BとLatrunculin Aを変態前のホヤに添加したところ、尾部吸収が阻害された。この

結果より、アクチン重合による細胞形態の変化や細胞運動が尾部吸収を駆動していることが示唆された。

3. 蛍光タンパク質による細胞形態の観察

尾部吸収の最中に細胞形態の変化や細胞運動が生じている可能性が示唆されたため、変態の前後で細胞形態が変化している組織を探索することにした。そこで、細胞膜移行型蛍光タンパク質GFP-CAAXを組織ごとに発現させ、各組織で細胞膜を可視化し、細胞形態の変化を詳細に観察することにした。

その結果、変態する前と後で尾部表皮細胞が前後軸に沿って収縮していることが分かった。表皮組織の収縮が形態形成に重要な働きをしていることはホヤや他の動物を用いた研究で明らかにされている^③。そのため、今回観察された尾部表皮細胞の収縮が尾部吸収を駆動する力である可能性が示唆された。

変態前後で尾部表皮細胞が収縮していることが分かったため、その収縮過程を生きたまま観察することを試みた。通常よりも低濃度のGFP-CAAXをホヤ卵に導入し、蛍光を呈する細胞のモザイク性を高め、細胞一つ一つの挙動を観察できるようにした。尾部吸収が開始した直後、共焦点顕微鏡下に移しz-stackを取りつつtime-lapse撮影を行った。撮影した動画は、画像編集ソフトZENとImageJで解析した。

現在、尾部吸収中に表皮細胞が突起を形成しながら運動している様子や細胞辺を収縮させている様子を動画に収めている。また、それぞれの表皮細胞が、その一つ前に位置する表皮細胞の基底側に滑り込む様子も観察された。

[考察]

以上の実験より、アポトーシスではなく細胞運動や細胞の形態変化によってホヤの尾部吸収が進行することが強く示唆された。さらに、変態の前後で、尾部表皮細胞が前後軸に沿って収縮していることから、表皮細胞の収縮が尾部吸収の駆動力である可能性が示唆された。しかし、现阶段では、この表皮細胞の収縮が自身の能動的な収縮なのか、他の組織の形態変化による受動的な収縮なのか、明らかでない。今後は、尾部のどの組織の形態変化が尾部吸収を駆動しているか検証するために、細胞運動や形態変化に必要な細胞質ミオシンII等を、表皮を中心に各組織で機能阻害することにより、尾部吸収に重要な組織を同定することを検討している。

また、細胞が決まった方向に運動することや形態を変化させるためには、体軸とは別に細胞自身が極性を持つ必要がある。尾部は体幹部へ向かって一定方向に吸収されていくので、吸収に先駆けて尾部の細胞は細胞内平面極性(PCP)などの機構を獲得している可能性がある。そこで、PCP形成に重要な働きをするコアPCPタンパク質をKOするなどして、細胞の極性化にかかわる経路が尾部吸収に関与する可能性について検討していきたい。

[参考文献]

- (1) Chambon *et al.* *Development* 129, 3105-3114 (2002)
- (2) Bruce *et al.* *Development* 120, 2121-2129 (1994)
- (3) Sawyer *et al.* *Dev Biol* 341, 5-19 (2010)