

細胞流動から見えてきた新たな左右非対称性

浅井 理恵子

Key words : 細胞流動, 左右非対称性, 原腸形成, 鳥類胚モデル

原腸形成期に起こる細胞流動は、進化的に共通してみられる生命現象である。羊膜類モデル生物であるニワトリでは、原腸形成初期、左右両側で渦状の細胞流動が起こる。ポーランドの民族舞踊にちなみ“ポロネーズ運動”と名づけられたこの現象は、発見当初から左右対称な動きを示すと考えられてきた。しかし、筆者らの研究成果からポロネーズ運動の左右非対称な動きが明らかになり、ニワトリ胚での左右非対称性は定説よりも早くから存在することが認められた。本稿では、細胞流動から左右非対称性を捉える研究を紹介する。

I. 見えない左右差を可視化計測する技術

ほぼすべての動物は、正中線に沿った外見的左右対称性を示す。このうち脊椎動物は、内臓の形態・配置など内部構造の左右非対称性を併せ持つ。羊膜類(主に鳥類・哺乳類)では、原始線条と呼ばれる正中線構造物の前方先端から、左右オーガナイザーであるノードが生じ、*Shh*, *Lefty*, *Nodal*などの左右差形成に関与する遺伝子群(以降、“左右差遺伝子群”と呼ぶ)の左右非対称な遺伝子発現パターンが確立する¹⁻⁴⁾。

左右オーガナイザーによる左右差遺伝子群の発現制御は、魚類、両生類、多くの哺乳類で種を越えて保存され、様々なモデル動物を用いた研究が進められている。一方で、左右オーガナイザー形

成以前については、原始線条細胞の膜電位左右差という報告があるものの、基本的に左右差はないと考えられてきた。

この理由は、主に技術的制限にある。ニワトリ胚における左右差について、形態的・*in situ* hybridizationでの遺伝子発現パターンを検討した結果、先行研究^{2,5,6)}と同様にノード形成以前の胚では明瞭な差を同定できなかった⁷⁾(図1)。そこで、筆者らは同じ発生時期に起こる細胞流動に着目した。ニワトリ胚の細胞流動は、約100年前に“ポロネーズ運動”として発見された^{8,9)}。細胞流動の現象自体は発見されていたが、細胞の動きの解析方法は個々を追跡するトラッキング法が主流であった^{8,9)}。筆者らは、細胞の集団としての動きを計測することによって従来の方法では検出できなかった左右差を可視化できるのではないかと考え、技術開発に取り組んだ。

II. PIV法を用いた細胞流動可視化計測による左右非対称性の発見

左右オーガナイザー形成以前の胚では、シート状構造から成る外胚葉性上皮系細胞のダイナミックな集団的細胞運動、“細胞流動”が起こる。シート状の上皮性細胞集団の動きは、空気や水といった“流体”と同様の性質を示すことから¹⁰⁾、筆者らは、物理・機械工学で流体を動きの可視化計測に用いられる粒子画像速度解析 (particle image

Revisiting the initiation of left-right asymmetry in amniotes through cellular flow

Asai Rieko : 熊本大学国際先端医学研究機構 (〒860-0811 熊本県熊本市中央区本荘2-2-1)

0370-9531/12/¥500/論文/JCOPY

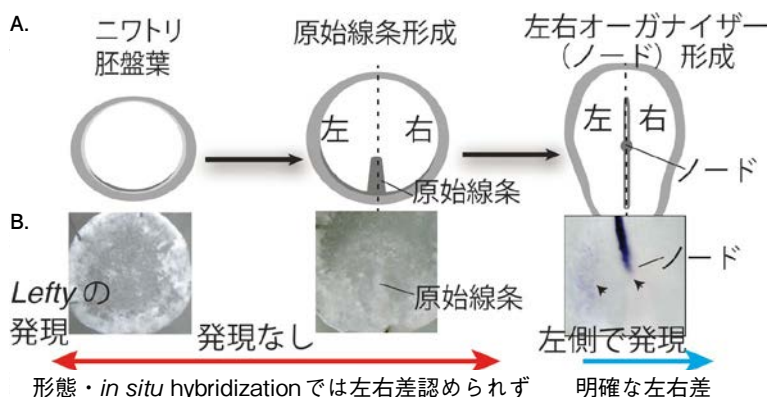


図 1 形態・*in situ* hybridization によるニワトリ胚左右非対称性の検討

A. ニワトリ胚発生模式図

B. ニワトリ胚の各発生段階における *Lefty* の発現パターン (Whole-mount *in situ* hybridization による) および胚の形態形成。左右オーガナイザーであるノード形成以降に、*Lefty* の発現に明瞭な左右差が同定された。背側から撮影。
(文献 7 より一部改変して引用)

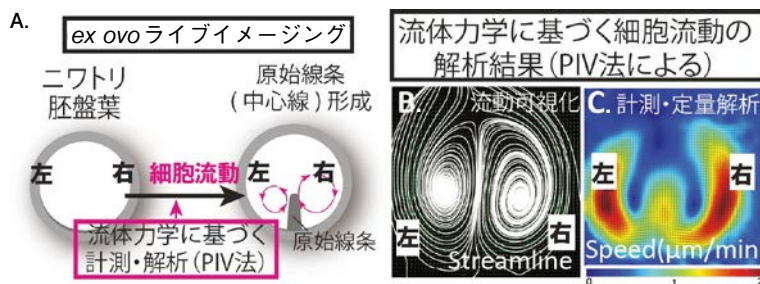


図 2 細胞流動の可視化計測による左右非対称性の同定

A. 実験模式図

B, C. PIV 法によるライブイメージングデータの解析。背側から撮影した画像を解析。B. Streamline, 細胞流動のパターンを示す。C. PIV から得られたベクターマップから作成した速度プロット。赤い部分が最も早く動く領域
(文献 7 より一部改変して引用)

velocimetry; PIV) 法を細胞流動の解析に適用した⁷⁾(図 2)。

PIV 法は、通常は目には見えない流体を、その動き(流体の動きを“流動”という)に追従する小さな粒子によって標識しライブイメージングを行うことで、流動を可視化・記録する。得られた撮影画像から流れ場全体の速度ベクトルを計測することによって、流動の方向・速さの空間内の分布および時間ごとの変化を定量的に理解することができる。

そこで、PIV 法による細胞流動解析のため、ニワトリ胚の外胚葉性上皮系細胞に蛍光粒子(蛍光標識されたオリゴDNA)を取り込ませて標識し、共焦点顕微鏡下において *ex ovo* 胚培養を行いながら 3 分間隔・約 10 時間の高解像度ライブイメージ

ングを行った(図 2A)。結果、ニワトリ胚原始線条形成期に左右両側で起こる回転性細胞流動は、左側よりも右側が速い速度で移動し、更に広い領域で動くことが明らかになった⁷⁾(図 2B, C)。この細胞流動はノード形成よりも早い時期に起こることから、鳥類胚では定説よりも早い発生段階から既に左右非対称性が存在することが示唆された。

このようにして同定されたニワトリ胚細胞流動の左右非対称性だが、いまだ残されている不明点については今後の展望として以下で議論する。

Ⅲ. 今後の展望

1. ノード形成との関係性

羊膜類のうち、マウスをはじめとした多くの種は、ノードに“ノード繊毛”と呼ばれる運動性繊

毛と運動性のない一次繊毛を持つ。ノード繊毛は一定方向へ回転することによってナノスケールの水流を起こし、左側の特異化に関係する遺伝子群が活性化される。一方で、ニワトリやブタなど、鳥類や偶蹄目ではノードにはノード繊毛はない。このような動物種では、ノードが左右差遺伝子群の経路の制御に重要であることが示されているが¹¹⁾、詳細な分子・細胞生物学的機序は十分に解明されていない。

先行研究では、ニワトリ胚のノード形成において、ノード周辺に左回りの細胞の動きが同定されている¹²⁾。この集団的細胞運動はノード形成・左右差遺伝子群の発現制御に重要である可能性が示唆されており、今後、筆者らが同定した細胞流動の左右非対称性とノード形成期の集団的細胞運動の関係性について検討することによって、新たなノード形成モデル・左右差遺伝子群の発現制御モデルの発見につながることを期待される。

2. 種を越えた細胞流動の共通性

細胞流動は進化的に保存された現象だが、動物種によって流動のパターンが異なる¹³⁾。近年、イメージング技術の発展によって原腸形成期のマウス胚での活発な細胞運動が明らかになったが、ニワトリ胚と同様の渦状の回転運動は確認されていない^{14, 15)}。今後、ノード繊毛を持つ羊膜類生物における細胞流動のパターンを解析することによって、細胞流動の新たなメカニズム・発生における役割が明らかになると考えられる。

3. 細胞流動に左右非対称性が生じるメカニズム

ニワトリ胚細胞流動の開始には Vgl シグナルが必要であり^{16, 17)}、胚内(明域, area pellucida)・胚外(暗域, area opaca)の境界域(marginal zone)に存在するミオシンケーブルを介した細胞・組織力学的性質の前後軸に沿った差異によって細胞流動のパターンが制御されると考えられている^{18, 19)}。細胞流動に左右非対称性が生じるメカニズムは現時点で未知のもののだが、細胞流動制御メカニズムの左右差に着目した解析を通じて、その解明へのアプローチが期待される。

おわりに

ヒトの体の形態的な左右非対称性異常の発症頻

度は、新生児の約 1 万人に 1 人であり、多くの原因遺伝子が同定されてきた²⁰⁾。このうち、繊毛の運動性・形成などの機能が同定されている遺伝子は約 25%で、残りの遺伝子群が左右非対称性に寄与するメカニズムについては明らかになっていない²¹⁾。細胞流動から捉える左右非対称性の研究によって得られる細胞力学的な知見は、これまで不明であった左右非対称性異常の発症機序の解明に貢献できる可能性がある。

●文 献

- 1) Hamada H, Tam PP : *F1000Prime Rep.* **6** : 110, 2014
- 2) Levin M, Johnson RL, Stern CD et al : *Cell.* **82** : 803-814, 1995
- 3) Nonaka S, Tanaka Y, Okada Y et al : *Cell.* **95** : 829-837, 1998
- 4) Okada Y, Takeda S, Tanaka Y et al : *Cell.* **121** : 633-644, 2005
- 5) Katsu K, Tokumori D, Tatsumi N et al : *Dev Biol.* **363** : 15-26, 2012
- 6) Mikawa T, Poh AM, Kelly KA et al : *Dev Dyn.* **229** : 422-432, 2004
- 7) Asai R, Sinha S, Prakash VN, Mikawa T : *Proc Natl Acad Sci U S A.* **122** : e2414860122, 2025
- 8) Gräper L : *Wilhelm Roux Arch Entwickl Mech Org.* **116** : 382-429, 1929
- 9) Wetzel R : *Wilhelm Roux Arch Entwickl Mech Org.* **119** : 188-321, 1929
- 10) Petitjean L, Reffay M, Grasland-Mongrain E et al : *Biophysical J.* **98** : 1790-1800, 2010
- 11) Pagán-Westphal SM, Tabin CJ : *Cell.* **93** : 25-35, 1998
- 12) Gros J, Feistel K, Viebahn C et al : *Science.* **324** : 941-944, 2009
- 13) Leptin M : *Dev Cell.* **8** : 305-320, 2005
- 14) Ichikawa T, Nakazato K, Keller PJ et al : *PLoS One.* **8** : e64506, 2013
- 15) Shioi G, Watanabe TM, Kaneshiro J et al : *Life Sci Alliance.* **8** : e202402839, 2025
- 16) Asai R, Prakash VN, Sinha S et al : *eLife.* **12** : RP89948, 2024
- 17) Caldarelli P, Chamolly A, Villedieu A et al : *Nature.* **633** : 887-894, 2024
- 18) Saadaoui M, Rocancourt D, Roussel J et al : *Science.* **367** : 453-458, 2020
- 19) Sheng G, Martinez Arias A, Sutherland A : *Science.* **374** : abg1727, 2021
- 20) Deng H, Xia H, Deng S : *Expert Rev Mol Med.* **16** : e19, 2015
- 21) Postema MC, Carrion-Castillo A, Fisher SE et al : *Sci Rep.* **10** : 3677, 2020