内臓の左右軸形成と変態期の眼の移動との関わり

鈴木 徹

東北大学大学院農学研究科

Asymmetry formation of internal organs and its relationship with laterality of flounder eyes

TOHRU SUZUKI

Laboratory of Bioindustrial Informatics, Graduate School of Agriculture, Tohoku University, Miyagi 981-8555, Japan

異体類では、脊椎動物に普遍的な内臓の左右非対称性に加えて、眼と色素細胞の配置に非対称性がみられる。体全体がこれほど極端に非対称性を示す生物は、全ての脊椎動物を含めても異体類に限られている。異体類の種苗生産で問題となっている眼位異常や白化・黒化の発症機序を解明するためには、非対称性形成を制御している発生機構を理解する必要がある。このように異体類の左右性は、発生学的にも増養殖の視点からも、非常に興味深くかつ重要な発生現象である。近年の分子発生学の進展により、左右軸形成遺伝子と呼ばれる *nodal-lefty-pitx2* の分子カスケードが、内臓や脳の非対称性形成で中心的な役割を果たしていることが明らかにされている。私達は、異体類の眼の非対称性形成における左右軸形成遺伝子の機能に注目して研究を進めている。これまでに、魚類胚における左右軸の形成機構¹⁾、眼位逆位を起こすヒラメ突然変異体 *reversed* (兵庫県水産試験場で作製されたクローン家系) の表現型について解析し²⁾、内臓の非対称性を制御している遺伝子が、眼の移動方向の制御にも関与していることを示唆した。ここでは、これまでに得られた結果の概略を紹介する。

1) 内臓の非対称性形成機構

魚類では、心臓と消化器系などの内臓、および脳の形態にも左右非対称性が認められ、松果体と手綱核が左右非対称に形成される。胚が体節期まで発生すると、3種類の左右軸形成遺伝子 (*nodal*, *lefty*, *pitx2*) が、心臓原基、腸管原基および前脳の左側に特異的に発現する。心臓原基と腸管原基は、最初、真っ直ぐな管として発生するが、左側に発現する左右軸形成遺伝子の作用により左右非対称に組織を形成し、捻れを生じる。

マウスやニワトリでは、ノードが、*nodal-lefty-pitx2* の分子カスケードを左側だけでオンにするスイッチとして機能することが知られているが、魚類におけるこのようなスイッチの存在は不明であった。最近、魚類胚で尾芽に形成されるクッパー胞の周縁に発現する魚類の *nodal* が同定され、さらに、クッパー胞がノードと同様

に左のスイッチとして機能することが示された。さらに、私達は *nodal* のアンタゴニストである新規分子 *charon* を発見した。アンチセンスモルフォリノオリゴを使って実験的に *charon* の機能を阻害すると、*nodal-lefty-pitx2* の分子カスケードの活性化が、左側のみ、右側のみ、あるいは両側で起こる、いわゆる「左右のランダム化」が観察された。その結果、心臓の捻転方向もランダム化した¹⁾。このことから、*charon* は、クッパー胞のスイッチによる左側のオン状態を、右側の *nodal* を積極的にオフにすることで、安定化していると考えられた (図1)。

nodal-lefty-pitx2 の分子カスケードは、心臓と腸の捻転方向を決定していることが知られている。したがって、ノード/クッパー胞のスイッチ機能が失われた場合や *charon* の機能阻害によって左側のオン状態の安定化が異常になった場合、*nodal-lefty-pitx2* の分子カスケードと同時に、心臓と腸の捻転方向がランダム化する。さて、ホシガレイ孵化仔魚の腸管の捻転方向を調べてみると、ロットによっては、高率 (20% 程度) に腸管の捻転逆位が発症していることがわかった。このことは、飼育過程における何らかの環境要因が、クッパー胞のスイ

図1 魚類胚での左右軸形成機構。矢印はクッパー胞から腸管原基、心臓原基、前脳の左側への左右軸形成遺伝子のリレー式伝達を示す。*charon* は、右方向への入力を抑制する。

図2 ヒラメ逆位変異体 *reversed* における胚期 *pitx2* の発現 (A) と変態後の眼位と腸の捻転異常の出現率 (B)。

ッチ機能あるいは左側のオン状態の安定化に影響を及ぼしている可能性を示唆している。

2) 異体類の非対称性

ヒラメ突然変異体 *reversed* 胚の遺伝子発現と心臓の形態を解析したところ、左右軸形成遺伝子の発現と心臓の捻転方向がランダム化していることが分かった (図2A)。この表現型は、*charon* の機能阻害実験の結果と酷似している。一方、マウスでは、ダイニン遺伝子の突然変異によりノードの繊毛運動がなくなると、ノードのスイッチ機能が失われ、左右軸のランダム化が起こることが知られている。³⁾ これらの事実から考えると、ヒラメ変異体 *reversed* では、クッパー胞のスイッチ機能もしくは左側のオン状態の安定化が突然変異によって異常になっていることが予想される。*reversed* 胚が変態まで発生すると、20%程度の個体で、眼位逆位個体が発現する。ただし単純に、内臓逆位の個体が眼位逆位になるのではなく、内臓の逆位個体から眼位正常も逆位も生じ、内臓の正常個体からも正常眼位と逆位が生じる

(図2B)。すなわち *reversed* では、左右軸のランダム化に伴い、内臓と眼が、独立に逆位を起こしていると考えられる。胚における左右軸形成遺伝子の発現と眼、内臓の左右性との関係について、次のように推定している。(1)左右軸形成遺伝子が正常胚と同様に左側に発現した場合、眼も内臓も正常な左右性を示す。(2)右側に発現した場合、眼も内臓も逆位となり、正常仔魚に対して鏡像対称となる。(3)両側に発現した場合、眼と内臓が独立に左右いずれかの発現シグナルを利用することにより、一部の個体で眼位と内臓の捻転にヘテロタキサが生じる。腸管原基のシグナルが、眼の左右性に関与している可能性は低く、前脳あるいは心臓原基に発現する左右軸形成遺伝子が、眼の移動に関与していると考えるのが妥当であろう。今後は、左右軸形成遺伝子が、どのような経路を介して眼の左右性に関わっているのか、ヒラメとカレイにおけるシグナルの使われ方の違いについて検討することにより、異体類の左右非対称性の形成機構を分子レベルで理解したいと考えている。

文 献

- 1) Hashimoto H, Mizuta A, Okada N, Suzuki T, Tagawa M, Tabata K, Yokoyama Y, Sakaguchi M, Tanaka M, Toyohara H. Isolation and characterization of a Japanese flounder clonal line, *reversed*, which exhibits reversal of metamorphic left-right asymmetry. *Mech. Dev.* 2002; **111**: 17–24.
- 2) Hashimoto H, Rebagliati M, Ahmad N, Muraoka O, Kurokawa T, Hibi M, Suzuki T. The Cerberus/Dan-family protein Charon is a negative regulator of Nodal signaling during left-right patterning in zebrafish. *Development* 2004; **131**: 1741–1753.
- 3) Supp DM, Brueckner M, Kuehn MR, Witte DP, Lowe LA, McGrath J, Corrales J, Potter SS. Targeted deletion of the ATP binding domain of left-right dynein confirms its role in specifying development of left-right asymmetries. *Development* 1999; **126**: 5495–5504.