

課題番号 3

棘皮動物(ヒトデ) 胚発生における 繊毛運動制御神経系形成の解析- 1

[1] 組織

代表者：清本 正人

(お茶の水女子大学 湾岸生物教育研究所)

対応者：魏 范研

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：加藤 秀生

(東北大学名誉教授)

研究費：物件費 10 万円，共益金 3 万円

[2] 研究経過

本研究は前年度までの「棘皮動物(ナマコ)胚発生における繊毛運動制御神経系形成の解析-2」の研究成果を基に、更に同じ棘皮動物であるが、異なった綱に属するヒトデの一種イトマキヒトデ胚に拡張した。その「脳の発達・加齢に関する研究」として 3-Mercaptopropionic acid (3-MPA) による GAD 活性阻害を受けた胚・幼生の GABA 活性を介した(1)繊毛運動調節機構の解析と(2)その発生学的機構に重点を置いて解析を行なった。その中で、特に① 3-MPA 処理による繊毛運動機能の変化と②繊毛帯を GAD と神経特異的カルシウム結合蛋白 Synaptotagmin B(神経繊維)特異抗体 1E11(Burke, et al. 2006)に注目して、免疫組織化学処理した試料を加齢研共通機器管理室の共焦点レーザー顕微鏡による観察によって解析した。魏 范研教授とはメールまたは面接によって打ち合わせを行い実施した。

*Burke, et al. (2006) *J. Comp. Neurol.* 10;496(2): 244-251. DOI:10.1002/cne.20939.

以下に研究活動状況の概要を記す。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

(a) 3-MPA 処理による繊毛の運動：

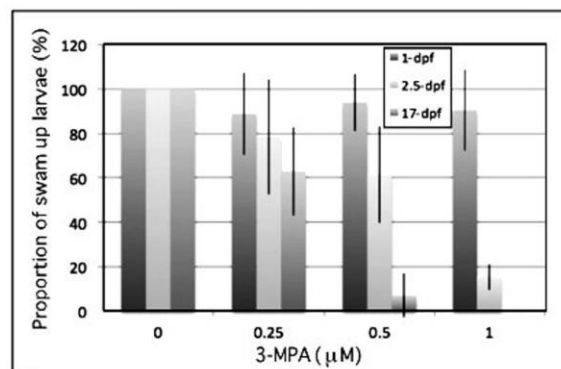


図 1. 3-MPA 存在下での幼生は受精 1 日後、2.5 日後、17 日後までは発生が進むにつれて、また、それぞれが 3-MPA の投与濃度に比例して遊泳阻害の効果が増大する。逆に、これは GAD 活性を生み出す神経系の機能比率が亢進することを示している。

この結果から、繊毛運動は 3-MPA による GAD 活性阻害により阻害され、それは発生が進むにつれて GAD 神経系が発達し、その比重が増加していることを示唆している。それは同時に、繊毛運動の神経支配が神経形成を伴う個体発生に従って強くなっていくことを示唆する (図 1)。

(b) 繊毛帯：

前期 *Brachiolaria* 幼生の繊毛帯はよく発達し、1E11 抗体で識別される神経繊維は上皮基部近くにあり、体腔中には GAD 陽性細胞が多く見られ、一部は繊毛帯の 1E11 陽性神経繊維に沿って分布している (図 2、小図 A-C)。しかし、発生が進むと、特に幼生前端部ではこの細胞の集積が特定の領域に限られてくる (図 2、D)。

後期 *Brachiolaria* 幼生の (図 3) では、GAD 細胞は 1E11 繊維に沿って配列している。この観察では、GAD 細胞は 1E11 陽性繊維の表面に沿って分布していると推測される。

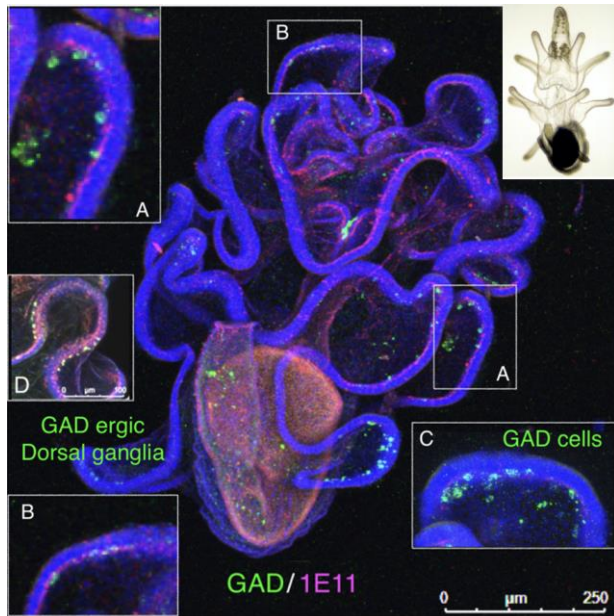


図 2. 前期 Brachiolaria 幼生 (右隅) における GAD と 1E11 陽性部位。主画像内の各四角(A, B)は画像周辺の四角(A, B)でそれぞれ拡大して示している。四角(C)は GAD 細胞の数が増加している部位を示す。画像(D)はさらに発生が進んだ個体における GAD 細胞が 1E11 陽性神経節に沿って配列している様子を示す。右上隅の顕微鏡像は慶應大学・金子洋之氏 (2020) による。

さらに発生が進んだ後期 Brachiolaria 幼生では、体表の繊毛帯上皮基底面に 1E11 陽性の神経繊維が見られるが (図 3)、GAD 陽性細胞はこの部分に沿っているのが分かる(図 A-C)。発生がさらに進んだ幼生では背側の神経節 (図 D: Dorsal ganglion) で、神経繊維に沿って GAD 細胞が集中している (図 2、D)。

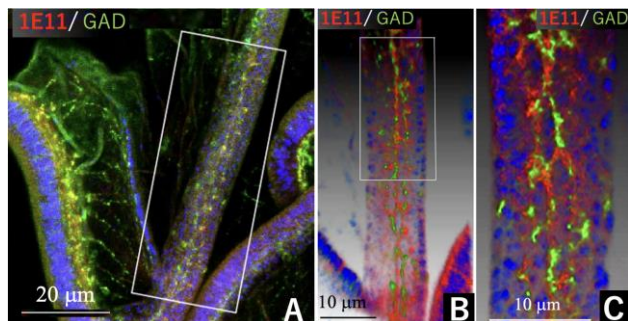


図 3. 後期 Brachiolaria 幼生腕足部の GAD 陽性細胞は 1E11 陽性神経繊維の近傍に密接して分布している。

(3-2) 波及効果と発展性など:

GABA は中枢神経系など抑制性伝達物質として知られるが、神経系以外の生理機能を有していることから、広範囲な動物生理制御機構の解明にも貢献すると期待される。

[4] 成果資料

1. Katow, H., Abe, K., Katow, T., Yoshida, H., Kiyomoto, M. (2020a) Involvement of Netrin/Unc-5 Interaction in Ciliary Beating and in Pattern Formation of the Ciliary Band-Associated strand (CBAS) in the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. *International Journal of Molecular Sciences* 21, 6587; doi:10.3390/ijms21186587
2. Katow, H., Yoshida H., Kiyomoto M. (2020b) Initial report of γ -aminobutyric acidergic locomotion regulatory system and its 3-mercaptopropionic acid-sensitivity in metamorphic juvenile of sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Scientific Reports* 10:77
3. Katow, H., Katow, T., Yoshida, H., Kiyomoto, M. (2021) Involvement of Huntingtin in development and ciliary beating regulation of larvae off the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, 22, 5116.
4. Katow, H., Kiyomoto, M., Yoshida, H. (2022) Contribution of Huntingtin in motile mechanisms of sea urchin before and after metamorphosis. *Annual Meeting of Zoological Society of Japan (Tokyo)*
5. Katow, H., Katow, T., Yoshida, H., & Kiyomoto, M. (2023) Analysis of the neural control system involved in the ciliary movement during larval development of a sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. *Annual Meeting of Zoological Society of Japan (Yamagata)*.