

ゼブラフィッシュ半数体症候群の細胞異常を特定

～脊椎動物における生活環進化の100年来の謎に迫る～

ポイント

- ・ゼブラフィッシュ半数体の発生障害の一端が著しい細胞死と細胞分裂停滞に因ることを発見。
- ・細胞死はゲノム異常を監視する p53 遺伝子の亢進に因ることを特定。
- ・細胞分裂停滞は、半数体特有の中心体喪失が起こす紡錘体チェックポイントに因ることを解明。

概要

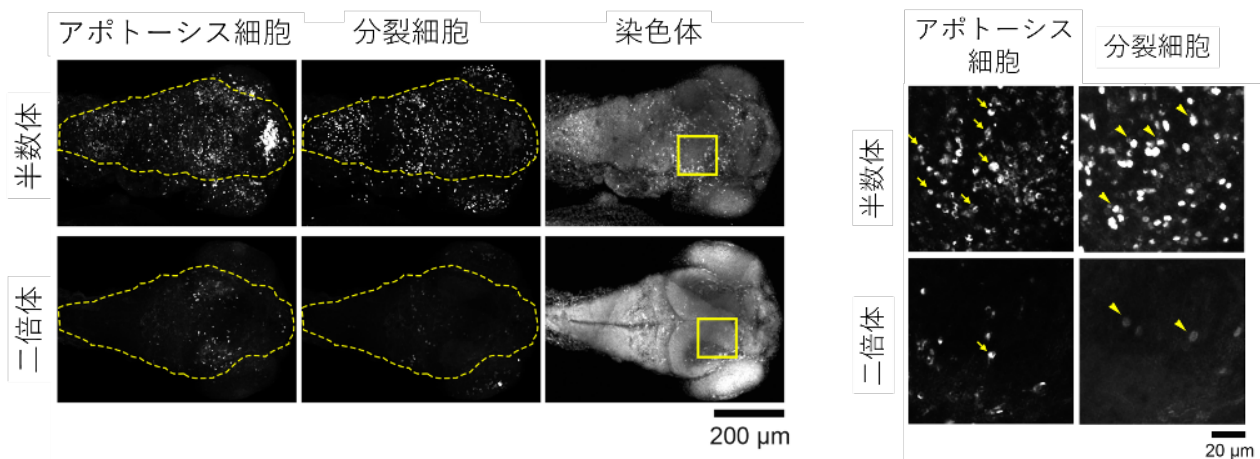
北海道大学大学院先端生命科学研究院の上原亮太准教授及びインド工科大学ボンベイ校のスリラジャ=ナイア准教授らの研究グループは、ゼブラフィッシュ胚でゲノムを1コピーしか保有しない「半数体」状態で発生不全が生じる原因の一端を細胞レベルで明らかにしました。

脊椎動物の多くは、母方父方のゲノムを1コピーずつ保有した二倍体状態で存在し、半数体は胚性致死となることが知られています。これは、動物種的生活環における厳密な進化的制約であると考えられますが、一揃いの完全なゲノムをもつにも関わらず半数体が許容されない理由は長年謎でした。

本研究では、ゼブラフィッシュを材料に、半数体モデル胚を作製し、その発生過程における細胞レベルの異常を、正常二倍体との比較イメージング解析・生化学解析によって調べました。この結果、半数体胚では組織成長期に全身的な細胞死と細胞分裂の停滞が生じ、十分な成長が妨げられていることが明らかになりました。さらに、細胞死と分裂停滞が、それぞれ p53 遺伝子の異常亢進と中心体喪失による分裂期チェックポイントの作動によって引き起こされていることを突き止め、半数体で顕著な発生不全が生じる分子・細胞レベルの要因の一端を明らかにすることに成功しました。

これらの知見は、脊椎動物における生活環進化の制約が形成された原理の理解の一助になるとともに、遺伝子工学や育種分野における半数体資源開発のための重要なヒントを提供するものと期待されます。

本研究成果は、2024年10月9日（水）公開の Open Biology 誌に掲載されました。



ゼブラフィッシュ半数体胚における細胞死（アポトーシス；左）と細胞分裂停滞（中央）。黄色囲い部を右パネルに拡大表示している。

【背景】

脊椎動物は一般的に、母方父方のゲノムを1セットずつ、計2セット保有する二倍体状態のみで生存、発生が可能です。植物・菌類や一部の無脊椎動物と異なり、脊椎動物ではゲノムを1セットしか保有しない半数体（一倍体）状態では臓器形成・成長の不全などの著しい発生障害を伴い、胚性致死になります。この現象は「半数性症候群」*¹と呼ばれ、魚類や両生類では100年以上前に発見されていましたが、その分子・細胞レベルでの原因は明らかではありませんでした。

【研究手法】

研究グループは、ゼブラフィッシュのUV照射で不活性化した精子を用いた卵の賦活化により、半数体胚を作製し、その発生過程を細胞・組織・個体レベルでイメージング解析し、正常二倍体胚との違いを詳細に調べました。また、胚サンプルをフローサイトメトリー*²や生化学解析に供し、半数体で発生異常を引き起こす原因となる細胞内シグナリング制御や細胞周期制御の変調の実態を分析しました。さらに、半数体特有の障害の原因と推定された細胞内シグナリングの変調を人為的に改変・解消した際の、生体内細胞増殖や胚発生への影響を解析することで、半数体の細胞異常と胚発生不全の間の因果関係を検証しました。

【研究成果】

本研究により、半数体ゼブラフィッシュ胚では賦活化の数日後から全身的な細胞死と細胞分裂の停滞が発生することが分かりました。半数体では、ゲノム異常を検知する役割をもつp53遺伝子の発現が亢進し、このp53の発現を人為的に抑制すると、半数体胚の細胞死が緩和して、半数体胚の組織の矮小化も部分的に解消することが分かりました。さらに、半数体では細胞分裂期の染色体分配を司るオルガネラの「中心体」*³の複製不全により、機能性の紡錘体*⁴を作ることができなくなり、紡錘体チェックポイント*⁵が作動することで細胞の分裂増殖が滞ることを見出しました（図1）。紡錘体チェックポイントを人為的に抑制するとこの分裂停滞が解消し、半数体胚の組織矮小化が部分的に緩和することが分かりました。これらの結果から、p53依存性経路と紡錘体チェックポイントの二つの細胞異常監視機構が作動して細胞の生存増殖性が制限されることが、半数体特有の発生不全の要因の一端であることが明らかになりました。

【今後への期待】

半数体状態への不寛容性は、脊椎動物グループを特徴づける根本的な特性の一つです。本研究の発見をもとに、今後、半数体への許容性の高い動物種における中心体やp53制御の特徴を調べて比較していくことで、なぜ脊椎動物がこのようにゲノムコピー数の変動に対して融通の利かないシステムを発達させてきたのかを分子・細胞レベルで理解できるようになると期待されます。半数体はゲノムを1コピーしかもたず、遺伝子改変が容易であるため、遺伝子工学や育種分野における重要な研究開発資源です。しかし、脊椎動物では半数体状態への不寛容性が、この半数体の利用価値を制限する問題になっています。半数体への不寛容性の根本原因を理解することで、この克服が可能になることが期待されます。

【謝辞】

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業・基盤研究（B）（JP19H03219; JP24K02017）、挑戦的研究（萌芽）（JP21K19244）、国際共同研究加速基金（B）（JP19KK0181）、新学術領域研究「シン

ギュラリティ生物学」(公募研究)(JP19H05413)、第一三共生命科学研究振興財団研究助成、高松宮妃癌研究基金研究助成金、中谷医工計測技術振興財団奨励研究助成、蓬庵社特別研究助成、テルモ生命科学研究振興財団研究開発助成、加藤記念バイオサイエンス振興財団研究助成、北海道 B 型肝炎訴訟オレンジ基金研究助成金、喫煙科学財団研究助成事業(以上、代表者:上原亮太)などの支援により実施しました。フローサイトメトリー及び顕微鏡は北海道大学オープンファシリティセンターの共用機器を利用し、支援いただきました。

論文情報

論文名	Haploidy-linked cell proliferation defects limit larval growth in zebrafish (半数体特有の細胞増殖不全がゼブラフィッシュ半数体胚の成長を制限する)
著者名	矢口 完 ^{1,2} 、齋藤大輝 ¹ 、トリベニ=メノン ³ 、松浦 暉 ¹ 、細野美優 ¹ 、水谷武臣 ⁴ 、小谷友也 ⁵ 、スリラジャ=ナイア ⁶ 、上原亮太 ^{1,2} (¹ 北海道大学大学院生命科学院、 ² 北海道大学大学院先端生命科学研究院、 ³ Janelia Research Campus, Howard Hughes Medical Institute、 ⁴ 北海学園大学工学部、 ⁵ 北海道大学大学院理学研究院、 ⁶ インド工科大学ボンベイ校)
雑誌名	Open Biology (英国王立協会のオープンアクセス生物学誌)
DOI	10.1098/rsob.240126
公表日	2024 年 10 月 9 日 (水) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院先端生命科学研究院 准教授 上原亮太 (うへはらりょうた)

T E L 011-706-9238 F A X 011-706-9238 メール ruehara@sci.hokudai.ac.jp

U R L https://altair.sci.hokudai.ac.jp/uehara_lab/

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

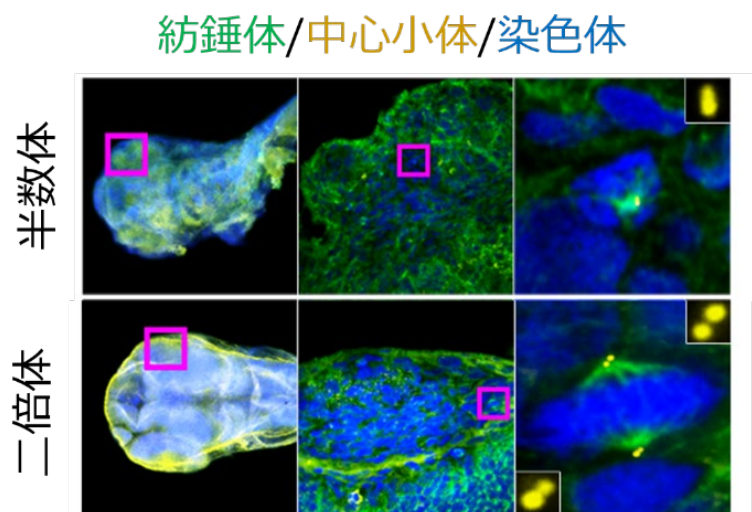


図 1. 半数体及び二倍体ゼブラフィッシュ胚の賦活化 2 日後の免疫蛍光染色像。左: 胚頭部像、中央: 眼部拡大像、右: 分裂細胞の拡大像(それぞれ四角囲い部を右に拡大表示している)。二倍体胚では正常数の中心体(2x2の中心小体)から双極性の紡錘体が形成されているが、半数体では中心小体が半減し、単極性の紡錘体が形成されている。

【用語解説】

- *1 半数性症候群 … 主に魚類や両生類で、半数体胚が体軸の短縮や脳、眼の矮小化などの特徴的な形態形成不全を伴って孵化期前後に致死となる発生異常のこと。哺乳類の場合には、母方と父方のゲノムが異なる遺伝子セットの発現を担うため（＝ゲノム刷り込み現象）、半数体では刷り込み遺伝子産物の欠損で致死になると考えられている。一方でゲノム刷り込み現象が起こらない魚類・両生類でなぜ半数体が発生異常を起こすのかは長年謎のままである。
- *2 フローサイトメトリー … 単離した細胞サンプルを一つ一つ水流中で整列させて、分析光を照射し、サンプル由来の散乱光や蛍光の測定情報から細胞のサイズ、形状、DNA 保有量などを計測する手法。
- *3 中心体 … 細胞分裂期に染色体分配を司る細胞内構造体。一つの中心体は二つの直交する円筒状の中心小体を足場に、数多くの中心体タンパク質が集積することで形成される。細胞周期ごとに一回自己複製を起こすことで、細胞内に常に一定数の中心体が保持される。
- *4 紡錘体 … 細胞分裂期に二つの中心体を極にして形成される双極性の微小管構造。中心体から伸長する微小管束が個々の染色体分体を捕捉、整列して均等分配することで、遺伝情報が正しく二つの娘細胞に継承される。分裂期の中心体数が減少すると、紡錘体の双極性構造の維持が困難になり、染色体の整列不全が引き起こされる。
- *5 紡錘体チェックポイント … 紡錘体形成に異常が生じた際に、細胞分裂の進行を一時的に停止し、異常の原因が解消されるまで待機させる監視機能。具体的には、分裂期にすべての染色体分体が紡錘体微小管により捕捉されているか否か、及び、補足により染色体分体に張力がかかり、正常な染色体分配を開始する準備が整っているかの2点がモニターされ、これらの不全により染色体分配の開始が阻害され、分裂期の停滞が引き起こされる。