



---

棘皮動物幼生神経節形成の分子機構解析

---

(13680800)

平成13年度～平成14年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）研究成果報告書

平成15年6月

研究代表者 加藤秀生

(東北大学大学院理学研究科附属臨海実験所教授)

## 目次

要旨	3
研究組織	4
研究経費	4
研究発表	
(1) 学会誌等リスト	4
(2) 学会口頭発表リスト	5
(3) 学会誌発表論文	7
(4) 学会口頭発表論文要旨（平成15年度）	117

## 要旨

棘皮動物幼生には幾つかの神経伝達物質で作動する神経系が存在するが、セロトニンを伝達物質とする神経節（頂部セロトニン神経節）が最も初期に発生する。セロトニン神経節はプリズム幼生期に動物極上皮（Apical tuft）領域の特定の細胞から構成されている。本研究課題はセロトニン生成が発生のどの段階で、どの胚領域で見られるかを遺伝子発現を指標として解明することであった。まず、所期の研究を推進するために、セロトニン合成酵素（5-tryptophan hydroxylase, TPH）の遺伝子分離と構造の完全解析から開始した。その結果、UTR を 5'領域に 383 塩基対持つ翻訳領域 1,992 塩基対からなり、479 個のアミノ酸を持つ TPH 遺伝子が分離され、完全構造を解明した。この遺伝子は脊椎動物で解明されている TPH の触媒領域を保存しており、系統樹からはニワトリの TPH に近いが、脊椎動物と無脊椎動物の中間に独自の位置を示している。

次にこの遺伝子の発現部位を *in situ* hybridization と免疫組織化学法を同一試料に適用して調べた。その結果、免疫組織化学的に検出される細胞と一致して TPH 遺伝子が発現することを明らかにした。さらに、従来セロトニン神経細胞が下唇神経節(Lower lip ganglion)を形成していると報告されていたが、*in situ* hybridization と免疫組織化学法の同時適用から、下唇神経節ではセロトニンが合成されていないこと、従ってここは神経節ではなく、セロトニンの貯蔵部域であることが判明した。

セロトニン神経節の機能を TPH 機能阻害剤として知られる p-chlorophenylalanine(CPA)で処理した幼生の行動に及ぼす作用を指標として解析した。その結果、セロトニンは幼生体表にある繊毛運動を阻害してはいないことが明らかとなった。しかし、CPA は幼生の遊泳運動を著しく阻害することを観察しているので、繊毛運動にはセロトニンは関与していないが、この運動が幼生の遊泳に至る制御過程にセロトニンが必要である可能性が考えられた。この疑問に対してセロトニン受容体の存在、あるとすればその組織学的分布の解明に着手した。

プルテウス幼生からセロトニン受容体遺伝子の分離を試みた結果、受精 60 時間後（15℃培養）2 腕プルテウス幼生から該当遺伝子を分離し、ほぼその全構造解明ができた。その結果、翻訳領域では脊椎動物のセロトニン受容体 A に類似していることが判明した。この遺伝子の一部塩基配列から演繹されるアミノ酸配列を元にしたペプチドを合成し、これに KHL 蛋白を共有結合した合成ペプチドを作成し、マウスで抗体作製を行った。できた抗体を用いた免疫組織化学、免疫プロットングから、セロトニン受容体蛋白は既に報告されている無脊椎動物のものに近い相対分子量 67kDa を示し、プリズム幼生初期に二次間充織細胞由来細胞群に発現されることを解明した。こ

の発見は二次間充織細胞が神経系の細胞にも分化することを示し、この細胞群の多分化能の幅が従来考えられていたものより広いことを意味する。セロトニン受容体細胞は受精後48時間プルテウス幼生期には胞胚腔中にネットワークを完成させる。セロトニン受容細胞ネットワークができた幼生をCPAで処理するとこのネットワークを構成している細胞間が離反し、ネットワーク構造が崩壊することを観察した。このことから、セロトニン欠如による幼生の遊泳障害はセロトニン受容細胞ネットワークを必要としていると考えられる。従って、セロトニンによる幼生の遊泳制御は従来考えられていたような繊毛細胞への直接の作用ではなく、セロトニン受容細胞を経由する一種の介在神経系を経由するものである可能性が強くなった。この意味で、棘皮動物幼生の神経系は従来考え等れてきた以上に遙かに高度な組織化したものであると考えられる。従って、棘皮動物の神経系の概念を一変させ、神経系の系統進化を考える上で重要な一步を記す成果を得ることができた。

研究組織：

研究代表者： 加藤秀生 (東北大学大学院理学研究科附属臨海実験所)

研究経費：

平成13年度	2,800 千円
平成14年度	900 千円
計	3,700 千円

研究発表：

(1) 学会誌等

Katow, H., and Aizu, G. (2002) Essential role of growth factor receptor-mediated signal transduction through the mitogen-activated protein kinase pathway in early embryogenesis of the echinoderm. *Develop. Growth Differ.* **44**, 437-455.

Katow, H. (2003) Extracellular signal transduction in sea urchin

embryogenesis: From extracellular matrix to MAP kinase pathway.

*Current Topics in Peptide & Protein Research.* (印刷中)

Hara, Y., and Katow, H. (2003) Asymmetric formation and possible function of primary pore canal in plutei of *Temnoleurus hardwicki*. *Develop. Growth Differ.* **45**. (印刷中)

Yaguchi, S., and Katow, H. (2003) Expression of tryptophan 5-hydroxylase gene during sea urchin neurogenesis and role of serotonergic nervous system in larval behavior. *J. Comp. Neurol.* (印刷中)

## (2) 口頭発表

Ikuta, Y., & Katow, H. (2001) Inhibition of spiculogenesis by a surfactant, Nonylphenoethoxylate in sea urchin embryo. *Zool. Sci.* **18** Supplement 79.

Hara, Y., & Katow, H. (2001) Discovery of a pair of ciliated organs in echinoplutei: Its morphology and differentiation. *Zool. Sci.* **18** Supplement 88.

Aizu, G., & Katow, H. (2001) Initial report of ECM/MAPK signal transduction cascade in primary mesenchyme cell migration in sea urchin embryo. *Zool. Sci.* **18** Supplement 88.

Wakayama, N., & Katow, H. (2001) Initial analysis of molecular property of epithelial cell surface-specific protein, Epith-2 in sea urchin embryo. *Zool. Sci.* **18** Supplement . 88.

加藤秀生(2001) 「生命 35 億年の言葉：情報の伝達方法」青森ロータリークラブ例会招待講演。11月21日(青森国際ホテル)青森ロータリークラブ会報 No.20. 2頁。

Katow, H. (2002) Development of serotonergic neurons in sea urchin embryos. University of Victoria,(Canada, Victoria). Invited Seminar March 21. 招待講演

Katow, H. (2002) Growth factor receptor-transmitted extracellular signal transduction is vital during early embryogenesis. *Developmental Biology of the Sea Urchin XIV* (Woods Hole) 招待講演

Yaguchi, S., & Katow, H. (2002) Differentiation of serotonergic apical ganglion in echinoplutei: Sea urchin tryptophan-5-hydroxylase gene

expression. *Developmental Biology of the Sea Urchin XIV* (Woods Hole)

Hara, Y., & Katow, H. (2002) Development of coelomic sac-derived organ : ciliation and left-right asymmetry. *Developmental Biology of the Sea Urchin XIV* (Woods Hole)

加藤秀生(2002)ウニ初期発生において成長因子受容体を經由する MAPK 経路シグナル伝達系は形態形成に不可欠である」ウニ形態形成シンポジウム II (お茶の水女子大学、館山臨海実験所、千葉)

加藤秀生(2002) 「胚形成の分子機構」平成14年度青森県高等学校野外講座「生物」講演(2002年7月4日、東北大学大学院理学研究科附属臨海実験所、浅虫)

Katow, H., Kyojuka, K., & Kuraishi R. (2002) Formation of serotonin receptor cell network in sea urchin larvae. *Zool. Sci.* 19 Supplement.

Yasuda, H., & Katow, H. (2002) Initial analysis of factors that regulate the direction of serotonergic nerve fiber elongation in ectoderm cell reaggregates in sea urchin embryo *Zool. Sci.* 19 Supplement.

Yaguchi, S., & Katow, H. (2002) Formation of serotonergic apical ganglion and possible role of serotonin in swimming behavior and morphogenesis in sea urchin larvae *Zool. Sci.* 19 Supplement.

本報告書収録の学術雑誌等発表論文は本ファイルに登録していません。なお、このうち東北大学在籍の研究者の論文で、かつ、出版社等から著作権の許諾が得られた論文は、個別に **TOUR** に登録しております。