

# 器官形態形成の他律的統合制御 - 器官間伝達物質の探索 -

## Exploring inter-organ transmitters in organogenesis

(発生生物学会推薦)

代表研究者 熊本大学

進藤 麻子

Kumamoto University

Asako SHINDO

Organ morphogenesis during development is an important research subject in developmental biology and medicine. Previous studies on morphogenesis have independently elucidated the formation of each organ, and many aspects remain unknown regarding how the multiple organs are interrelated and integrated to achieve their specific forms. In this study, I focused on the potential of “inter-organ transmitters,” such as hormones, metabolites, and other small molecules. Because inter-organ transmitters can reach any organ by blood flow or simple diffusion in a developing body, they may simultaneously control the morphogenesis of multiple organs. One of the gastrointestinal hormones regulates thyroid development in *Xenopus laevis*, a commonly used model animal in developmental biology. The thyroid is an endocrine organ composed of multiple follicles. Interestingly, the thyroid cells start follicle formation only after the *Xenopus* tadpoles eat, suggesting nutrients are significant for thyroid organogenesis. Our study shows that the gastrointestinal hormone functions as an inter-organ transmitter to signal nutrient ingestion in the intestine to the thyroid cells. The study shows the significance of inter-organ transmitters for organ morphogenesis. It opens a new question about how individual organs, cells, and molecules react to such substances. In the future, identifying the other inter-organ transmitters and their role in organogenesis will contribute to understanding how our body develops coordinately.

### 研究目的

器官の形態形成の制御分子機構は臓器再建にも関係し、発生生物学および医学分野において重要な研究対象の一つである。これまでの個体発生における器官形態形成研究は、それぞれの器官を独立した研究対象としてその成り立ちを探索し、器官特異的な遺伝子発現などの自律的な制御機構が主に解明されてきた。一方で、体内の器官同士がどのように関連して形態を獲得し、個体として統合されるのかは未知な点が多い。本研究では、血流や体内の拡散によって全身をめぐる「器官間伝達物質(ホルモンや小分子など)」の役割に着目し、全身で器官形態形成の進行を統合する制御分子機構を明らかにすることを目的とした。本研究で得られる成果は、これまでの器官自律的な制御機構に加えて、器官外からの物質が関わる非自律的な制御機構が存在することを示すこととなり、器官形成に新たな概念を提供することが

期待された。

本研究では特に、器官形成全般に重要なホルモンを分泌する甲状腺の形成過程に着目した。細胞生物学的な解析を強みとするアフリカツメガエルの幼生をモデルとして、甲状腺の形成に関わる器官間伝達物質の探索と、その機能の解明を目指した。

### 研究経過

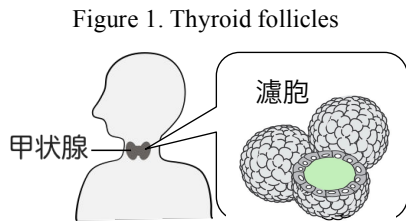
甲状腺ホルモンは発生過程においては甲状腺以外の器官の形態形成に必須の役割を果たすことが知られる。一方で、甲状腺の形成過程については不明な点が多い。私たちは甲状腺の形成が栄養に依存することを発見し、さらに消化管ホルモンがその過程に関与することを新たに見出した(論文成果1)。

本研究は発生生物学分野でよく用いられるアフリカツメガエルの幼生をモデル動物として使用した。アフリカツメガエルの幼生は、全身が未だ発生途中で各臓

器が未熟な状態の器官形成期から摂食を開始する。このことは、給餌した幼生と非給餌の幼生群を比較することで、外部から得る栄養素の役割を簡便に検証できることを意味する。驚くべきことに、非給餌群の幼生は未摂食のまま1ヶ月以上生存し、詳細は不明であるが外来由来の栄養に頼らず何らかの方法でエネルギー源を確保しているようである。このような両生類独特の生態を利用し、外部からの栄養(餌)と器官形成の関係を探索したことが本研究の始まりでもある。

興味深いことに、甲状腺においては幼生が摂食しないと、その内分泌機能に必須の濾胞 (Fig. 1) と呼ばれる球状組織の形成が開始しないことがわかった。

このことから、甲状腺の形成プロセスは「食餌」という体外の要因によって制御されていることがわかる。

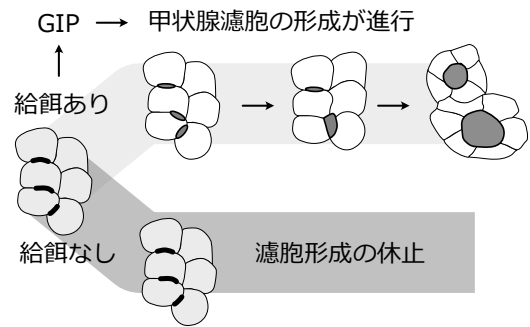


甲状腺濾胞は内腔を持つ球状の組織であり、このような腔構造を形成するためには細胞極性に基づいた精密な細胞運動や細胞の形態変化が必要であることが知られる。甲状腺濾胞の摂食に依存する形成過程を細胞生物学的に解析するために、甲状腺濾胞の3D画像を取得し、細胞の配置や濾胞の容積などを詳細に解析した。この解析は、アフリカツメガエル幼生の体が透明であることを活用することで可能となった。その結果、これまで不明であった甲状腺濾胞の形態形成過程を細胞レベルで明らかにすることができた。今回は固定標本の解析を主に行ったが、現在、甲状腺形成過程のライブイメージング法を開発中である。細胞がどのように振る舞いを変化させて甲状腺濾胞を形成するのか、今後さらに詳細な情報が得られることが期待される。

甲状腺濾胞は、甲状腺を形成する細胞集団の動きや各細胞の形態の変化により形成されると考えられる。そこで本研究では、摂食と甲状腺細胞のふるまいをつなぐメカニズムとして、摂食後に消化管から分泌されるホルモンに着目した。この時期のアフリカツメガエル幼生の消化管に発現する消化管ホルモンを同定し、それらのうち最も発現量が多いグルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド (GIP) の機能を探索した。GIP の受容体ブロッカーをマイ

クロインジェクション法により幼生に注入すると、摂食に依存する甲状腺濾胞形成は阻害された。また、GIP を同様の方法で幼生に過剰に導入すると、摂食していない幼生でも甲状腺濾胞の形成が見られた。これらのことは、消化管ホルモンである GIP が器官間伝達物質として甲状腺の形態形成に貢献していることを示唆している (Fig. 2)。

Figure 2. Feeding-dependent thyroid follicle formation through GIP



甲状腺濾胞形成が GIP を介した外来栄養により制御されることがわかったが、甲状腺の細胞はどのようにして濾胞を形成するのだろうか。私たちは細胞接着分子や細胞外マトリックスなどの組織の形態に直接関わる細胞内外の分子の発現量が、栄養摂取によって変化することも見出している (未発表)。これらの結果は、給餌群と非給餌群の幼生の発現遺伝子を網羅的に検出、解析することにより得られた。候補分子の機能や制御機構については検証中である。

器官間伝達物質となる消化管ホルモンを分泌する消化管の形成過程は、甲状腺と同じように栄養に応答するのだろうか。アフリカツメガエル幼生の発生途中の消化管の形態変化を給餌群と非給餌群で比較・解析したところ、サイズの違いはあるものの、甲状腺のような明確な栄養応答性はない可能性が見出されている。現在、発生に伴う遺伝子発現変化やメタボローム解析を行い、消化管形成の栄養応答性と、器官間伝達物質の供給器官としての機能を解析中である。消化管形成の栄養不応性が、器官間伝達物質の供給器官となる消化管特異的な応答なのか、器官によって栄養応答性が異なるためなのかを明らかにすることは、今後の重要な課題の一つである。今後、全身器官に蛍光蛋白質を発現したトランスジェニック幼生のイメージングや 3D 画像解析などの手法を用いて、各器官の形態の栄養応答性を細胞レベルで明らかにする必要がある。

## 考察

本研究では、摂食に依存して器官形成を進行するアフリカツメガエル幼生の特性を利用し、甲状腺の形成を制御する器官間伝達物質として消化管ホルモンを同定した。器官や組織を対象としたこれまでの形態形成研究では、遺伝子発現や細胞運動が着目され、器官自律的な分子メカニズムが解明されてきた。実際、そのような組織/器官自律的な制御機構は動物の体づくりの基盤であり、発生生物学の発展に大いに貢献してきた。本研究はその基盤となる器官自律的な制御機構をさらに「外から」制御する機構として、体外の栄養環境と器官間伝達物質の機能に着目し、その一端を明らかにした。器官自律的な制御機構は発生過程で決まったタイミングで正しい現象を開始するよう受精時にプログラムされている機構である。一方で、体外環境や器官間伝達物質が関与する場合は、発生過程で生じる特定の現象が環境に応じてそのタイミングを生存に有利になるようずらすことが可能となる革新的な制御機構とも言え、その全容の解明が待たれる。

本研究では、卵生動物である両生類を使用することにより、これまで着目されなかった餌や消化管ホルモン(GIP)が甲状腺の形成に貢献することを見出した。興味深いことに、GIP受容体のノックアウトマウスの生後直後の甲状腺濾胞が正常个体よりも小さい傾向が見られている。このことは、両生類特有の現象から得られる結果が、種間で保存される重要な器官形成制御分子機構の一つとなりうることも示している。

本研究では消化管ホルモンGIPが、摂食に依存する甲状腺濾胞形成に重要な役割を果たすことは示したものの、GIPがどのようにして甲状腺の細胞動態を変化させるのか、詳細な分子メカニズムについては同定に至っていない。また、GIP以外に器官間伝達物質として機能する物質が存在することも十分にありうる。実際、発生中の消化管にはGIP以外にも発現する消化管ホルモンが複数あることを遺伝子発現解析により確認している。これまでのところ、これらの受容体ブロッカーの効果も検証したが、GIPの阻害ほど明らかな影響を示すホルモンの発見には至っていない。これらの課題解決には、ホルモンの機能阻害を効果的に行えるホルモン受容体の遺伝子操作が有用であるが、これまでのところ、アフ

リカツメガエル幼生の甲状腺特異的な遺伝子操作法は確立されていない。本研究においても甲状腺を標的とした遺伝子ノックアウトは試みたが、ノックアウト効率を向上させる技術が新たに必要であることが課題となっている。今後、詳細な分子メカニズムを解明するために、遺伝子操作手法の開発に取り組む予定である。

消化管ホルモン以外の器官間伝達物質を探索するためには、甲状腺や消化管でどのような代謝経路が活性化されているかを明らかにすることも有用なヒントとなりうる。現在、アフリカツメガエル幼生の給餌群と非給餌群からそれぞれ甲状腺や消化管を単離し、メタボローム解析を行うことで器官形成の進行や休止に特徴的な代謝状態の同定を試みている。これにより、特定の栄養素や代謝産物が器官形成を制御する器官間伝達物質の候補として得られることが期待される。

器官形成における器官間伝達物質の機能を同定するには、それらに応じて変化する甲状腺や、その他の対象となる器官の細胞内動態を捉えることも重要である。細胞接着や細胞骨格、細胞外マトリックスは細胞の形態や運動を決定する細胞内/外分子であり、器官や組織の形態を制御することがよく知られる。興味深いことに、細胞外マトリックスや細胞接着分子が栄養に応答して振る舞いを変え、細胞内代謝や細胞運動を制御することが培養細胞研究等で知られている。本研究では、特定の細胞接着分子や細胞外マトリックスの発現量が給餌によって変化し、さらにその人為的な操作が甲状腺の形態を変化させることも見出している(未発表)。本研究で注目した甲状腺濾胞はFig. 1とFig. 2に示したように、内腔を持つ組織であるが、このような腔を持つ組織には内腔で生じる物理的な要因が細胞の振る舞いに影響を与えることも考えられる。今回、甲状腺濾胞の形成過程を3D画像解析により詳細に解析したことで、今後メカノバイオロジーの観点を含めた細胞生物学的な解析に発展する可能性もある。細胞接着分子や細胞骨格、細胞外マトリックスおよび内腔の物理的特性に対する栄養素やホルモンの役割や関係が明らかになれば、器官形態の新たな制御機構として意義がある。

今回、栄養環境を操作することにより、甲状腺の形成を制御する新たな機構を発見することができた。今後、器官形成期のアフリカツメガエル幼生に対し、

栄養以外の環境要因を操作することにより、新たな器官間伝達物質や、器官形成制御機構の発見につながることも期待される。例えば pH や温度など、既に初期発生に影響を与えることがわかっている環境因子が、器官形成にどのような影響を与えるのか、またそのメカニズムについてはほとんどが不明である。今後、前述した全身イメージングを行うことにより、甲状腺以外の器官が多様な環境因子に応答しうるのか検証し、器官ごとに感受性の高い環境因子があるのか解析することも可能である。近年、ディープラーニングによる画像解析により、3D 画像から行える形態解析が格段に進歩している。そのような新たな技術を取りこむことにより、今後も器官形成研究分野に貢献していきたい。

## 研究の発表

### 口頭発表

1. 進藤麻子 : Nutritional control of thyroid morphogenesis, The 3<sup>rd</sup> NINS-Princeton Joint Symposium, 2023 年 3 月
2. 進藤麻子: 甲状腺の形態形成を制御する全身性機構と細胞運動、第 128 回日本解剖学会総会、仙台、2023 年 3 月
3. 進藤麻子 : 栄養が制御する甲状腺形態形成と細

胞接着分子の役割、第 95 回日本生化学会大会、名古屋、2022 年 11 月

4. 進藤麻子 : 栄養環境に依存する器官形態形成、第 93 回日本動物学会、東京、2022 年 9 月
5. 進藤麻子 : Nutritional control of thyroid morphogenesis, 1<sup>st</sup> International Symposium jointly organized by JSDB and SDBS, 2022 年 5 月
6. 進藤麻子 : 組織形態形成に関わる生理活性物質と細胞骨格制御、第 44 回日本分子生物学会、横浜、2021 年 12 月
7. 進藤麻子 : 栄養摂取依存的な器官形態形成と細胞極性制御、第 94 回日本生化学会大会、オンライン、2021 年 11 月
8. 進藤麻子 : 器官形成における球体組織の構築と細胞極性、第 54 回日本発生生物学会、オンライン、2021 年 4 月

### 誌上発表

1. Takagishi M., Aleogo B.M., Okumura M., Ushida K., Yamada Y., Seino Y., Fujimura S., Nakashima K., Shindo A. Nutritional control of thyroid morphogenesis through gastrointestinal hormones. *Current Biology* 32(7): 1485–1496 (2022)