

Title	ホヤ変態開始におけるセカンドメッセンジャーの役割
Sub Title	Role of second messenger in the initiation of ascidian metamorphosis
Author	堀田, 耕司(Hotta, Kohji)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2022
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2021.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>背景)</p> <p>海産無脊椎動物の多くは成長の過程で変態し、体構造を劇的に変化させることにより生活様式を変える。しかしながら環境からのキューとなる刺激を、体内の変態シグナルへと変換する分子メカニズムはほとんどわかっていない。当研究室ではCiona intestinalistypeA (カタコウレイボヤ) の変態過程を解析し、付着器への機械刺激が変態の最初のステップである尾部退縮を開始させ、その際に必ず付着器で2度のCa2+濃度上昇が生じることを発見した (Wakaietal.,2021Proc.R.Soc. B) 。しかし、この2度のCa2+濃度上昇がどのように変態に関わっているのかは不明である。そこで今年度は2度のCa2+濃度上昇が生じる細胞の特定と、Ca2+濃度上昇後に生じる体幹部での細胞レベルの変化を明らかにすることを目的とした。</p> <p>結果)</p> <p>この2度のCa2+濃度上昇する細胞を特定するため、付着器を構成する感覚神経細胞または表皮細胞それぞれにCa2+センサーを発現する胚を作製した。付着器に機械刺激を与え変態を誘導したところ、神経細胞と付着器表皮細胞では1度のCa2+濃度上昇しか観察されなかったのに対し、付着器周辺の表皮細胞で2度のCa2+濃度上昇が見られた。2度のCa2+濃度上昇後、表皮の集団的後方移動と同時に、表皮を抜けて体外に溢出する細胞群を発見した。間充細胞にKaedeを発現させたところ、体外の細胞全てがKaedeで標識されていたことから、溢出細胞は間充細胞由来であることがわかった。溢出細胞は、幼生の体を包む薄い膜 (被嚢) 内を遊走していた。また、間充細胞は変態前に体幹部内を遊走していた。変態前の体内の遊走細胞と変態後に溢出した細胞をトラッキングし、三次元空間内で動きを比較したところ、溢出細胞は遊走細胞より約2倍の速度で直線的に遊走していた。</p> <p>結言と展望)</p> <p>2度のCa2+濃度上昇は、付着器感覚神経ではなく、周辺の表皮細胞で生じた。また、変態前に体幹部内を遊走する間充細胞は変態開始時に体外へ溢出した。今後は溢出能を有する間充細胞の細胞系列の特定、2度のCa2+濃度上昇や溢出細胞の変態開始時における役割、それら細胞の遺伝子発現変化を明らかにする。</p> <p>(Background)</p> <p>Many marine invertebrates undergo metamorphosis during development, changing their lifestyle by dramatically altering their body structure. However, the molecular mechanisms that translate environmental cues into internal metamorphic signals are largely unknown. We analyzed the metamorphosis process of Ciona intestinalis typeA (Ciona robusta) and found that mechanical stimulation of the papillae initiates tail retraction, the first step of metamorphosis, which is always accompanied by two increases in Ca2+ concentration in the papillae (Wakai et. al., 2021, Proc. R.Soc. B). However, it is unclear how these two increases in Ca2+ concentration are related to the metamorphosis. Therefore, this year's objective was to identify the cells in which the twice increases in Ca2+ concentration occur and to clarify the cellular level changes in the trunk that occur after the Ca2+ concentration increases.</p> <p>(Result)</p> <p>In order to identify the cells that are twice elevated in Ca2+ concentration, embryos expressing a Ca2+ sensor in each of the sensory neurons or epidermal cells of the papillae were generated by the gene electroporation method. Expression of Kaede in mesenchyme cells showed that all of the extravasated cells were labeled with Kaede, indicating that the extravasated cells were of mesenchyme origin. The overflowing cells migrated within the thin membrane surrounding the larval body. In addition, mesenchyme cells migrated within the trunk region prior to metamorphosis. Tracking of migrating cells in the body before and after metamorphosis and comparison of their movements in three-dimensional space revealed that the extravasated cells migrated linearly at about twice the speed of the migrating cells.</p> <p>(Conclusion and prospects)</p> <p>Two increases in Ca2 + concentration occurred in the epidermal cells surrounding the papilla, not in the papilla sensory neurons. In addition, mesenchymal cells migrated within the trunk region prior to metamorphosis and extravasated the body at the onset of metamorphosis. Future studies</p>

	will identify cell lines of mesenchymal cells capable of extravasation, the relationship between two Ca ²⁺ elevations and extravasation cells at the onset of metamorphosis, and changes in gene expression in these cells.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2021000003-20210072

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	理工学部	職名	准教授	補助額	500（特B）千円
	氏名	堀田 耕司	氏名（英語）	Kohji Hotta		
研究課題（日本語）						
ホヤ変態開始におけるセカンドメッセンジャーの役割						
研究課題（英訳）						
Role of Second Messenger in the Initiation of Ascidian Metamorphosis						
1. 研究成果実績の概要						
<p>背景）</p> <p>海産無脊椎動物の多くは成長の過程で変態し、体構造を劇的に変化させることにより生活様式を変える。しかしながら環境からのキューとなる刺激を、体内の変態シグナルへと変換する分子メカニズムはほとんどわかっていない。当研究室では <i>Ciona intestinalis</i> type A（カタウレイボヤ）の変態過程を解析し、付着器への機械刺激が変態の最初のステップである尾部退縮を開始させ、その際に必ず付着器で 2 度の Ca^{2+} 濃度上昇が生じることを発見した（Wakai et al., 2021 Proc. R. Soc. B）。しかし、この 2 度の Ca^{2+} 濃度上昇がどのように変態に関わっているのかは不明である。そこで今年度は 2 度の Ca^{2+} 濃度上昇が生じる細胞の特定と、Ca^{2+} 濃度上昇後に生じる体幹部での細胞レベルの変化を明らかにすることを目的とした。</p> <p>結果）</p> <p>この 2 度の Ca^{2+} 濃度上昇する細胞を特定するため、付着器を構成する感覚神経細胞または表皮細胞それぞれに Ca^{2+} センサーを発現する胚を作製した。付着器に機械刺激を与え変態を誘導したところ、神経細胞と付着器表皮細胞では 1 度の Ca^{2+} 濃度上昇しか観察されなかったのに対し、付着器周辺の表皮細胞で 2 度の Ca^{2+} 濃度上昇が見られた。2 度の Ca^{2+} 濃度上昇後、表皮の集団的後方移動と同時に、表皮を抜けて体外に溢出する細胞群を発見した。間充細胞に <i>Kaede</i> を発現させたところ、体外の細胞全てが <i>Kaede</i> で標識されていたことから、溢出細胞は間充細胞由来であることがわかった。溢出細胞は、幼生の体を包む薄い膜（被囊）内を遊走していた。また、間充細胞は変態前に体幹部内を遊走していた。変態前の体内の遊走細胞と変態後に溢出した細胞をトラッキングし、三次元空間内で動きを比較したところ、溢出細胞は遊走細胞より約 2 倍の速度で直線的に遊走していた。</p> <p>結言と展望）</p> <p>2 度の Ca^{2+} 濃度上昇は、付着器感覚神経ではなく、周辺の表皮細胞で生じた。また、変態前に体幹部内を遊走する間充細胞は変態開始時に体外へ溢出した。今後は溢出能を有する間充細胞の細胞系列の特定、2 度の Ca^{2+} 濃度上昇や溢出細胞の変態開始時における役割、それら細胞の遺伝子発現変化を明らかにする。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>(Background)</p> <p>Many marine invertebrates undergo metamorphosis during development, changing their lifestyle by dramatically altering their body structure. However, the molecular mechanisms that translate environmental cues into internal metamorphic signals are largely unknown. We analyzed the metamorphosis process of <i>Ciona intestinalis</i> type A (<i>Ciona robusta</i>) and found that mechanical stimulation of the papillae initiates tail retraction, the first step of metamorphosis, which is always accompanied by two increases in Ca^{2+} concentration in the papillae (Wakai et al., 2021, Proc. R. Soc. B). However, it is unclear how these two increases in Ca^{2+} concentration are related to the metamorphosis. Therefore, this year's objective was to identify the cells in which the twice increases in Ca^{2+} concentration occur and to clarify the cellular level changes in the trunk that occur after the Ca^{2+} concentration increases.</p> <p>(Result)</p> <p>In order to identify the cells that are twice elevated in Ca^{2+} concentration, embryos expressing a Ca^{2+} sensor in each of the sensory neurons or epidermal cells of the papillae were generated by the gene electroporation method. Expression of <i>Kaede</i> in mesenchyme cells showed that all of the extravasated cells were labeled with <i>Kaede</i>, indicating that the extravasated cells were of mesenchyme origin. The overflowing cells migrated within the thin membrane surrounding the larval body. In addition, mesenchyme cells migrated within the trunk region prior to metamorphosis. Tracking of migrating cells in the body before and after metamorphosis and comparison of their movements in three-dimensional space revealed that the extravasated cells migrated linearly at about twice the speed of the migrating cells.</p> <p>(Conclusion and prospects)</p> <p>Two increases in Ca^{2+} concentration occurred in the epidermal cells surrounding the papilla, not in the papilla sensory neurons. In addition, mesenchymal cells migrated within the trunk region prior to metamorphosis and extravasated the body at the onset of metamorphosis. Future studies will identify cell lines of mesenchymal cells capable of extravasation, the relationship between two Ca^{2+} elevations and extravasation cells at the onset of metamorphosis, and changes in gene expression in these cells.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
堀田耕司	イメージングによる脊索動物ホヤの発生・進化研究	北海道大学ニコイメージングセンター主催 第 8 回蛍光イメージングミニシンポジウム	2021/05/21			
堀田耕司	ホヤ幼生変態開始機構のイメージングによる定量解析	2021 年 日本ベントス学会・日本プランクトン学会「分野横断で挑む海洋幼生生態学」シンポジウム	2021/09/20			

Haruka Miyama Funakoshi, Takumi T. Shito, Kotaro Oka, Kohji HOTTA	Developmental Table and Three- dimensional Embryological Image Resource of the Ascidian <i>Ascidella</i> <i>aspersa</i>	Frontiers in Cell and Developmental Biology, section Morphogenesis and Patterning	2021/12
Koichi Matsuo, Ryota Tamura, Kohji Hotta, Mayu Okada, Akihisa Takeuchi, Yanlin Wu, Koh Hashimoto, Hidekazu Takano, Atsushi Momose, Atsuo Nishino	Bilaterally asymmetric helical myofibrils in ascidian tadpole larvae	Frontiers in Cell and Developmental Biology, section Morphogenesis and Patterning	2021/12