

Title	棘皮動物マナマコにおける造血器官の探索
Sub Title	Exploration of hematopoietic organs in sea cucumber, Apostichopus japonicus.
Author	田口, 瑞姫(Taguchi, Mizuki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	

2023年度 学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	文学部	職名	助教（有期）（自然科学）	補助額	300千円（A）
	氏名	田口 瑞姫	氏名（英語）	Mizuki Taguchi		
研究課題（日本語）						
棘皮動物マナモコにおける造血器官の探索						
研究課題（英訳）						
Exploration of hematopoietic organs in sea cucumber, Apostichopus japonicus.						
1. 研究成果実績の概要						
本研究では、造血器官に存在する幹細胞ニッチの特徴的な網目状構造および幹細胞の維持・分化のために発現調節されている造血関連転写因子群の組織発現に着目し、マナモコにおける造血器官を探索した。まず、マナモコの各組織（触手、食道、胃、大腸、筋肉、ポリリ嚢、呼吸樹）を4%パラホルムアミドで一晩固定し、Technovit8100樹脂に包埋後、厚さ3μm薄切した。ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を施した切片を明視野顕微鏡下で観察したところ、ポリリ嚢内部において網目状に分布する特徴的な細胞集団が観察された。HEの染色性から、この網目状の領域には明確な上皮構造が無く、均質な間葉系系列の細胞集団であることが予想された。これは哺乳類などにおいてニッチ構成細胞が形成するネットワーク構造に良く似ていた。また、触手、血洞、呼吸樹の管腔において、体腔細胞とみられる遊離細胞や複数の核がみられる凝集塊様の遊離細胞群が観察された。これらの管腔は分化細胞を全身へ運搬する経路である可能性が考えられる。 次に、哺乳類などで細胞分化に関わるとされている遺伝子群（ATF2、CEBPB、CEBPG、CTSL、EGR1、ETS1、FADD、RUNX1、XBP1）に着目し、マナモコ組織での発現解析を行った。分散分析とそれに続くTukey法による多重比較検定をおこなったところ、ポリリ嚢と比較して、体腔細胞およびポリリ嚢内細胞においてETS1の発現が有意に高いことが示された（$p < 0.001$）。哺乳類におけるETS1は、免疫細胞の終末分化を促進する一方で、骨芽細胞などの間葉系由来の細胞においても発現が確認されている。体腔細胞におけるETS1の高発現は、体腔細胞集団における分化の終末段階を反映していると考えられる。一方、間葉系系列の細胞集団であることが予想されるポリリ嚢内細胞においては、ETS1を高発現することで骨芽細胞ニッチ様の環境を形成している可能性が推測される。 今後は、ポリリ嚢内細胞が間葉系系列の細胞集団であるかを検証するために、ETS1および他の間葉系細胞マーカーを用いた切片in situ hybridizationを予定している。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
In this study, we explored hematopoietic organs in the sea cucumber, focusing on the characteristic network structure of the hematopoietic stem cell niches and the gene expression in tissues of transcription factors for stem cell maintenance and differentiation. First, each tissue (tentacles, esophagus, stomach, intestine, muscle, polian vesicle, and respiratory tree) was fixed overnight in 4% paraformamide at 4°C, then embedded in Technovit 8100 resin and thinly sectioned to 3 μm thickness. Hematoxylin and eosin-stained (HE) sections were observed under a bright-field microscope, revealing a cell population adhering in a characteristic reticulate pattern within the interior of the polian vesicle. Based on HE staining, this reticular region was devoid of distinct epithelial structures. These were expected to be a homogeneous mesenchymal lineage cell population. This structure was similar to the network structure formed by niche component cells in mammals. In the lumens of the tentacles, blood sinus, and respiratory tree, circulating cells resembling coelomocytes and aggregate-like cell clusters with multiple nuclei were observed. It is possible that these ducts are pathways for transporting differentiated cells throughout the body. Next, we analyzed the gene expression of hematopoiesis-related transcription factors (ATF2, CEBPB, CEBPG, CTSL, EGR1, ETS1, FADD, RUNX1, and XBP1) in various animal species. ETS1 shows significantly higher expression in coelomocytes and polian vesicle cells compared to polian vesicle ($p < 0.001$) by analysis of variance (ANOVA) and Tukey test for multiple comparison. In mammals, ETS1 promotes the terminal differentiation of immune cells, while its expression has also been found in mesenchymal cells, such as osteoblasts. The high expression of ETS1 in coelomocytes may reflect the terminal stage of differentiation in the cell population. On the other hand, in polian vesicle cells, which are expected to be a mesenchymal lineage cell population, high expression of ETS1 may create an osteoblast niche-like environment. In the future, we plan section in situ hybridization using ETS1 and other mesenchymal cell markers to verify whether the polian vesicle cells are a mesenchymal lineage.						
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）			