

オルガノイドおよびその共培養系を用いた化学物質の新規 in vitro 有害性評価手法の確立

一次線毛の分子基盤解析

研究分担者： 西村 有平 三重大学医学部 教授

研究要旨

一次線毛は細胞膜上の突起物で、細胞内シグナルのハブと認識されている。また、腫瘍細胞ではその発現が消失するなど各種生命現象への関与が報告されている。そこで、全身の線毛を可視化できるゼブラフィッシュを作製し、化学物質が一次線毛に与える影響の分子基盤解析へ応用することを目的とし検討を行った。ゼブラフィッシュのユビキチン遺伝子（ubb）のプロモーター遺伝子配列の下流に、線毛マーカーである Ar113b 遺伝子と eGFP 遺伝子のアミノ酸配列をコードしている領域を連結したコンストラクトを合成し、トランスポゾンを用いてゼブラフィッシュのゲノムに挿入した後、二光子励起顕微鏡を用いて、線毛の蛍光イメージング解析を行った。その結果、蛍光イメージングを用いて、ゼブラフィッシュの肝臓、尿細管、腸管、脳など、様々な組織における線毛の形態を観察することが可能であった。作製した線毛を可視化できるゼブラフィッシュを用いることで、化学物質の暴露による線毛の形態変化を、様々な組織を対象に観察することができると考えている。

A. 研究目的

全身の線毛を可視化できるゼブラフィッシュを作製し、化学物質が一次線毛に与える影響の分子基盤解析に応用すること。

B. 研究方法

ゼブラフィッシュのユビキチン遺伝子（ubb）のプロモーター遺伝子配列の下流に、線毛マーカーである Ar113b 遺伝子と eGFP 遺伝子のアミノ酸配列をコードしている領域を連結したコンストラクトを合成し、トランスポゾンを用いてゼブラフィッシュのゲノムに挿入した。二光子励起顕微鏡を用いて、線毛の蛍光イメージングを実施した。

C. 研究結果

蛍光イメージングを用いて、ゼブラフィッシュの肝臓、尿細管、腸管、脳など、様々な組織における線毛の形態を観察することができた。現在、肝臓と腎臓の発がん性があり、線毛への影響も報告されているオクラトキシンをゼブラフィッシュに曝露し、肝臓や腎臓の線毛の形態に与える影響を検討中である。

D. 考察

今年度に作製した線毛を可視化できるゼブラフィッシュを用いて、化学物質の曝露による線毛の形態変化を、様々な組織を対象に観察することができると考えられる。

E. 結論

化学物質の曝露による線毛の形態変化を、様々な組織において評価できるゼブラフィッシュを作製した。このゼブラフィッシュを用いて、化学物質が一次線毛に与える影響の分子基盤を解析し、オルガノイドやラットなどの化学発がんモデルにおける一次線毛の影響評価に有用な情報を提供しうると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Yamakawa D, Tsuboi J, Kasahara K, Matsuda C, Nishimura Y, Kodama T, Katayama N, Watanabe M, Inagaki M: **Cilia-mediated Insulin/Akt and ST2/JNK Signaling Pathways Regulate the Recovery of Muscle Injury**. *Adv Sci (Weinh)* 202202632 (2022)
- (2) Komada M, Nishimura Y: **Epigenetics and Neuroinflammation Associated With Neurodevelopmental Disorders: A Microglial Perspective**. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 10:852752 (2022)
- (3) Nishimura Y, Kurosawa K: **Analysis of Gene-Environment Interactions Related to Developmental Disorders**. *Frontiers in Pharmacology* 10:3389 (2022)

2. 学会発表

西村 有平 ゼブラフィッシュを用いた発達神経毒性評価の現状と課題 日本動物実験代替法学会第35回大会 2022年11月

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし