

貝殻をつくる細胞の発生運命は自律的に定まることを解明

軟体動物の貝殻をつくる細胞の発生運命（将来どのような組織になるか）について、緻密な割球単離培養の技術と遺伝子発現解析により検証しました。その結果、巻貝の貝殻をつくる細胞の発生運命は、これまで考えられていたような他の細胞系列からの誘導によらずに定まることが分かりました。

軟体動物では、アサリのような二枚貝やカタツムリのような巻貝のように、多様な貝殻の形が見られます。このような貝殻の形成プロセスを理解するためには、貝殻をつくる細胞が胚発生の過程で分化する仕組みを理解することが不可欠です。しかし、貝殻をつくる細胞の発生には多くの不明な点や矛盾する議論があり、実験的な検証が求められていました。

本研究では、巻貝の一種であるクサイロアオガイを使って、胚の発生過程で貝殻を作る細胞について詳しく調べました。まず、1細胞ごとのトランスクリプトーム解析と、遺伝子発現解析により、貝殻をつくる細胞が大きく3つのタイプに分けられることを明らかにしました。また、それぞれの細胞で働いている特徴的な遺伝子のグループを特定しました。さらに、将来貝殻をつくる細胞を形成する割球（受精卵が分割したもの）を、他の細胞から切り離した状態で培養したところ、上記の3つの細胞タイプの発生運命（将来どのような組織になるか）は、いずれも、他の細胞集団と接さずとも定まることが分かりました。貝殻をつくる細胞の運命は、従来の仮説では、内胚葉等の細胞との相互作用に依存すると考えられていましたが、本研究により、そうした相互作用を伴わずに特異化されることが明らかになりました。今後、貝殻をつくる細胞の発生運命が他の細胞系列との相互作用無しに決まる仕組みや、進化の過程におけるそれらの細胞の働き方の変化を明らかにし、軟体動物、ひいては動物が多様な形態を創出してきたプロセスの理解を目指します。

研究代表者

筑波大学生命環境系

守野 孔明 助教

研究の背景

貝殻は、豊かな形態の多様性を持ち、古くから装飾品などとして人々に親しまれてきた存在です。カタツムリのような渦巻いた独特の形や、体を完全に覆う二枚貝の一对の殻などはいずれも、軟体動物が貝殻をつくる外套膜という組織の働きで自ら作り出したものです。なぜ、これほど多様な形の貝殻が生まれるのでしょうか。

この問いに答えるには、貝殻形成細胞が発生過程でどのように分化するのか、その仕組みを理解する必要があります。これまでの研究から、貝殻形成に関わる細胞は、16 細胞期に形成される「第二カルテット」と呼ばれる割球（受精卵が分割したもの）の一部から生じることが分かっています（図 1 (1)）。この第二カルテット由来の細胞群は、幼生期の貝殻形成を担うだけでなく、後に成体の貝殻形成に機能する外套膜へと分化します。しかし、どのように貝殻形成細胞となるのかについては、多くの謎が残されていました。例えば、1952 年に Raven は、巻貝の一種の知見から、「原腸が背側の外胚葉に接することで、その背側外胚葉の細胞が貝殻形成細胞へと分化する（貝殻形成細胞の発生運命の特異化には、内胚葉など他の細胞群からの誘導が必要である）」という誘導仮説を提唱し、この仮説は広く受け入れられてきましたが、一方で、ある種では、内胚葉となる細胞をあらかじめ取り除いて飼育しても貝殻の形成が起こることや、原腸が背側の外胚葉に接する前から貝殻形成細胞の分化がすでに見られるといった、誘導仮説と矛盾する観察結果も報告されていました。そこで本研究では、微細な針を用いて第二カルテットだけを切り分ける緻密な割球単離培養の技術と、遺伝子発現解析手法を組み合わせ、この誘導仮説を実験的に検証しました。

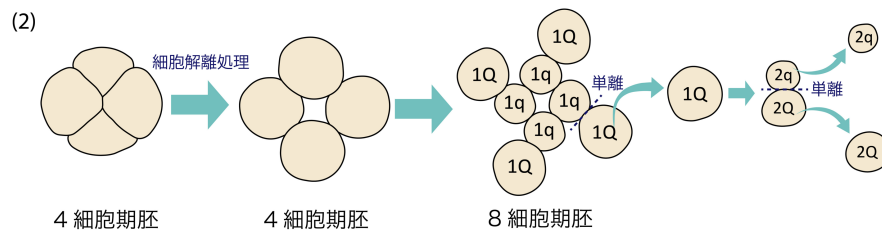
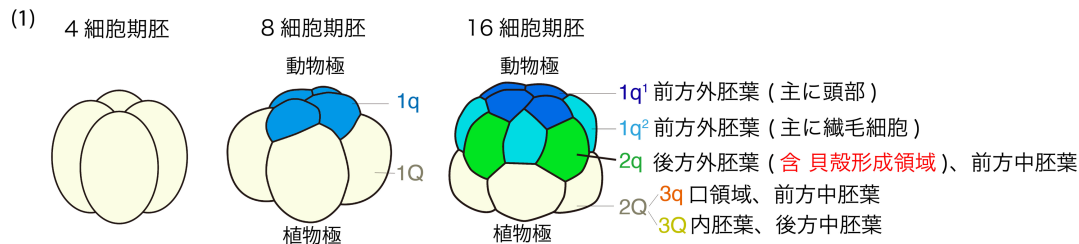
研究内容と成果

本研究では、巻貝の一種クサイロアオガイの貝殻形成領域を対象に、細胞集団の特性や分化の仕組みを解析しました。まず、1 細胞トランスクリプトーム解析^{注1)} および *in situ* hybridization 法^{注2)} を用いて、貝殻をつくる細胞で発現する遺伝子のレパートリーを調べました。その結果、発現する遺伝子の違いから、少なくとも 3 つの異なる細胞タイプから構成されることを明らかにしました。発現遺伝子の特徴から、これら 3 つの細胞タイプのうち、一つは貝殻の最外層を構成する有機膜の形成に関与し、残りの二つは貝殻の内層の形成に関与するであろうことが示唆されました。さらに、第二カルテット由来の細胞群を他の細胞群から切り離して培養した後に、貝殻形成に関わる遺伝子の発現を解析しました。その結果、単離培養された第二カルテット由来の細胞群から、前述の 3 つの細胞タイプすべてが発生することが示されました（図 1 (2)、(3)）。このことから、貝殻形成細胞としての発生運命は、従来広く受け入れられてきた誘導仮説とは異なり、他の細胞系列からの誘導がなくとも定まることが明らかになりました。

今後の展開

今後は、特定された 3 つの細胞タイプが、それぞれ幼生期の貝殻形成において実際にどのような役割を果たしているのか、また発生運命がどのようなメカニズムで決定されるのかを詳しく調べ、貝殻の発生過程での形づくりの仕組みを明らかにしていきます。さらに、巻貝以外の軟体動物の貝殻をつくる細胞と比較することで、現在みられる貝殻の多様な形態が進化の過程でどのように生じたのかを解明する予定です。本研究により得られた知見は、貝殻の形態進化を理解する上で重要な手がかりとなり、生物の多様性やその形成メカニズムの解明に大きく貢献すると期待されます。

参考図



貝殻形成細胞で発現する遺伝子群							2Q子孫細胞で 発現する遺伝子
(3)	<i>Hox1</i>	<i>Mist</i>	<i>Hox4</i>	<i>CS1</i>	<i>Tyr</i>	<i>Dpp</i>	<i>GATA4/5/6</i>
2q単離培養胚	 (17/18)	 (17/19)	 (18/18)	 (20/21)	 (12/17)	 (11/12)	 (0/10)
2Q単離培養胚	 (0/16)	 (0/18)	 (0/10)	 (0/17)	 (0/13)	 (0/7)	 (11/11)

図1 本研究の概要図

- (1) 軟体動物の4-16細胞期の割球の名称と、それらの典型的な発生運命。
- (2) 単離培養実験の概要。8細胞期の胚から、1Q割球を単離し、これが第二カルテット(2q)割球と大割球(2Q)に卵割した後、それぞれを単離して受精後9時間まで培養した。
- (3) 単離培養胚を用いた *in situ* hybridization 法による遺伝子発現解析の結果。数字は発現検出サンプル数/総観察サンプル数を示す。前述の3つの細胞タイプで発現する遺伝子群(*Hox1*, *Mist*, *Hox4*, *CS1*, *Tyr*, *Dpp*)を解析したところ、いずれの遺伝子も第二カルテット割球由来の胚で発現することを確認した。このことから、他の細胞系列との相互作用がなくとも、2q割球から貝殻形成に関わる3種類の細胞が生じることが分かった。

用語解説

注1) トランスクリプトーム解析

胚や細胞内で転写されている mRNA を網羅的に計測する解析手法。

注2) *in situ* hybridization 法

胚や組織において、特定の遺伝子の mRNA の局在を可視化する手法。

研究資金

本研究は、科研費による研究プロジェクト(18K14762, 23K05873, 18H04004)の一環として実施されました。

掲載論文

【題 名】 Characterization of shell field populations in gastropods and their autonomous specification mechanism independent of inter-quartet interactions.

(腹足類における貝殻形成細胞の特徴づけと、カルテット間相互作用に依存しない自律的な特異化機構)

【著 名】 Supanat Phuangphong*, Hiroki Yoshikawa*, Yune Kojima, Hiroshi Wada, Yoshiaki Morino

*共同筆頭著者

【掲載誌】 *Development*

【掲載日】 2025 年 4 月 4 日

【DOI】 10.1242/dev.204538

問合わせ先

【研究に関すること】

守野 孔明（もりの よしあき）

筑波大学 生命環境系 助教

URL: <https://sites.google.com/view/wada-lab-univ-tsukuba/home>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp