

動物発生学研究室 Laboratory of Embryology

教授 武田 洋幸

Prof. Hiroyuki Takeda, Ph. D.

1. 研究概要

動物発生学研究室では、小型魚類(ゼブラフィッシュ *Danio rerio* と メダカ *Oryzias latipes*)を用いて脊椎動物の初期発生過程における体軸形成および器官形成の機構を研究している。小型魚類は多数の突然変異体が存在し、遺伝子導入や胚操作が容易であるなど、発生遺伝学、実験発生学に適したモデル脊椎動物である。我々はゼブラフィッシュ胚、メダカ胚を用いて、初期発生過程で重要な働きを持つ遺伝子群の機構解析を進めている。現在注目している現象は、左右軸形成、耳石の形成、体節の分化などです。並行して、我々は、メダカゲノムプロジェクトおよびエピゲノム解析(発生と環境応答)を他の研究室と共同で推進してる。

2023 年 4 月に着任し、以下の 3 つの新規研究を開始した。

- ・シグナル分子の細胞外動態に注目した左右軸形成機構の解明
- ・*ha* 変異体を用いた耳石形成機構の解明
- ・体節由来細胞の種の進化的多様性の解明

2. 本年度の研究成果

上記の新規研究の成果はまだ得られていない。一方、これまでのゲノム、エピゲノム関係の研究をまとめて、成果を公表した。概略は以下である。

- ・初期胚リプログラミングにおけるヒストン修飾の動態の全貌解明: メダカ初期胚リプログラミング中で各種ヒストンの消長を定量的 ChIP-seq で解明した。特に、リプログラミング中でテロメアに残存し続ける H3K9me3 は、卵割中の細胞で染色体分離に必須であると報告した。
- ・栄養刺激の記憶候補の特定: メダカ初期成長期(ふ化直後)で高脂肪食投与による脂肪肝の誘発とコントロール食移行による脂肪肝解消過程で、肝臓での遺伝子発現、エピゲノムの変化を追跡した。その結果、栄養刺激によるクロマチン開閉状態やヒストン修飾の変化が長期間維持されているゲノム領域を複数見出した。
- ・母親の栄養環境の次世代へ影響を実験系の確立: 高脂肪食で飼育された母親から生まれる子孫の発生率が著しく低下することを見出し、その原因が卵黄成分や母体のホルモン環境の変化(卵巣を含む母体の機能低下)であることを突き止めた。

3. Research projects and annual reports

We have been studying the mechanisms of body axis formation and organogenesis using small fish, zebrafish (*Danio rerio*) and medaka (*Oryzias latipes*). Small fish are model vertebrates suitable for developmental genetics and experimental embryology because of the large number of mutants, and the ease of genetic and embryonic manipulation. Currently, we are focusing on left-right axis formation, somite differentiation, and otolith formation. We are also collaborating on the Medaka Genome Project to study the genome evolution of vertebrates, and on the epigenetic changes during development and in response to environmental stimuli.

I was appointed in April 2023 and began the following new research projects.

- ・Left-right asymmetry formation by secreted signaling proteins
- ・Mechanism of otolith formation using *ha* mutants
- ・Evolutionary diversity of somite-derived cell types

This year's accomplishments

The results of the above new projects have not yet been obtained. Instead, we have published the following results of our previous genomics and epigenomics-related studies in medaka fish.

1) A Complete picture of the dynamics of histone modifications during epigenetic reprogramming in medaka embryos

Epigenetic modifications undergo drastic erasure and reestablishment after fertilization. This reprogramming is required for proper embryonic development and cell differentiation. In mammals, some histone modifications are not completely reprogrammed and play critical roles in later development. In contrast, in nonmammalian vertebrates, most histone modifications are thought to be more intensively erased and reestablished by the stage of zygotic genome activation (ZGA). Our data revealed that H3K27ac, H3K27me3, and H3K9me3 escape complete reprogramming, whereas H3K4 methylation is completely erased during cleavage stage. Furthermore, we experimentally showed the functional roles of such retained modifications at early stages. For example, H3K9me3 is globally erased but specifically retained at telomeric regions, which is required for maintenance of genomic stability during the cleavage stage. These results expand the understanding of diversity and conservation of reprogramming in vertebrates, and unveil previously uncharacterized functions of histone modifications retained during epigenetic reprogramming.

2) Identifying candidate epigenetic memories for nutritional stimuli

The nutritional status during early life can have enduring effects on an animal's metabolism, although the mechanisms underlying these long-term effects are still unclear. Epigenetic modifications are considered a prime candidate mechanism for encoding early-life nutritional memories during this critical developmental period. However, the extent to which these epigenetic changes occur and persist over time remains uncertain, in part due to challenges associated with directly stimulating the fetus with specific nutrients in viviparous mammalian systems. Our data show that early-life HFD feeding triggers both reversible and persistent epigenetic changes in medaka hepatocytes. Our data provide novel insights into the epigenetic mechanism of nutritional programming and a comprehensive atlas of the long-term epigenetic state in an early-life HFD model of non-mammalian vertebrates.

3) Establishment of an experimental system to study the effects of maternal nutritional environment on the next generation

Maternal nutritional status can affect development and metabolic phenotypes of progeny in animals. The effects of maternal diet are thought to be mediated mainly by changes inside oocytes such as organelles, maternal RNAs, and metabolites. However, to what extent each factor contributes to offspring phenotypes remains uncertain, especially in viviparous mammalian systems, where factors other than oocytes, such as placenta and milk, need to be considered. Here, using the medaka fish as an oviparous vertebrate model, we examined whether maternal high-fat diet (mHFD) feeding affects offspring development and what kind of changes occur in the contents of mature eggs. We found that mHFD caused the high frequency of embryonic deformities of offspring, accompanied by downregulation of transcription- and translation-related genes and zygotic transcripts at the blastula stage. Our study presents a comprehensive data on the changes inside eggs in a mHFD model of nonmammalian vertebrates and provides insights into the mechanisms of parental nutritional effects on offspring.

4. 論文, 著書など

原著論文

(*: corresponding authors)

Inoue Y*, Fukushima M, Hirasawa G, Furukawa F, Takeda H*, Umatani C*. Maternal High-Fat Diet Affects the Contents of Eggs and Causes Abnormal Development in the Medaka Fish. *Endocrinology*. 2024 Jan 16;165(3):bqae006.

- Inoue Y., Suzuki Y., Kunishima Y., Washio T., Morishita S.*, Takeda H*. (2023). High-fat diet in early life triggers both reversible and persistent epigenetic changes in the medaka fish (*Oryzias latipes*). BMC Genomics, 24(1):472
- Liu S, Kawanishi T, Shimada A, Ikeda N, Yamane M, Takeda H*, Tasaki J*. Identification of an adverse outcome pathway (AOP) for chemical-induced craniofacial anomalies using the transgenic zebrafish model. Toxicol Sci. 2023 Oct 30;196(1):38-51.
- Fukushima HS, Takeda H*, Nakamura R* (2023). Incomplete erasure of histone marks during epigenetic reprogramming in medaka early development. Genome Research, 33(4): 572–586. (selected as the cover picture)

英文総説

- Fukushima HS, Takeda H, Nakamura R. Targeted Manipulation of Histone Modification in Medaka Embryos. Methods Mol Biol. 2023;2577:279-293.
- Inoue Y, Takeda H*. (2023). Teratorn and Its Related Elements – a Novel Group of Herpesviruses Widespread in Teleost Genomes. Zoological Science, 40(2):83-90.
- Inoue Y., Takeda H*. (2023). Teratorn and its relatives – a cross-point of distinct mobile elements, transposons and viruses. Frontiers in Veterinary Science, 10:1158023.

日本語解説記事

なし

5. 学会発表など

- 武田洋幸 “魚類(メダカ)を用いたエピジェネティック記憶の研究. シンポジウム「エピジェネティクス研究の新機軸～モデル動物からヒトまで～」、第 50 回日本毒性学会学術年会、横浜、2023 年 6 月 (口頭発表)
- 福嶋悠人, 中村遼平, 武田洋幸 “魚類初期発生においてリプログラミングを免れるヒストン修飾は正常発生に重要な役割を持つ”、第 16 回日本エピジェネティクス研究会年会 19–20 June 2023, Tokyo, Japan (ポスター発表)
- Takafumi Ikeda, Toru Kawanishi, Hiroyuki Takeda “Extracellular interplay of Nodal and Dand5 proteins during the left-right asymmetric pattern formation in the lateral plate mesoderm”, The 56th Annual Meeting of JSDB.2023 年 7 月. (口頭・ポスター発表) Young Investigator Paper Award (DGD 奨励賞)
- Takafumi Ikeda, Toru Kawanishi, Hiroyuki Takeda “Extracellular interplay of Nodal and Dand5 proteins during the left-right asymmetric pattern formation in the lateral plate mesoderm”, The 4th GfE-JSDB Young Scientist Exchange Meeting. 仙台、2023 年 7 月.(口頭発表)
- Ryohei Nakamura, Shinra Ikeda, Hiroto Fukushima and Hiroyuki Takeda Regulation and functional role of 3D chromatin structure during medaka embryogenesis.第29回小型魚類研究会 2023年 9月21日 埼玉大学(口頭発表)
- 福嶋悠人、池田貴史、池田森羅、武田洋幸 “非哺乳類脊椎動物のエピジェネティックリプログラミングにおいて細胞周期の長さがヘテロクロマチンの消去・再構成を制御する”、第 46 回日本分子生物学会年会 2023 年 12 月 神戸(ポスター発表)
- 福嶋悠人、武田洋幸:ヒストンアセチル化酵素 CBP/P300 による Zygotic genome activation 制御機構” 第 46 回日本分子生物学会年会 2023 年 12 月 神戸(ポスター発表)
- 池田森羅、中村遼平、武田洋幸 “メダカ初期胚におけるクロマチンループ構造の転写制御への寄与の解析”、第 46 回日本分子生物学会年会 2023 年 12 月 神戸(ポスター発表)
- 井上雄介、福島真夏、平澤郷、古川史也、武田洋幸、馬谷千恵“メダカ母体への高脂肪食投与が卵成熟および次世代個体の発生に与える影響の解析”、第 46 回日本分子生物学会年会 2023 年 12 月 神戸(ポスター発表)

6. その他特記事項

1) 外部資金

1) 外部資金

・AMED_CREST「全ライフコースを対象とした個体の機能低下機構の解明」領域

研究課題: 全ライフコースおよび次世代におよぶエピジェネティック記憶の研究

研究代表者: 武田洋幸 取得年度: 2018-2023 (6 年)

・科研費・基盤研究 (B)

研究課題: 魚類脂肪組織を対象とした栄養適応の発生生物学的解析

研究代表者: 武田洋幸 取得年度: 2023-2025 (3 年)

・共同研究 (理化学研究所)

脊椎動物の胚発生における体節組織の分化能の進化的変遷

研究代表者: 武田洋幸 取得年度: 2023 年

2) 学外活動

武田洋幸: 日本発生生物学会理事

武田洋幸: AMED-CREST「早期ライフステージにおける分子生命現象の解明」研究開発副総括 (PO)

武田洋幸: 日本学術会議・会員、第二部部長 (2023 年 9 月まで)

武田洋幸: 東京大学 エグゼクティブ・マネジメント・プログラム (EMP、社会人講座) 講師

3) アウトリーチ活動

なし