左右不對稱的奧秘
斑馬魚有解

台大動物學研究所
李士傑副教授

脊椎動物的外觀在體軸中線兩側可形成大致對稱的左右兩邊，而其體內之各種器官卻分佈在左右不同的位置，形成左右不對稱的兩側。左右不對稱性在胚發育早期就已形成，形成左右不對稱之時間及機制依動物種類而異。非洲爪蟾在幾個細胞時期，因特定基因表現之不同即造成細胞極性之差異，而導致胚左右兩側之不對稱發育，但如此早期的左右差異性卻尚未在其他動物被證實。小鼠及魚類在腔腸胚時期有一個過渡短暫存在的節點構造，此節點為一具空腔之囊泡，其腔內有絨毛，絨毛的擺動會造成腔內液體流動，導致左右兩側基因不對稱之表現，兩側胚板中胚層也因基因表現之不同而發育成不同之組織及器官。雖然我們對節點之功能已有相當程度之瞭解，但節點之形成及其調控機制所知並不多，其主要之原因乃因脊椎動物胚發育動態觀察之不易，而此點在斑馬魚發展成脊椎動物模式之後，已全然改觀!

斑馬魚為小型鯉科魚類，成魚約有一寸長，因其體側斑馬狀條紋而得名，成為水族觀賞魚之一種，深受愛魚者喜好(圖一)。斑馬魚為多產型魚類，其抱卵後分批成熟產卵。在良好飼養管理環境下，實驗室養殖斑馬魚每7-10天即可配種產卵一次，加上其體型小單位飼養隻數眾多，只要管理得宜，幾乎是每天可取得材料，進行發育生物學之研究! 再因其發育快速，於受精後24小時形成小魚，心臟開始跳動，其他各種器官於3-5日內逐漸形成，斑馬魚也因此成為器官生成研究之絕佳物種。同時其世代間距如小鼠般為3個月，但因其數目之優勢，已成為遺傳學研究之脊椎動物模式。

Fig. 1. Adult zebrafish. Male is on the left and femal is on the right.

斑馬魚胚也有類似節點之構造稱之為庫氏泡(圖二)，庫式泡乃在胚腔腸化時期由背部前緣一群細胞分化而形成具空腔之細胞群，腔內有如節點般之絨毛，亦可調節左右兩側不對稱之基因表現、組織和器官發育。如先前所述，節點形成之調節機制並不清楚，而庫氏泡之形成亦然。但先前之研究卻發現庫氏泡前驅細胞在胚腔腸化中後期細胞內鈣離子會明顯比胚內其他細胞來得高，若抑制其鈣離子之升高會導致庫氏泡形成缺陷。而在我們這一系列的研究當中，我實驗室的博士後研究員賴時磊博士率先證明了產生水解磷脂酸(LPA)之酵素自趨化素聚集於背部前驅細胞及其週遭，若抑制自趨化素之基因或酵素活性可造成背部前驅細胞胞內鈣離子無法升高、庫氏泡生成缺陷及左右兩側基因不對稱表現及組織和器官發育之異常。其中心臟受到之影響最為明顯，造成了心跳血液趨緩甚至停止(圖三)。

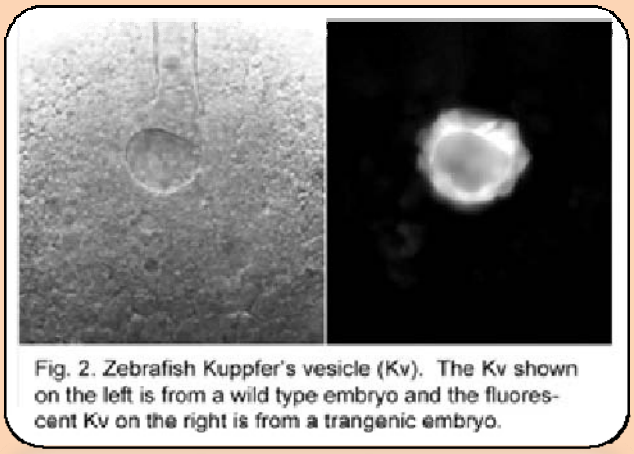

Fig. 2. Zebrafish Kuppfer's vesicle (Kv). The Kv shown on the left is from a wild type embryo and the fluorescent Kv on the right is from a trangenic embryo.

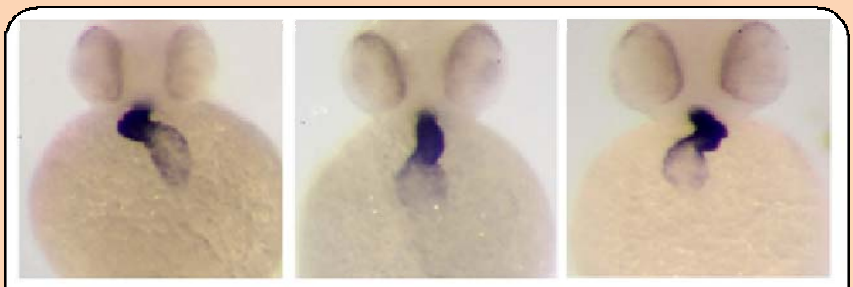

Fig. 3. The positions of heart tube (in blue) are randomized in the LPA signaling-inhibited zebrafish larva.

同時我們也發現了抑制第三號水解磷脂酸受體也產生與抑制自趨化素相同之缺陷!此等發現證實**LPA**訊息傳遞為庫式泡形成及左右不對稱性主要調節因子，此為水解磷脂酸研究全新之發現，先前**LPA**已知在腫瘤及神經發育重要調節因子，但其在早期胚發育過程之角色並不清楚。本實驗室先前研究證明**LPA**訊息為淋巴管生成所必需，在此研究中我們更進一步解析其在左右不對稱性及後續發育之重要性!

為提升本校在斑馬魚研究之能量，最近在生命科學院及系統生物學中心的支持下，建構了一個現代化的斑馬魚研究設施(圖四)，此設施將提供對使用斑馬魚有興趣之研究人員使用，若有興趣者請洽生科院李士傑老師(jefflee@ntu.edu.tw)。

Fig. 4. The zebrafish facility

參考文獻:

Lai, S.L., Yao, W.L., Tsao, K.C., Houben, A.J., Albers, H.M., Ovaa, H., Moolenaar, W.H., Lee, S.J., 2012. Autotaxin/Lpar3 signaling regulates Kupffer's vesicle formation and left-right asymmetry in zebrafish. Development 139, 4439-4448. (成果被選為當期唯一精選電影資料在期刊首頁播放!)

Lee, S.J., Chan, T.H., Chen, T.C., Liao, B.K., Hwang, P.P., Lee, H., 2008. LPA_1 is essential for lymphatic vessel development in zebrafish. FASEB J 22, 3706-3715.