



In Laboratory Now

研究室訪問 3

ホヤ胚発生の全貌を探る

西田研究室～生体システム専攻



西田 宏記 助教授



発生運命とは何か？

受精卵から個体が形成される過程を写真などで見た人は多いだろう。1個の細胞が2個、4個と分割し、やがて成体の形が現れてくる。しかし、発生の過程はそうした我々のイメージほど単純ではない。少し考えると、細胞が単調に分裂を繰り返すだけでは単なる細胞の塊となり、個体として成長することは有り得ないことに気付く。では、生物が発生するためにはどのような要素が関わっているのだろうか。

ヒトの身体は200種類程の異なる機能を持つ細胞から成る。これらの細胞があるシステムに従つて分化させ、それぞれの体内器官を構成することで個体が成立しているわけだ。さらに、これらの細胞を適切に配置し、身体の形状を決めるシステムも必要になる。これらの仕組みは生物間で共通しているのか、そうであるとすればそのシステムはどのようなものか。こうした疑問への答えを探る学問が発生学である。そして、その研究材料として注目を集めているのがホヤという動物だ。

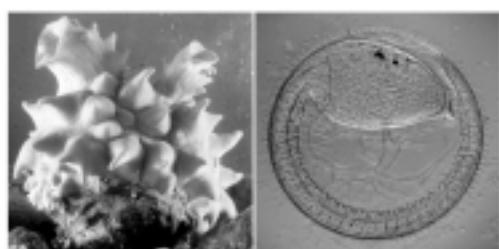
ホヤ（マボヤ）は東北地方などの海底に固着する原索動物（脊索動物の一亜門）の一種だ。成体は10cm程度で、弾力性のある表皮をもつ（写

ひとつの生物が展開する生命現象をその生涯を通じて観察するとき、ただ一個の受精卵から個体が造られる過程、すなわち発生は最もドラマチックな場面といえるだろう。

近代生物学は前世紀までに著しい発展を遂げたが、その複雑さ故に理解しがたく、神秘的な印象さえ与えてきた領域がある。進化論、脳、そして発生などの分野だ。しかし、遺伝子研究の進展によって状況は変わりつつある。分子生物学の手法を特定生物の発生に即して展開し、発生の全容解明に取り組んでいるのが西田研究室である。

真）。一見したところ軟体動物とも思われるが、幼生は両生類のオタマジャクシによく似ていて、脊索動物門の生物に共通する脊索が通っている。このため、原始的な脊椎動物の形態を現在も保持している動物だと考えられている。一般的な脊椎動物と異なり、有性と無性の両方で生殖を行うなど、生態的な面も興味深い生物だ。

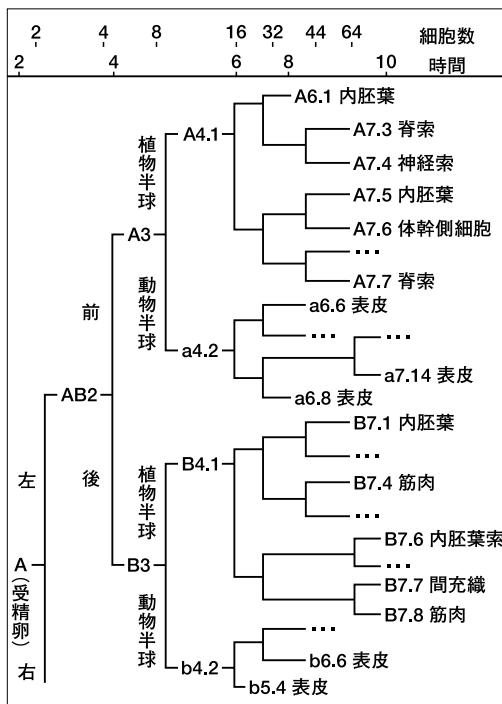
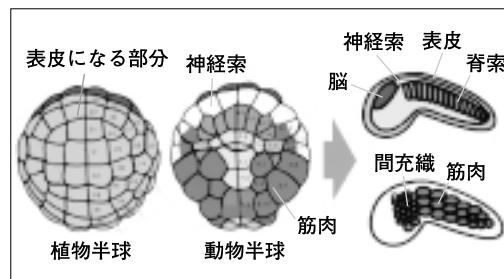
このホヤには発生学の素材として面白い特徴が二つある。一つ目は、我々ヒトを含む脊椎動物と分類学的に近縁であるということだ。ホヤは脊椎動物の体の基本的な要素を備えているため、より高等な脊椎動物の発生を考える上の基礎になりう



ホヤの成体（左）と孵化前の幼生（右）

る。しかも、幼生の細胞数（約2600）は両生類のそれに比べ圧倒的に少ない。この単純さを利用して、全ての細胞について発生・分化の仕組みを解明できる可能性が示されている。

もう一つの特徴は胚が発生する仕組みに関するもので、受精卵が典型的なモザイク卵であることだ。モザイク卵とは、受精卵の段階で卵のどの部分がどの器官に分化するか（これを発生運命という）が決まっている卵のことだ。代表的なところ



では貝類や線虫の胚細胞もモザイク卵として知られている。こうした生物の発生では、ある時期の胚におけるある一つの細胞が将来どの器官に分化するかを予測することが可能だ（図1）。このため、発生と分化のメカニズムの解明を行いやすいという利点がある（ちなみに2002年のノーベル医学賞は線虫の発生運命に関する研究に与えられた）。この性質から、ホヤ胚の細胞は全て数回の分裂を重ねた後に発生運命が確定する。しかも、その現れ方に個体差が全く無いため、各細胞の運命を枝分かれする発生系図として表すことができる（図2）。

西田先生は京都大学の大学院生時代にホヤの胚発生に興味を持ち、1905年から断続的に作成が続けられていたホヤ胚の発生系図の完成を目指して、4年がかりで全細胞の発生運命を特定して発生系譜図に書き込み発表した。これにより孵化までの期間とはいえ、全細胞の発生運命を確定できる生物の存在が示された。これは全生物のなかで線虫に続く2例目の成果であり、系図は現在でもホヤ研究者の間で広く用いられている。



次に西田先生が向かったのは、発生運命を決定するメカニズムの解明である。1980年代当時、ネズミの筋肉細胞から検出されたある遺伝子の研究が学界の話題をさらっていた。マイオDと名付けられたその遺伝子を強制的にオン（タンパク質を合成する状態）にするだけで他種の細胞を筋肉細胞に変えることができるという衝撃的な発見だ。

ここで遺伝子のオンという言葉について説明しておくと、DNA上の遺伝子は制御領域と呼ばれる部位を持ち、ここに特定のタンパク質が結合す

ることでその遺伝子の活動がオンになる。マイオD遺伝子がオンになると、マイオDタンパク質という物質が合成される。この物質が筋肉細胞を構成するアクチン・ミオシンタンパク質の合成遺伝子と結合し、同遺伝子の働きがオンになり筋肉合成、という連鎖的反応によって筋肉細胞分化を起こしていることが1987年に明らかにされた。現在ではヒトやホヤを含む広範な動物がこのマイオD遺伝子を持つことが確かめられている。

では、なぜ筋肉になる細胞だけでマイオD遺伝

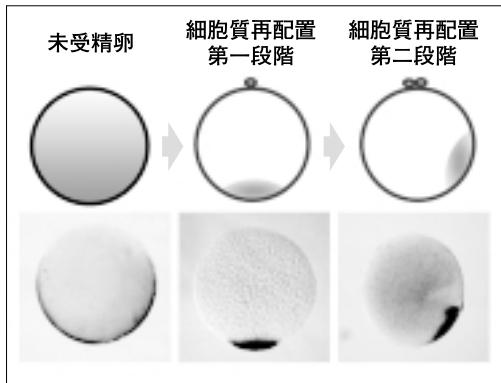


図3 上：細胞質移植による筋肉決定因子の分布
下：検出された macho-1 の分布

子が働くのか。そこには、DNAの働きを決定づける物質的な要因が必要だ。この要因のことを決定因子と呼んでいるが、この因子の出所は大きく二つ考えられる。細胞内にあらかじめ存在するか、他細胞が放出した物質を受け取るかだ。

筋肉分化の原因を解明するためには、決定因子の源とその物質的な正体を突き止める必要があった。ところが、ヒトなどの高等生物では発生運命決定のプロセスは非常に複雑であろうと考えられており、しかも生命活動にかかわる物質は非常に多いので、決定因子の特定を行うことはとても困

難だろうと予想される。そこで、発生運命決定のメカニズムが単純なホヤが注目されてきた。

ホヤ胚の各細胞は予め発生運命が定められている。つまり、機能分化を基本的に個々の細胞が自律的に行う。実際、後に述べる例外を除いて分化の決定因子はそれぞれの胚細胞の細胞質内に存在することが分かっている。例えば将来皮膚組織となるべき細胞に将来筋肉となる細胞の細胞質を注入すると、その細胞は筋肉細胞となる。また、分裂前の受精卵のなかで将来分裂して筋肉細胞となる部分の細胞質を移植しても同じ結果となる。

これらの胚細胞は同じ受精卵から分裂してできたものである。ここから考えられることは、受精卵の細胞質の成分が場所によって偏りを持ち、その偏った成分こそが細胞の分化に関わっているのではないかということだ。

西田研究室では未受精卵・受精卵・8細胞期の胚細胞質について細胞質移植実験を繰り返し、ホヤ胚細胞のかなりの部分が細胞質内の決定因子により発生運命を決定していることを確かめた。卵細胞質内の筋肉決定因子の偏りを示したのが図3である。受精後に成分の偏りが大きくなるのは、微小管という細胞内構造の働きによって細胞質が区分けされるためだ。このモデルでホヤ胚の分裂の仕方と発生運命を説明出来るようになった。



決定因子 macho-1 の発見

こうして大まかな胚発生の仕組みを知ることができたが、肝心の発生運命決定因子の正体は長らく不明だった。京大、東工大などを中心とした研究競争の末に、西田研究室が筋肉決定因子の分子的実体を突き止めることに成功し「macho (マッショ) -1 mRNA」と名付けNature誌に発表したのが2001年初頭のことである。

発見の流れを簡単に説明しよう。受精卵の細胞質中には、DNAからつくられた多種のmRNAが含まれ、成長に大きな影響を及ぼすことが知られている。西田研究室は、ある実験事実からmRNAを筋肉決定因子の候補と考え、サブトラクション・ハイブリダイゼーション法とよばれる手法を用いて細胞質中mRNAの分離・同定を行った。

サブストラクションとは引き算のことで、実際の手法は非常に複雑であるが、原理は簡単であ

る。筋肉決定因子は胚の下側部分にのみ存在する事が確かめられていたので、胚の上半分と下半分を切り離しそれぞれを大量に集めてくる。これを用いて、胚の下側に存在するが、上側には存在しないmRNAのみを濃縮してくる。そして、この方法で得られたRNAの中で、卵細胞質移植による筋肉決定因子の分布とよく一致する物質がmacho-1 mRNAとして発見された。

そこで、macho-1に対応したアンチセンスDNAオリゴマー（特定のmRNAを破壊するための物質）を合成し、未受精卵中のmacho-1 mRNAを破壊したのち発生させたところ、孵化した幼生の筋肉が消失していることが分かった。

この発見の意義は、体組織分化の大元に位置する物質の分子的実体を明らかにしたところにある。初期胚の筋肉組織に限るとはいえ、マボヤの

発生という現象を遺伝子で記述する試みに大きな一步を記したといえる。

ちなみに、*macho-1*という名前は「マボヤのチ

ヨーおもしろい」遺伝子という意味を込めて命名したとのことだ。



ホヤ生物学の大きな展開

西田研究室の大きな特徴は、西田先生の表現を借りれば「狭く深くではなく、広く浅く」研究を進める方向性だという。広く浅くというのは、特定の組織を集中的に研究する方向をとらず、発生の大本となる枠組み（細胞分化が起こる仕組み等）を知ろうというものだ。例えば筋肉組織の発生を遺伝子レベルで完全に決定しようと思えば、膨大な遺伝子の関連を明らかにしなければならないが、そういう方向をとらずに一匹の発生をトータルに解明しようとしている。一例をあげれば、内胚葉や表皮といった胚組織も同様の分化決定因子を持っていると考えられるが、その分子的実体を明らかにすることでホヤ発生の全体像がさらに見通し良くなるだろうと考えている。

もう一つ重要な課題がある。今まで紹介した卵細胞質中の決定因子というアイデアは発生運命決定の仕組みとしては簡単なものだが、単純なホヤ胚でも神経系や感覚器の分化については説明できないことがわかっている。

すべての脊索動物は、脊索と中枢神経系の分化に周囲の細胞の誘導を要することが知られている。誘導とは、物質を放出する細胞とその物質に対する応答能を持った細胞が接触することで外部から運命決定がなされ、分化をする仕組みのことだ。ホヤ胚でも一部の組織形成がこの機構に従っていることは、脊索となるべき部分を発生の初期（32細胞期）以前に取り出して培養しても脊索に分化しないという事実から明らかになった。もっとも、ホヤの場合は発生系譜図が個体によらず一定だから、誘導でも自律的分化でもその結果が根本的な違いになって表れることがないのだが、実は多くの脊索動物がホヤと共に連関遺伝子を持

ち、ほぼ同じ過程を辿る。このためホヤを使った誘導の研究が脊索動物全般の発生に光を当てることが期待できる。この反応の鍵となる物質は、誘導細胞から放出されるFGFというタンパク質と考えられ、多方面の研究者が遺伝子や反応過程に関する研究を進めている。

このように、西田研の研究姿勢には常に、発生の普遍的原理を解明してホヤという生物の全体像を描きたいという動機が表れているようだ。今後の研究について、大きく二つの方向性を考えていると先生は語る。第一に、一個体をまるごと相手にすることで発生にかかる沢山の重要な物質が現れてきたので、遺伝子との対応関係を詳しく追究する。もう一方ではさらに展開を広げ、複雑なパターンを視野に入れて発生原理の研究を続ける。例えば中枢神経系になる細胞に*macho-1*を注入すると筋肉になる。ところが、直後にFGFを加えると間充織に転化するのだ。このように誘導がかかわる事例には不可解な点が多く、概念的に面白いものを感じると先生はいう。

発生学のなかでホヤ研究の歴史は比較的古いが、日本を中心とした本格的研究が始まり数年来活況を呈している。一方、発生に関わる遺伝子が次々と発見され、それらに基づいた原理・法則が解明され始めたのもここ20年ほどのことである。技術革新を含む環境の向上が、筋肉発生因子の発見という成果を生み出したと言えそうだ。

取材の最後に、研究に対する心構えについて質問したところ、西田先生は「最先端で研究をするとき、専門となる対象だけに固執していくは続かない。周辺分野の研究成果を見聞しながら興味を持続させることが重要だ」と語った。

発生という複雑な現象を、丸ごと遺伝子の言葉で記述する 発生学にとって究極とも言える壮大な目標だ。西田先生はこの目標を念頭に、実験と理論の両面から解明を試みている。

最後になりましたが、お忙しいなか快く取材に応じて下さった西田先生にお礼を申し上げると共に、西田研究室の更なる発展をお祈り致します。

（村松 雅弘）