

特別寄稿

両生類の新しい原腸形成モデル

JT生命誌研究館・主任研究員
 大阪大学大学院・招聘教授
 橋本主税

1. 両生類の原腸形成は、三胚葉形成・神経誘導・三体軸の確立が行なわれる重要な過程である。現在考えられている両生類の原腸形成（図1）では胞胚の背側帯域に形成された原口から外部の細胞層が胚の内部に潜り込み、動物極に向かって外胚葉（胞胚腔屋根）を裏打ちするようにさかのぼって中軸中胚葉（脊索）を形成する。中軸中胚葉は、裏打ちする胞胚腔屋根を、己が持つ位置情報をもとに頭尾軸に沿って領域化された神経に誘導すると考えられている。特に初期原腸胚の原口背唇部は、腹側領域に移植する事で頭部構造の形成を誘導することから頭部オーガナイザーとよばれる。このモデルによると、初期原腸胚の動物極側に将来の頭部が、植物極側に尾部が形成される事となる。

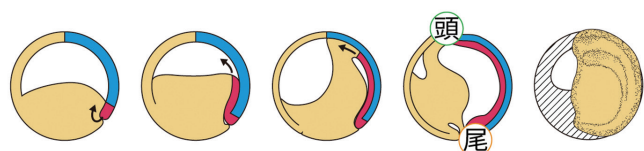


図1, 現在信じられている両生類の原腸形成モデルオーガナイザー（赤）は原口から内部へと潜り込み、裏打ちする外胚葉（青）を神経へと誘導しながら原口背唇部を先頭に動物極方向へとさかのぼる。

2. 我々は、両生類の原腸形成過程に関してまったく新しいモデルを提唱している（図2）。簡単に説明すると、頭部オーガナイザーと予定頭部神経は胞胚腔屋根に並列しており、その後の組織運動によって赤道領域で互いに接する。原腸形成過程を通じて両組織はズレる事なく接触し続けて将来の頭部となり、体軸は尾部方向へと伸長する。したがって、神経を含む背側構造は植物半球に形成され動物半球は腹部となる。

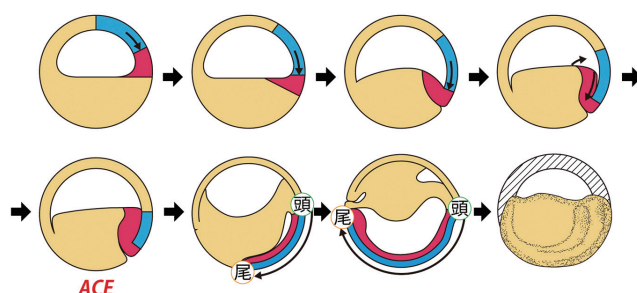


図2, 両生類の原腸形成の新しいモデル
 本稿では、オーガナイザーと予定神経が物理的に接した瞬間の時期を便宜上ACE（Anterior Contact Establishment）と呼ぶことにする。詳細は割愛するが、ACEの時期は胞胚腔屋根の内側を染めることによって正確に把握できる。

図3にACEの時期の胚を正中線で半分に分った形態を示す。オーガナイザー（内部組織）と予定神経（外層）との間に「ブラシェーの裂け目」と呼ばれる間隙が確認できる。ACE胚で、頭部オーガナイザーは「ブラシェーの裂け目」を介して頭部神経を直接的に誘導すると考えられる。

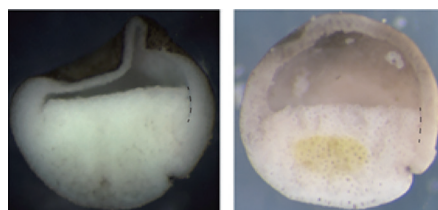


図3, ACEの時期の胚を正中線で半分に分った形態原口の上部にブラシェーの裂け目が見られる（破線部分）。胞胚腔の床は水平で、組織のさかのぼりがまったく起こっていない事が見て取れる。左：ツメガエル, 右：トノサマガエル。

3. それではこれから、この新しいモデルの正当性を実験的に検証してみよう。オーガナイザー特異的マーカー遺伝子として知られるコーディンの発現領域を指標にすれば、オーガナイザーがどこに生じ、どのように動くのかについて詳細に見る事ができる。図4に示すように、オーガナイザーは胞胚期に

胞胚腔屋根に生じ (図 4 A), 胞胚腔床へと移動する (図 4 B)。その後, 予定神経 (屋根) はオーガナイザー (床) と間にV字型の谷 (図 4 C) を生じながら植物極側に下り, 谷底からジッパーを閉じるように (図 4 C-D) 両者は接することでACEとなる (図 4 E) に見える。

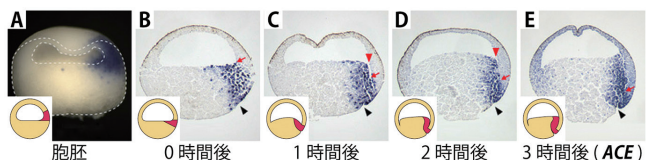


図 4, ツメガエル胚でのコーディン遺伝子の発現
胞胚腔底部に位置するオーガナイザーが胞胚腔屋根にある予定神経領域と徐々に接していく。黒矢尻は原口。

ここで, 原口が出現した瞬間 (すなわちACE以前) の原腸胚の胞胚腔床の背側領域にビーズを置いて発生させてみた。現行のモデルが正しければ, 置かれたビーズは胞胚腔内腔に残るはずであるが, 結果は, 新しいモデルで予想されるようにビーズは赤道領域でオーガナイザーと予定神経の間に挟まった (図 5)。このまま発生を続けると, ビーズは将来の頭部領域に観察される事から, ACE胚での原口上部赤道領域がすでに頭部である事が分かる (図 8, 後述)。

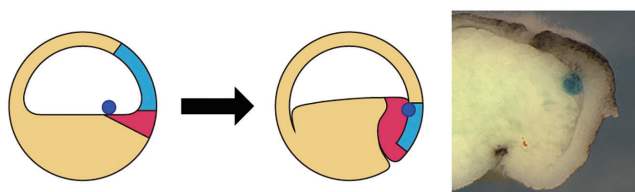


図 5, オーガナイザーが胞胚腔内腔にある事を示す実験
初期原腸胚 (ACE成立前) の胞胚腔床にビーズを置いたところ, ブラシエーの裂け目にビーズが挟まった。頭部オーガナイザーと頭部神経はブラシエーの裂け目を介して赤道領域で接するので, 頭部オーガナイザーは原口背唇部 (外表面) にあるのではなく, 胞胚腔の内腔に面している事がわかる。現行モデルのようにオーガナイザーのさかのほりで神経と接するとしたら, 胞胚腔床におかれたビーズは胞胚腔内腔へと追いやられブラシエーの裂け目に挟まる事はあり得ない。

また, このモデルが正しければ, 胞胚腔床の背側領域が頭部オーガナイザーとして機能しているはずであるが, 実際にこの領域を移植したときに原口背唇部と同程度の頭部誘導活性を有していた (図 6)。逆に, 原口背唇部を切除した胚が正常に頭部

形成を行なえることから, 原口背唇部が頭部形成に必要なではない事も分かる。

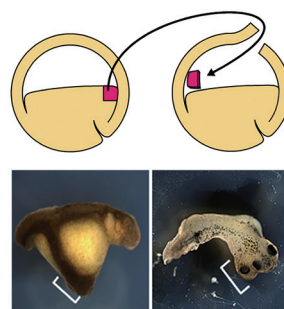


図 6, 胞胚腔床の組織はオーガナイザーである
「胞胚腔床」の組織を腹側に移植したところ, 完全な頭部を含む二次体軸が誘導された。左: イモリ, 右: ツメガエル

4. さて, 現行のモデルでは, 胞胚腔屋根の動物極周辺に将来の頭部を形成するはずであるが, 新しいモデルによると, ACE胚の胞胚腔屋根は将来の腹側上皮になるのみで背側構造の形成には関与しない事が予想されるため, ACE胚から胞胚腔屋根を除去しても完全な頭部を持つ背側構造が形成されるはずである。実際に, 図 3 に示されたようなACE胚の胞胚腔屋根を切除してみたところ神経は頭部先端まで形成され, 尾部の形成も完全に行なわれている事が示された。さらに, 胞胚腔屋根の除去によって欠失するのは, モデル図から予想されるとおり腹側表皮の一部分のみであった (図 7)。

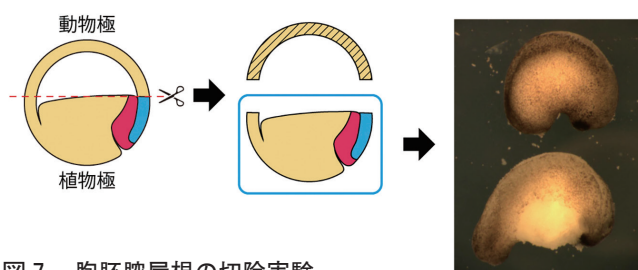


図 7, 胞胚腔屋根の切除実験
ACE時に胞胚腔屋根を切除し尾芽胚まで発生させた。正常胚 (上) に比べ胞胚腔屋根を切除し尾芽胚まで発生させた胚 (下) では, 腹側表皮に欠損が見られるものの, 神経組織の最前方部に位置するセメント腺や眼胞が形成され, 完全な頭部形成が行なわれている。

我々のモデルによると, 頭部と尾部は初期原腸胚の赤道周辺に, 背側は植物半球にできるはずである。しかし正常発生を見てみると原腸形成が完了した時点で頭部は動物極にある。この矛盾は原腸形成運動に伴う重心の変化で説明がつく。すなわち, 後期原腸胚の形状を見ると卵黄を多く含む重い内胚葉組織は動物半球へと押しやられている。その結果として球体の胚は重心を下に向けるように転がり, 結

果として頭部を動物極に向けたに過ぎないと考えられる。実際に、重心の移動で転がらないように胚の周囲をゼラチンで固めて発生を進めると、背側構造は植物半球に、腹側構造は動物半球に形成される。

5. このモデルが意味するところは、頭部神経と頭部オーガナイザーが胞胚腔の内表面で互いに接することであり、少なくとも頭部オーガナイザーは初期原腸胚の外表面には位置しない事である。フォークトは胞胚の外表面を標識し各領域の予定運命を探ったが、もし頭部オーガナイザーと予定頭部神経が互いに内腔で接するとすれば、この接触面はフォークトの染色法では標識されない。興味深い事に、フォークトの結果をみると、尾芽胚の頭部領域に染色されていない中軸中胚葉が存在する(図8 A, 5と6の間)。おそらくこの領域が、初期原腸胚の胞胚腔床にあるオーガナイザーに相当するのだろう。図5の実験で「ブラシェーの裂け目」にビーズを挟んだ胚を尾芽胚まで育てると、フォークトの実験で染色されない領域にビーズは挟まれることがわかる(図8 B, C)。

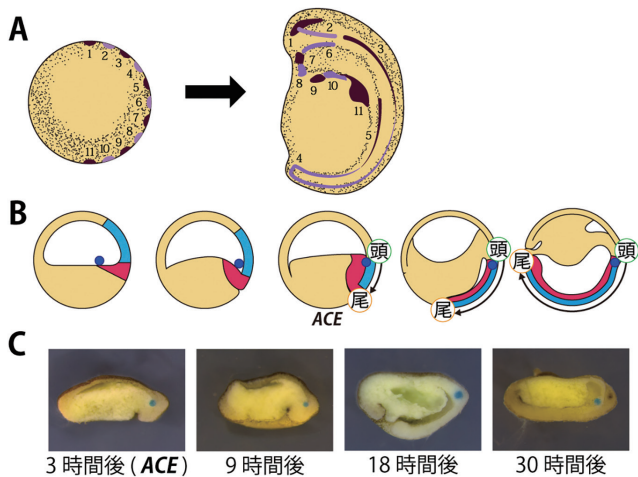


図8, (A) フォークトの標識実験
前方部の中軸組織(5と6の間)に標識されない領域が存在する。(B, C) 図5の実験でビーズを挟んだ胚をそのまま発生させた模式図とその結果。

6. 脊椎動物における原腸形成運動は背側体軸を形成すると考えられているので、次に、両生類の初期原腸胚(ACE胚)のどの領域があれば背側構造の形成に十分なのか検証した。図7に示した通り、胞胚腔屋根を除去しただけの胚では腹側表皮のごく一部が欠失するに過ぎない。したがって、背側構造を

形成する領域はさらに狭める事ができそうである。まず、最外層の最小領域を決定するために更なる切除実験を行なった。ACE胚の胞胚腔屋根を切除した後に植物半球を上向きにおいて、原口の両端を結ぶ直線に対して45°の角度で伸ばした直線で仕切られた台形の領域のみを残して発生を進めたところ、完全な背側構造の形成が可能であった(図9 A)。次に内部領域

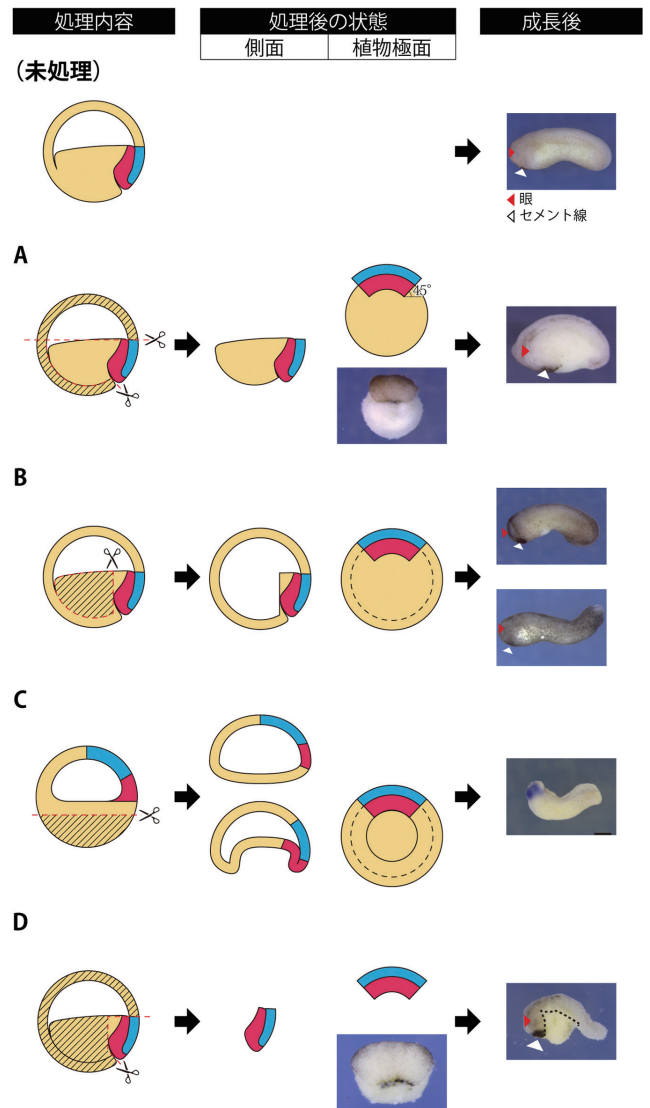


図9, 両生類の背側構造を形成する最小領域未処理胚においてオーガナイザー領域を赤で、予定神経領域を青で示す。また尾芽胚まで発生が進んだ際に眼の膨らみ(赤矢尻)とセメント腺(白矢尻)や尾芽が観察される。(A):ACE胚の胞胚腔屋根を切除し、さらに原口の両端から45°の角度で植物極の表層の3/4を切り取って育てた結果、腹側と側方の表皮を欠くが、セメント腺や眼の膨らみ・尾部構造を有する完全な背側構造が形成された。(B):ACE胚の内部組織を正中面で4等分した腹側3/4に相当する領域を切除して育てた胚でも、腹部は痩せてはいるものの完全な背側構造を形成した。(C):ACEに至る以

前の胞胚においてはオーガナイザーと予定神経領域は胞胚腔の屋根の部分にある。この時期に植物半球を切除したところ、かなり小さいが完全な頭部やセメント腺と、尾部構造も形成された胚が形成された。頭部の青い染色は前脳と網膜特異的遺伝子 (pax 6) の発現を示す。(D) : (B) で必須であった表層と (C) で必須であった内部組織のみを切り出して培養した。この領域は「少し大きめに切り取ったオーガナイザー」程度の大きさしかないが、セメント腺と眼の膨らみや尾部構造を持つ背側構造が形成された。

を段階的に切り取って見たところ、ACE胚の植物半球の大半が切除可能であり、神経外胚葉層を裏打ちするオーガナイザー組織のみで背側構造の形成には十分であった (図9B)。このふたつの欠失実験において両生類の背側構造形成に必要であった領域は、神経外胚葉層 (青で示された領域) とそれを裏打ちするオーガナイザー組織 (赤で示された領域) のみである。ACE胚においてふたつの組織は互いに接しているが、胞胚を見るとこれらの組織は胞胚腔屋根でタンデムに並んでいる事が分かる (図7)。実際に胞胚の植物半球を完全に除去した胚を育てたところ、完全な背側構造をもつ胚を生じた (図9C)。最終的に、神経外胚葉とそれを裏打ちするオーガナイザー組織のみ (オーガナイザーの移植実験においてオーガナイザーを少し大きめに切り取った程度の大きさ) を切り出して発生をさせたところ、完全な頭部と尾部を有する胚を形成する事ができた (図9D)。

7. ここまで見てきて、現行の原腸形成モデルでは説明できないさまざまな事実が明らかとなり、それらを満足する我々のモデルの妥当性が示されたと思う。爬虫類や鳥類の胚体は、巨大な卵黄の上に平たく乗った形で存在する。これらの胚から卵黄の部分を小さくすれば両生類に似た形になる (図10)。紙面の都合上、詳細には議論できないが、原腸形成時の組織運動を見ても、両生類の新しいモデルを基準にして脊索動物門全体に共通する原腸形成過程の絵を描く事ができる。たとえば鳥類の原腸形成過程は図9Aの動きにきわめてよく似ているし、図9B・Cは原索動物であるナメクジウオの原腸形成運動とほぼ同じようにみえる。近年では遺伝子の配列から分子系統樹が作成されているが、形態を元にした系統樹が大きく変わる事はない。これは形態の類似性

が進化・系統にきわめて重要な意味を持つ事を示す。生物の形は発生過程によって決まる。と言う事は、同じ分類群に属する生きものの発生過程は、見かけ上は異なっているように見えても、本質的な共通性が潜在していると考えられる。原腸形成は成体の基本体制を決定するきわめて重要な発生プロセスであり、ここに脊索動物門全体の共通性が見て取れる意味は大きいだろう。

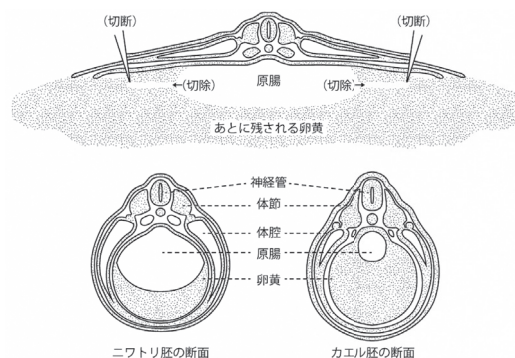


図10, ニワトリ胚とカエル胚の比較

参考文献

原著論文

Yanagi T., Ito K., Nishihara A., Minamino R., Mori S., Sumida M. and Hashimoto C. (2015)

“The Spemann organizer meets the anterior-most neuroectoderm at the equator of early gastrulae in amphibian species” *Develop. Growth Differ.* 57, 218-231

Koide, T., Umesono, K. and Hashimoto, C. (2002)

“When does the anterior endomesoderm meet the anterior-most neuroectoderm during *Xenopus* gastrulation?” *Int. J. Dev. Biol.* 46: 777-783

従来の方に関する総説

橋本主税「オーガナイザー形成の分子機構、発見から3/4世紀を経て見えてきた新しい姿」*蛋白質・核酸・酵素* vol.43, No10., 1336-1346, 1998

新しいモデルに関する総説

橋本主税「両生類の原腸形成機構」*数研出版サイエンスネット* vol.49, 2-5, 2014

橋本主税「アフリカツメガエルの原腸形成機構」*化学と生物* vol.41, No.11, 738-744, 2003