

# 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——

橋本主税

アフリカツメガエルの体軸形成に決定的に重要であるオーガナイザーは、少なくとも4種類の体軸形成機構が統合して織りなす高次の制御機構によって成立している。オーガナイザー活性を担う領域は、内胚葉から中胚葉にまたがり、機能的・形態的に複数の領域に細分化できる。これらの領域は、オーガナイザーにより誘導される体軸構造の各領域に大まかに対応することから、オーガナイザー形成時には体軸の基本的なパターンが決定されていることが示唆される。

**Key words** 【オーガナイザー】【ニュークープセンター】【部域化】

はじめに 脊椎動物の体軸形成は、個体発生の運命を規定する意味で、形態形成初期における最も重要な現象のひとつである。体軸形成の分子レベルでの制御機構は進化的に高度に保存されているため、実験動物ごとの利点を生かして得られた知見を統合し解釈することで、この分野は急速に進展している。なかでもアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*, 以下ツメガエル) を含む両生類を用いた研究は、発生学的な知識の蓄積と分子生物学的技術の融合によって、この研究領域の最先端の一翼を担っている。ツメガエルの体軸形成機構にはオーガナイザーとよばれる機能領域が決定的に重要である。近年、さまざまなオーガナイザー因子が多様な現象を制御して組織だった体軸を形づくること が 解 明 され、各々の機構がオーガナイザーと直接対応して考えられるようになって、これまでのオーガナイザーの認識が変わろうとしている。そこで本稿では、体軸形成の分子機構をオーガナイザーに還元することで、オーガナイザーの機能が分子機構としてどこまで理解されているかについて紹介する。また、体軸形成を担

う機能領域としてのオーガナイザーが確立する機構についても考察する。

## 1. オーガナイザー

両生類の卵は、動物極から植物極へ通る1本の軸に対して放射相称構造であるが、オタマジャクシには3本の体軸(頭尾・背腹・左右)が存在するため、受精後の発生過程で新たな体軸形成が要求される(図1)。未受精卵にすでに存在する軸は胚全体としてみた場合に将来の頭尾軸に大まかに一致するため、受精後に決定される体軸は背腹軸となる。また両生類では、腹側に対して背側の決定が優位であるため、背側を決定することで背腹軸が確定する。両生類の背腹軸決定機構の研究は、SpemannとMangoldによる“オーガナイザー(organizer)”とよばれる機能領域の報告に始まる<sup>1)</sup>(図2)。オーガナイザーは背側の形成に決定的に重要であるので、オーガナイザーの形成機構を知ることこそ、ツメガエルにおける体軸形成機構を知ることとなる。な

Chikara Hashimoto, 京都大学ウイルス研究所 (〒606-8397 京都市左京区聖護院川原町) [Institute for Virus Research, Kyoto University, Shogoin-Kawahara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8397, Japan]

*The Essential Character of The Spemann's Organizer*

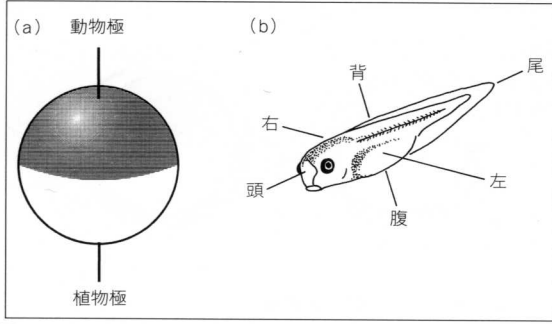


図1 ツメガエルにおける体軸の変化  
卵(a)とオタマジャクシ(b)における体軸。卵形成過程では、将来の頭尾軸に相当する1本の体軸しか与えられないが、初期発生過程で残りの2本(背腹・左右)の軸が形成される。

お、厳密に言えば“オーガナイザー”とは活性を示す概念であって、組織や細胞群などの特定の領域を示すものではない。だから現実には‘オーガナイザー活性を示す’あるいは‘オーガナイザー活性と対応する’領域が存在するにすぎない。

オーガナイザー領域は原口背唇部に相当する背側中胚葉組織であると定義されている。原腸形成期になると原口背唇部は原口を通して胚の内部へと陥入を始め(原腸陥入)、胞胚腔の内表面を裏打ちするように動物極方向へと遡ったのちに、先頭が動物極を少し過ぎたところで原腸陥入は停止する。原腸陥入の開始領域が将来の肛門となり、陥入組織の先端部分が到達する領域が将来の口となることから、原腸陥入の完了をもって頭尾軸が形態学的に形成されたこととなる(図3)。オーガナイザーの組織自身は頭尾軸にそってパターン形成された中軸中胚葉構造を形成する。この中軸中胚葉構造は、自己のもつ位置情報に対応するように、接している外胚葉領域を神経へと誘導・部域化する。初期発生において原腸形成は、3つの体軸に沿って部域化された三胚葉体制を胚に確立するため、“オーガナイザー”がこの過程で決定的に重要な機能を果たすことは明らかであろう。

オーガナイザー領域は、腹側に移植されたときに腹側領

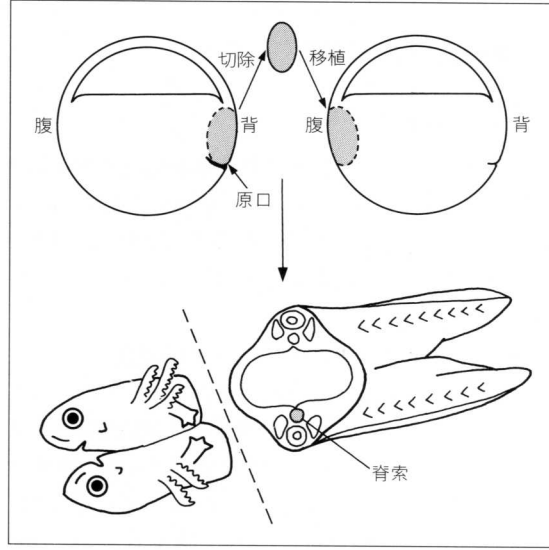


図2 Spemannのオーガナイザーの実験  
初期原腸胚の原口背唇領域を切り取り、別の原腸胚腹側領域に移植すると二次体軸が誘導される。移植片は中軸中胚葉(脊索)へと分化する。

域に背側構造を形成して二次体軸を誘導するが、重要なのはオーガナイザー領域自体が背側の各組織として分化するのではなく、オーガナイザー領域が存在することによって腹側組織が中枢神経系を含む背側組織として分化するという点、そして背側組織のみならず周囲の組織が頭尾軸や背腹軸にそって見事にパターン化されるということである。この‘パターン形成された体軸構造を正確にオーガナイズできる能力’がオーガナイザーとよばれるようになったゆえんである。

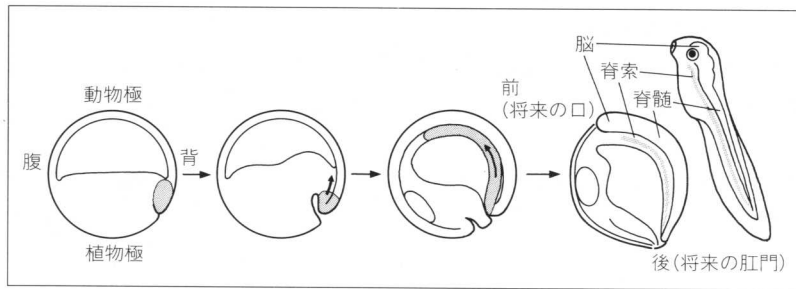


図3 原腸形成過程と頭尾軸の形成  
オーガナイザー領域(網の部分)は原腸陥入とともに胞胚腔を裏打ちするようにさかのぼり脊索を形成する。脊索はさまざまなシグナルを出すことにより周辺の組織を頭尾軸の情報に沿って部域化し、全体の体制をオーガナイズする。

## II. オーガナイザーの形成

### 1. 表層の回転

オーガナイザーとよばれる機能領域が形成されるのは原腸胚期直前であるが、実は、精子と卵が融合した瞬間にすでにオーガナイザー形成に必要な第2の極性、すなわち背腹軸が受精卵に与えられている。その仕組みは次のとおりである。

動物半球の任意の点で起こった受精の刺激により、受精卵の中で微小管が一定方向に重合を開始する。この重合した微小管の力は、卵表層と卵細胞質の間に一定方向への滑りを起こさせ、滑りの方向にそった細胞内物質の局在化を導く<sup>2)</sup>。結果として、精子侵入点側が腹側に、その反対側が背側に決定づけられる。この第2の極性を規定するのが‘精子の侵入’そのものではなく、‘細胞質と表層の間の滑り’という物理的な動きであることは、この‘滑り’を人為的に逆向きに起こせば精子侵入部位を背側にできることから理解できる。この滑りが背腹軸を規定する機構の詳細はまだほとんど理解されていないが、滑りによって植物極周辺の表層領域が赤道付近の内部細胞質領域に接触することで、背側の情報をもつようになると一般に考えられている(図4)。

このように、オーガナイザー出現のはるか以前に背腹軸が決定されているので、受精により与えられた背側の情報がいかにしてオーガナイザーという機能領域を生じさせるかを論じることが、取りも直さず背腹軸決定機構を論じることになる。

## 2. オーガナイザーの形成

### A. 3シグナルモデル

表層が回転することで成立した背側の情報は、オーガナイザーという機能領域をどのように形成するのであろうか。古典発生学から得られた多くの知見から3シグナルモデル<sup>\*1</sup>が提唱されている(図5a)。

組織としてオーガナイザーは背側中胚葉に相当するので、必然的にオーガナイザー形成は中胚葉誘導を伴

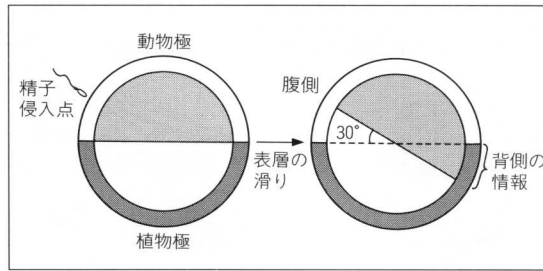


図4 受精に伴って起こる表層の滑り

受精卵の表層は、内部細胞質に対し精子侵入点の方向に約30°滑る。この滑りによって内部細胞質の動物半球と表層の植物半球が接触し、この接触領域が背側の情報を形成するという考えがある。[細胞工学, 16, 678-685 (1997) より改変]

う。中胚葉は、胚の赤道領域(帯域)が植物半球からの“中胚葉誘導因子”によって誘導され生じるが、この植物半球にも背腹軸にそった極性があることが知られている。すなわち、予定上皮細胞組織と接触させて培養した場合に、背側植物極側領域組織とともに培養した予定上皮組織はオーガナイザーとして分化するが、腹側植物極側領域組織とともに培養すると腹側中胚葉組織にしか分化しない。このように、オーガナイザー誘導活性は腹側植物極側領域には存在しないことから、背側に位置する植物半球領域も‘背側’として規定されていることがわかる。背側植物極側領域に存在するこのオーガナイザー誘導領域のことを提唱者の名前から“ニュークープセンター (Nieuwkoop center)”とよぶ<sup>3)</sup>。

3シグナルモデルでは、オーガナイザーが形成されるまでに起こる一連の現象を次のように捉えている。まず第1に、表層が滑ることによって生じた背側の情報は植物半球の背側に相当する領域を‘背側’として特殊化する。胞胚期になると、植物半球組織は中胚葉誘導因子を分泌することによって胚の帯域を中胚葉へと誘導する(第1のシグナル)、背側として特殊化された植物半球の組織(ニュークープセンター)は背側として特殊化された中胚葉(オーガナイザー)を誘導する因子を分泌する(第2のシグナル)。さらに、誘導されたオーガナイザーから分泌される因子がそれ以外の中

\*1 近年、腹側化を抑制することがオーガナイザーの機能の重要な部分を占めることが理解され、これらを踏まえた“4シグナルモデル” [Wolpert, L. et al.: in Principles of Development, p. 85, Oxford University Press, Oxford (1998)] が提唱されている。このモデルでは、3シグナルモデルの第3のシグナルをさらに2つに分けて、より分子的理解に即した説明を試みていて評価できるが、今回の主題であるオーガナイザー形成機構の説明は基本的に等しいため、本稿では3シグナルモデルを紹介した。

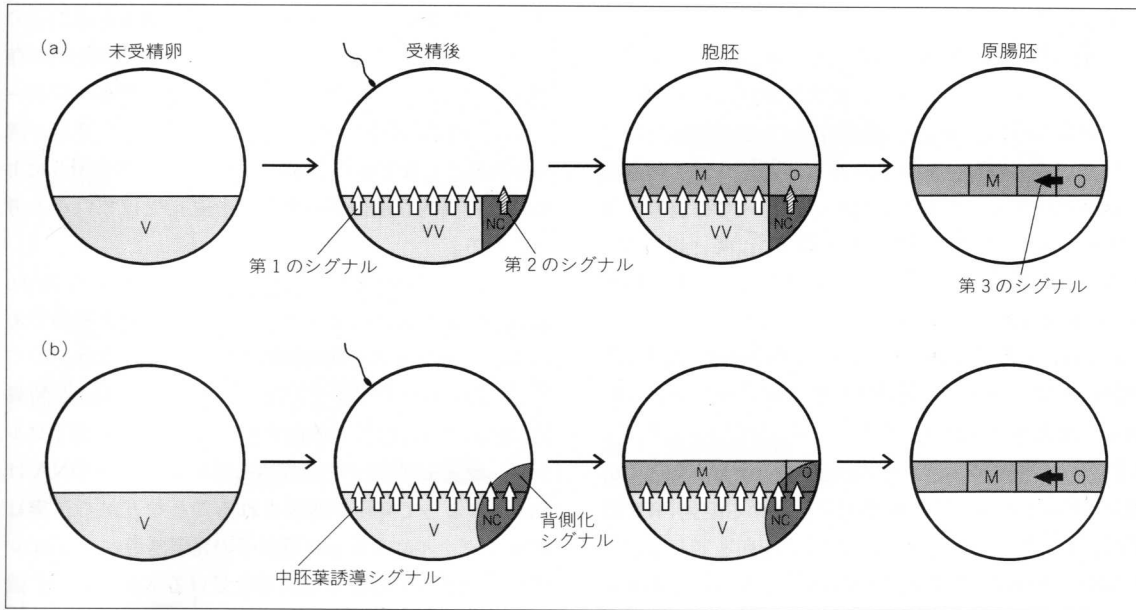


図5 オーガナイザー形成機構のモデル

(a) 3シグナルモデル。受精卵の植物極側領域(VV)は帯域組織を中胚葉に誘導する能力をもつ(第1シグナル)が、背側植物領域(NC; ニュークープセンター)は背側として特殊化されており、背側中胚葉(O; オーガナイザー)を誘導する(第2のシグナル)。オーガナイザーからのシグナル(第3のシグナル)によってその他の中胚葉組織(M)は部域化する。(b) 協同性モデル。中胚葉誘導シグナルは背腹軸を通して均一であり(たとえばアクチビンシグナル)、背側領域だけに存在する背側化シグナル(たとえばWntシグナル)と協調的に働くことによりオーガナイザーを誘導する。[細胞工学, 16, 678-685 (1997) より改変]

胚葉組織に働きかけて背腹軸にそった分化を促し(第3のシグナル)、秩序をもって部域化された中胚葉組織を形成する<sup>4)</sup>。基本的にこの3シグナルモデルは、分泌性の因子を念頭に置いた‘誘導’という概念によって背腹軸形成を説明する。

**B. 協同性モデル**

中胚葉誘導やオーガナイザー誘導に関する候補因子群が分子生物学的手法によって明らかとなるに伴い、新たにオーガナイザー形成の協同性(synergistic)モデルが提出された(図5b)。基本的に3シグナルモデルの改変版ともいえるこのモデルは、第2の誘導シグナルを、2種類の分子の協同作用として説明した点で画期的である。初めて“中胚葉誘導因子”と“背側化因子”が機能のうえで分離されたのである。

中胚葉誘導因子として知られているアクチビン(TGF-

$\beta$ ファミリーに属する成長因子)は、濃度依存的に背側中胚葉から腹側中胚葉まで誘導することができる。この性質のためアクチビンは、背腹軸にそった中胚葉のパターン形成を起こさせうるモルフォゲンの候補としても注目されている。また、腹側帯域でWntシグナル経路を異所的に活性化させると完全な二次体軸が誘導されることから、Wntシグナル経路の活性化<sup>\*2</sup>がオーガナイザー形成に関与していると考えられている。しかしWntシグナル単独では中胚葉を誘導できないことから、Wntシグナル経路はオーガナイザーを直接誘導するのではなく、中胚葉誘導因子と共存することによって中胚葉領域を背側化、すなわちオーガナイザーへと誘導すると考えられるようになった。この考えは、オーガナイザー特異的に発現する遺伝子 *gooseoid* (*gsc*) の発現調節機構の解析からも確實視されている。以下

\*2 受精の刺激によるWntシグナル経路の活性化の機構はまったくわかっていない。たとえば、Wntリガンドが母性因子として存在するのか、あるいはシグナル経路のどこか特異的なステップが受精により活性化を受けるだけなのか、いまだに議論されている。アンチセンスオリゴを用いた解析から、Wnt経路下流にあるGSK3(Shaggy/ZW3)の機能が受精によって抑制されることが、Wntシグナル経路の活性化につながると、いまのところ考えられている。

に簡単に紹介しよう。

ツメガエルの初期発生過程では、中期胞胚変移(mid blastula transition; MBT) 期まで染色体からの転写は行なわれない。すなわち卵割期から桑実胚期を経て胞胚期に至る過程は卵にあらかじめ蓄えられている細胞質情報によって制御されている。すべての誘導現象は新たな遺伝子発現を伴うので MBT 以降に起こることとなり、表層の滑りによって与えられた背側の情報も MBT になるまで機能しえない。したがって、オーガナイザーを直接誘導するニュークープセンターは MBT 直後に形成され、それが原腸胚期直前にオーガナイザーを誘導することになる。

*gsc* 遺伝子のプロモーター上にはアクチビン刺激にตอบสนองする配列(ARE)と Wnt 刺激にตอบสนองする配列(WRE)がそれぞれ知られており、これらの配列を通じて、アクチビンと Wnt が協調的に作用して *gsc* の発現をオーガナイザーに局限させることがわかっている。アクチビン様活性は胚の植物極領域全体に一樣に広がっており、Wnt 活性は背側領域に局在するために、アクチビン(帯域)と Wnt(背側)の双方の効果が交わる領域に *gsc* の発現が限定されているのである<sup>5)</sup>。なお、Wnt シグナルの活性化によるオーガナイザー形成は、背側特異的であり、母性効果であること<sup>\*3 6)</sup>、また誘導される体軸は頭部構造までを含む完全なものであることなどから、表層の滑りによる背側決定機構の分子的な正体として Wnt シグナルの活性化があがっているが、これは協同性モデルで示唆される Wnt の機能とも矛盾しない。

### C. 母性因子とニュークープセンター形成

MBT 直後に発現が始まる遺伝子のひとつにホメオボックス蛋白質をコードする *Xtwn* (*Xtwn*) がある。この遺伝子はニュークープセンター機能を担う遺伝子と考えられており、オーガナイザーを直接誘導する活性として位置づけられる<sup>7)</sup>。受精の瞬間に(すなわち表層の滑りによって)活性化される Wnt シグナルは、Lef1/TCF3 という high mobility group (HMG) 蛋白質を

通じて標的遺伝子の発現を誘導する<sup>8)</sup>。*Xtwn* 遺伝子のプロモーター配列上にはこの Lef1/TCF3 結合配列が存在すること、さらに *Xtwn* プロモーターをもつレポーター DNA は Wnt シグナルの活性化によって発現が誘導されることなどから、*Xtwn* 遺伝子は表層の滑りによる背側特異的な遺伝子発現制御を直接受けていると考えられる。

では、表層の回転による情報を直接受けている *Xtwn* 遺伝子はどのようにオーガナイザーを誘導するのであろうか。再び *gsc* の発現調節を例にみてみよう。

*gsc* 遺伝子の WRE 上には *in vitro* で *Xtwn* が特異的に結合できる部位が存在すること、WRE 制御下にルシフェラーゼ遺伝子を組み込んだレポーター DNA は *Xtwn* によって発現が誘導されることなどから、実は Wnt シグナルによる *gsc* 遺伝子の発現誘導は、Wnt シグナルによって直接発現誘導を受ける *Xtwn* が *gsc* 遺伝子のプロモーターに結合して起こしていることがわかってきた。したがって、受精で活性化された Wnt シグナルは、MBT になると *Xtwn* 遺伝子の発現を直接誘導し、この *Xtwn* によって *gsc* の発現が直接誘導されるということになる。これらはすべて同一細胞内で起こる現象であり、少なくとも *gsc* の発現を指標としてみた場合には、3 シグナルモデルでいう‘液性因子を介した誘導’はオーガナイザー形成には必要でない。

次に、*Xtwn* の発現調節機構を調べると面白いことがわかる。すなわち受精後の表層の滑りを人為的に抑制した胚(結果としてオーガナイザー形成は起こらない)での *Xtwn* の発現は植物極領域に局限していたのである。これは、表層の回転によって本来背側領域に移動するはずの因子が植物極にとどまったために、結果として、*Xtwn* の発現も植物極に局限したと考えられる。

さて、未受精卵あるいは初期胚の特定領域にガラス管を挿入して部分的に細胞質を抜き取り、それを別の胚の腹側帯域に‘移植’すると二次体軸が誘導されるという胚発生学的な実験事実から出てきた概念に“細胞質デターミネント”<sup>\*4</sup>がある。つまり、母性の細胞質内

\*3 MBT 以前に必要なであるということ。MBT 以後(染色体からの遺伝子発現が起こってから)ではこの効果はない。

\*4 植物極の表層から少し内部の領域に存在する細胞質は、表層の滑りを起こすために卵表面に規則正しく並んだ微小管の上を滑って、約 90° 背側に移動するという報告がある<sup>10)</sup>。この移動する領域が細胞質デターミネントの正体であるかどうかは不明だが、この領域中に  $\beta$  カテニンの存在も認識されており *Xtwn* の発現を考えても興味深い。受精時の背側決定過程において表層の滑り以外の物理的な動きが示されたことは、体軸形成機構の研究に新しい視点を与える。細胞質デターミネントが直接オーガナイザー領域を決定するのであれば、30° の表層の滑りのみですべてを説明することは困難であるが、この新しい機構によって説明可能となるかもしれない。

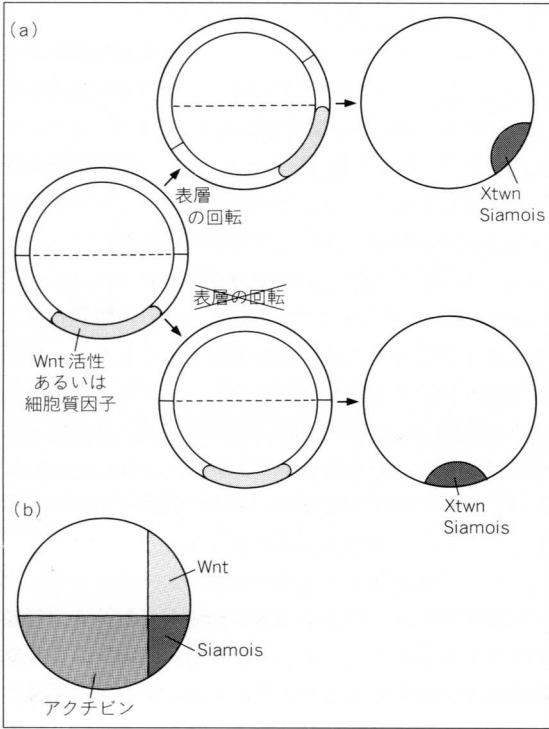


図 6 ニュークープセンター形成のモデル  
(a) ニュークープセンター因子と考えられる Xtnw (Siamois) は母性因子によって発現が誘導される。人為的に受精後の表層の回転を止めると Xtnw は植物極周辺に局在することから、ニュークープセンターの誘導には卵表層と内部細胞質の接触(図4)を必要としない可能性がある。(b) Wnt シグナルにより Siamois の発現は誘導されるが、Wnt シグナルはアクチビンシグナルと協調することにより Siamois の誘導をさらに上昇させる。2種類のシグナルによる協同性がニュークープセンター領域の決定にも関与するかもしれない。

因子の局在がオーガナイザー形成に重要であるということである。この細胞質デターミナントは、表層が回転する以前には植物極領域に局在しているという報告があり<sup>9)</sup>、前述した Xtnw を直接誘導する因子そのものである可能性が高い(図6a)。このモデルによれば、表層の滑りは単に細胞質デターミナントを帯域に移動させるのみであり、前述したモデル(図4)でいわれるような植物極側の表層領域と動物極側の内部細胞質領域の接触によってニュークープセンターを活性化することではないことになる。

ツメガエルの初期胚では Wnt 活性は背側全体に存在している<sup>10,11)</sup>。しかし、Wnt シグナルにより発現誘導される Xtnw は背側帯域に局在することから、Xtnw の

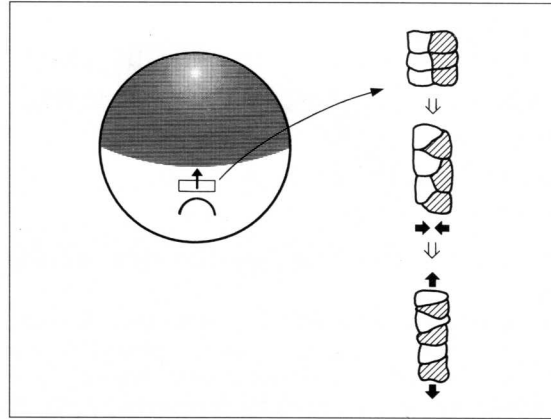


図 7 集中伸長運動  
層状に広がって存在する細胞集団は、二次元的に相互に入り込む(intercalation)ことで細胞の数・形・大きさを大きく変化させることなく、組織として一方向に伸長した構造をとることができる。ツメガエルの初期発生において脊索を形成する過程と脊髄を形成する過程でこの運動がみられる。

発現を制御する新たな因子の存在が予想される。Lef1/Tcf3 は、標的プロモーターに結合し DNA の構造を曲げることで他の転写因子による転写活性化を促し、基本的にはそれ単独での転写活性化能を有さないことから<sup>12)</sup>、協同的に働く別の転写因子による発現領域の特定が行なわれている可能性は高い。

ホメオボックス蛋白質 Siamois<sup>13)</sup> は、Xtnw と 1 次構造上高い相同性を示し、同様の機能をもつと考えられる。この発現も Xtnw 同様に Wnt シグナルにより誘導されるが、この Wnt シグナルによる *siamois* の発現誘導はアクチビンシグナルの活性化によりさらに増加することから<sup>14)</sup>、*siamois* が背側帯域に特異的に発現する機構にも *gsc* の発現と同様に協同性効果 (synergistic effect) が必要なのかもしれない(図6b)。

### III. オーガナイザーの部域化

以上、オーガナイザー活性が単一の機能領域によって担われているという立場で議論した。しかし、オーガナイザーは複数の機能領域に区分されうることが示唆され、これらの機能領域が互いに作用しあうこともオーガナイザー形成に重要であると考えられるようになった。

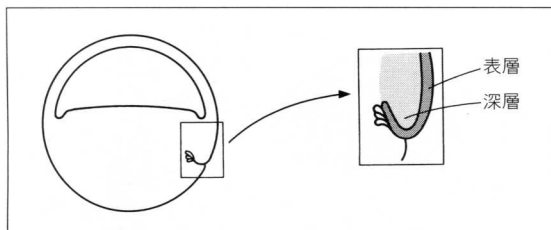


図8 オーガナイザーの深層 (deep layer) と表層 (superficial layer)

原口背唇領域を形態学的に観察すると、深層と表層に分けられる。表層のみの移植によりオーガナイズされた二次体軸を誘導できるが、深層のみの移植によっては明確な二次体軸を観察できない。しかし表層領域は、将来、中軸中胚葉に分化できないことから、原腸形成時でのオーガナイザーの制御に表層領域が重要であろうと考えられている。

## 1. 表層と深層

オーガナイザーに相当する原口背唇部は、組織を構成する細胞群が互いの中に入り込んで (intercalation) 一方向に伸びた構造をつくる“集中伸長運動 (convergence extension movement)”を行なう<sup>15)</sup> (図7)。これはオーガナイザーに特徴的な運動であり、中軸中胚葉を構成する過程に必須である。原口背唇領域の断面をみると胚の表層に並ぶ細胞群からなる‘表層’とその下層の‘深層’に分けられることがわかる<sup>16)</sup> (図8)。深層部を構成する細胞群は将来的に中軸中胚葉組織へと分化するが、表層の細胞群が将来的に中軸中胚葉形成に参加することは基本的にはない。また、深層領域のみがオーガナイザーに特徴的な集中伸長運動を起こす<sup>17)</sup>。

これらの事実から、深層部がオーガナイザーの機能に決定的に重要であると考えられる。事実、いままで知られている体軸誘導活性をもつオーガナイザー因子は、そのほとんどが深層部に限って発現していた。しかし、オーガナイザーの表層領域のみを初期原腸胚の腹側に移植した場合でも‘オーガナイズされた’二次体軸が誘導されること、さらには深層領域のみの移植では二次体軸は誘導できるものの誘導された体軸は‘オーガナイズ’されていないことが示され<sup>14)</sup>、集中伸長運動や脊索形成などのオーガナイザーに特徴的な機能は深層が担うが、深層のオーガナイザー機能を正確に制御するには表層が必要不可欠であると考えられる。

このように、オーガナイザー表層領域の重要性が認められてきたが、表層が形成される機構は未知のまま

残されている。TGF- $\beta$  の一種 Nodal のツメガエルホモログのひとつ Xnr3 はオーガナイザー表層特異的に発現している<sup>18)</sup>。この分子を腹側帯域に異所的に発現させることにより腹側中胚葉を背側化することができる。また、深層の一部と表層に発現する Xnr2 は背側中胚葉誘導活性を有する<sup>19)</sup>。これらの分泌性因子は表層が深層に作用する分子的な実体の一部であると考えられている。また、筆者らの研究室で単離した bHLH 因子 Xhairy2b もオーガナイザー表層に発現し、腹側帯域で発現させた場合に二次体軸を誘導することから、表層の性格を決定する重要な働きを担っていると考えられる。Xhairy2b は背側中胚葉を誘導するが、表層領域は中胚葉組織へと分化しないことから、おそらくこれは、Xhairy2b により発現が誘導される分泌性の中胚葉誘導因子を介した二次的なものであろう。

これらの表層特異的な因子は他のオーガナイザー因子同様に Wnt シグナルにより誘導されるが、発現領域がそれぞれ異なることから、表層特異的な因子の発現制御機構を理解することにより、オーガナイザー領域がいかに組織化されて形成されるかを知る手がかりとなる。

## 2. オーガナイザーの解剖

ここまでにもふれてきたように、初期原腸胚の原口背唇領域を腹側帯域に移植すると、頭部までを含む完全な二次体軸が誘導される。しかし中期原腸胚の原口背唇領域の移植によっては頭部を欠く体軸のみしか誘導できない。これらの事実から、体軸構造と頭部構造の形成を誘導する領域は本質的に異なる少なくとも2つの独立した領域からなると考えられる。これらの領域をそれぞれ“頭部オーガナイザー”と“胴部オーガナイザー”とよぶ。このような機能上の分類は分子レベルにおいても成立することが近年明らかとなった。またオーガナイザー領域には、微小管によって特殊な形態をした細胞群による形態学的な部域化も認められる<sup>20)</sup>。

筆者らは、新しいオーガナイザー因子の単離・解析を発現クローニング法により進めているが、スクリーニングの過程で体軸誘導能を有する分子の活性は大きく4つに分けられることを見いだした (図9)。すなわち、さまざまな分子によって誘導される二次体軸は、第1に神経管のみをもつもの、第2に神経管と脊索を有す

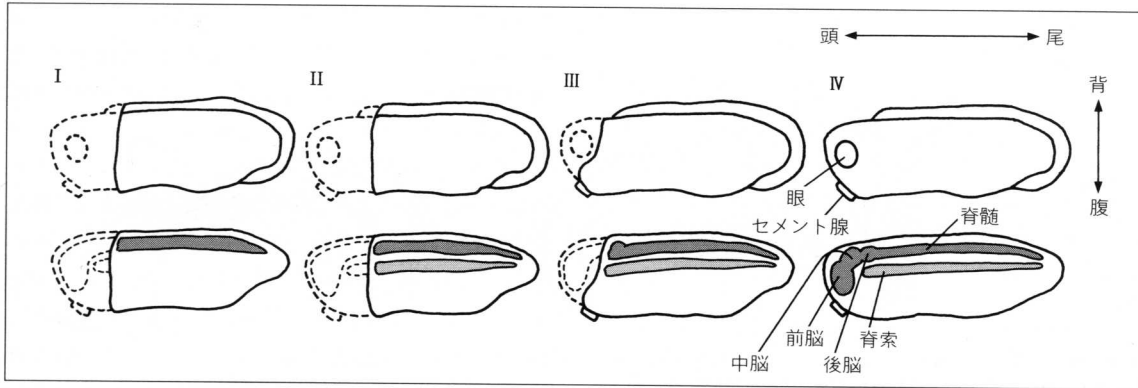


図9 ランダムな cDNA 分画により誘導される二次体軸

背側化原腸胚から作製した cDNA ライブラリーをランダムな複数の分画に分け、それぞれの分画から合成した mRNA を初期胚腹側帯域に注入することによって、二次体軸誘導能を調べたところ、図のような 4 種類の活性に大まかに分類できることがわかった。I：脊髄領域に相当する神経管のみを有する体軸。II：脊髄と脊索構造を含む体軸。III：後脳と脊髄に相当する神経管と脊索をもつ体軸。IV：頭部構造を含む完全な体軸。なお便宜上、二次体軸のみの模式図を示してある。

るもの、第3に神経管と脊索をもち、最前部神経系の組織であるセメント腺をもつもの、そして第4に完全な体軸、である。第1から第3の活性によっては頭部構造を形成できない。

第1の体軸を誘導する機構が単独で活性化されたときには神経管のみを含む簡単な軸構造を誘導し、第2の機構が活性化されると脊索を誘導する。さらに第3の機構によって最前部の神経組織を含む完全な胴部体軸を形成する。これらの事実は、胴部体軸形成が分子的に3種類の素過程として区別できることを意味する。ちなみに、第3の機構によって誘導される体軸を見てみると、中枢神経系では後脳領域までをもち、中胚葉としては脊索や体節をもつことから、これらの構造の最前部が‘頭部’と‘胴部’の境であるとも考えられる。言い換えれば Hox のくり返し構造を有する部分が胴部であり、有さない部域が頭部であるといえるかもしれない。

第4の活性は質的に2種類に分けることが可能である。1つはニュークープセンターの分子であり、これが発現することによって‘完全な’オーガナイザー形成を誘導するため、結果として‘完全な’体軸が形成される。それに比べてもう一方は少し複雑である。完全な頭部を誘導した分画には約千分子の独立クローンが含まれるが、さらに小分画へと分けると頭部誘導活性は消失した。これを再度混合すると頭部誘導活性は回復したことから、複数の分子が協調して頭部構造を形成する

ことを示す。この分画の詳細な解析は現在進行中であるが、BMP (bone morphogenetic protein) シグナルと Wnt シグナルを MBT 以降に腹側帯域とともに抑制すると頭部構造を有する完全な体軸が誘導されることが最近示され<sup>21)</sup>、それぞれのシグナルを積極的に抑制する内在性因子の存在も確認されている<sup>22,23)</sup>。BMP シグナル伝達経路の遮断は神経組織とともに体軸構造を誘導できるので<sup>24)</sup>、‘頭部構造を含む完全な体軸’を誘導する2種類の分子機構のうち的一方が、胴部体軸誘導能をもつ事実は重要である。

ライブラリースクリーニングの過程で示された第3の体軸は、BMP シグナルの遮断により誘導される体軸と形態学的に等しいことから、第4の活性は第3の活性に Wnt シグナルの遮断が加わったものかもしれない。Wnt シグナルは MBT 以前と MBT 以降では効果が異なる。MBT 以前に母性効果として Wnt シグナルが活性化されると、ニュークープセンターが誘導されオーガナイザー形成が起こる。すなわち Wnt シグナルは胚を背側化する。しかし、MBT 以降に Wnt シグナルが活性化されると、腹側特異的遺伝子の発現が誘導され、背側構造の形成が抑制される。すなわち Wnt は腹側化活性を示す。したがって、ここで議論しているように、MBT 以降に Wnt シグナルを遮断すると、腹側化効果を打ち消し、そこに BMP の遮断による神経誘導と体軸形成が起これば頭部構造が形成されることになる。

このように、形態学的にいわれているオーガナイザ



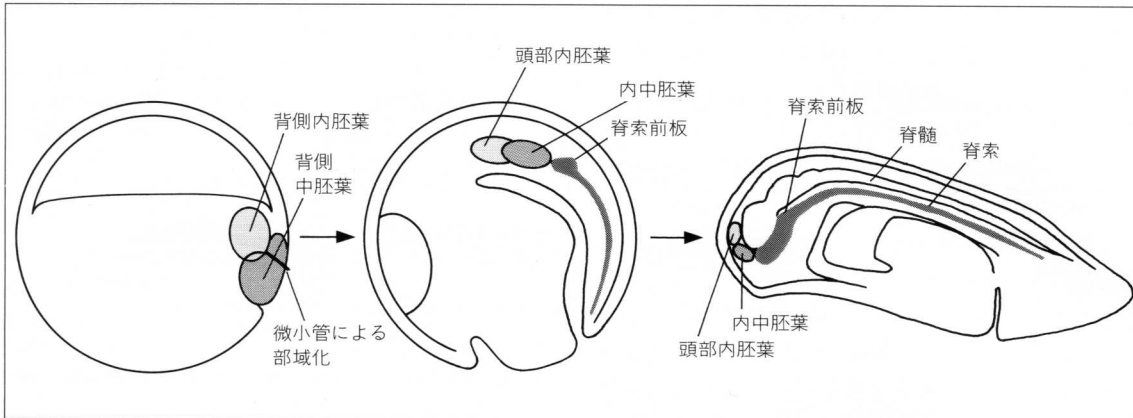


図 10 オーガナイザーの頭尾軸に沿った部域化 (頭部オーガナイザーと胴部オーガナイザー)

原口背唇領域では背側中胚葉は背側内胚葉に接している。原腸陥入過程を見ると、この内胚葉領域は脊索に先立って進むことがわかる。また、原腸陥入に伴い、背側内胚葉は頭部内胚葉と内中胚葉になり、背側中胚葉は脊索前板と脊索になる。中枢神経系を指標としてみた頭部を裏打ちする領域として、頭部内胚葉・内中胚葉・脊索前板があげられ、この領域に発現する遺伝子が頭部構造の形成に重要であることが知られている。背側中胚葉領域では、微小管の重合によって細長い形態をした細胞群が将来の脊索前板と脊索に分けている。

一の機能的な区別化が分子レベルでも行なえることが示されたが、この分子機構の区別がオーガナイザー領域の部域化にいかんにかつ反映するかが次なる課題である。オーガナイザーの頭部誘導能は背側中胚葉組織には存在せず、脊索前板より前方の内胚葉領域が担っていることが最近理解され、オーガナイザー機能の区別化を機構と領域の両面から示す例として注目されているので、簡単に紹介しよう。

Spemann らは移植片が将来脊索になるということを見だし、オーガナイザーは原口背唇部に相当する領域と結論づけた。この考え方は現在までほぼ定説であると認識され、本稿においてもこの考えを基にオーガナイザーについて論じてきた。しかし詳細に検討することにより違った側面がみえてきた。実は、原口背唇領域のみを正確に切り出して腹側帯域に移植すると、二次体軸は誘導されるが頭部構造は誘導されない。さらに、原口背唇部 (中胚葉領域) に特異的に発現するオーガナイザー因子により誘導される二次体軸も頭部構造を有さない。これらの事実、原口背唇部のみでは定義上の完全なオーガナイザー活性をもたないことを示す。

原腸形成時に陥入する組織の先頭部分、すなわち予定脊索部位よりも頭部側に位置する領域は、頭部側から順に頭部内胚葉・内中胚葉・脊索前板が並ぶ (図

10)。頭部誘導能を示す2つの分子が現在までに同定されており、Cerberus は背側内胚葉全域に<sup>25)</sup>、Dickhof は内中胚葉領域に<sup>23)</sup> 発現することなどから、頭部内胚葉から脊索前板に至る領域が頭部オーガナイザーに等しいという考え方もある<sup>26)</sup>。なお、ここまで本稿では将来の中軸中胚葉を形成する領域、すなわち原口背唇部に相当する領域のみを“オーガナイザー”として扱ってきたが、定義上オーガナイザーは頭部誘導能を有しているので、頭部内胚葉から背側中胚葉までの領域を統合してオーガナイザーとよぶべきである。

すでにみてきたように、オーガナイザーは形態学的に‘表層’と‘深層’あるいは‘頭部’と‘胴部’とに機能的に分けられる。また、分子機構を見ても少なくとも3種類の素過程に分類可能である。まだ機能と形の相関は未知であるが、いままで単一活性であるように考えられてきたオーガナイザーがさらなる機能領域へと分けられる可能性は、オーガナイザーから体軸形成を考えるとときに新たな視点を与える。

おわりに “オーガナイザー” そのものに焦点をあてて、それがどのような機構によって成立するかを概観した。

オーガナイザーのマーカー遺伝子 *gsc* の発現調節機構を例にオーガナイザー形成機構を解析した結果として

協同性モデルが確立したが、*gsc* と同じ場所に発現する *Xnot* は *gsc* とは異なる誘導を受けることなど、同一領域内でも分子レベルで異なる制御機構が存在している。さらにこれまでみてきたように、オーガナイザー自体が均一な組織ではないため、表層や頭部内胚葉領域などの *gsc* を発現していない領域を形成するためには *gsc* の場合とは異なる制御機構が存在するはずである。また表層からの因子によっても *gsc* の発現が誘導されるといふ事は、オーガナイザー領域内の各領域が相互作用しながら“オーガナイザー”を形成することを示唆する。このようにみただけでも、複雑な機能を担うオーガナイザー形成のための制御機構が複数存在し、かつ相互に影響しあうことの重要性は容易に理解できる。

いままで漠然と“オーガナイザー”とよばれていたものは、数多くの分子が相補しながら織りなす複雑な活性の総称であることがわかっていただけたかと思う。ここで強調しておきたいことは、オーガナイザーという活性を表現する分子機構が存在するのではなく、体軸誘導に伴って起こるすべての生命現象をそれぞれ制御する分子機構の統合した高次の構造としてオーガナイザーは具現化するのである。また、オーガナイズされた体軸の形成機構を考えるときには、オーガナイズされる組織についても忘れてはならない。オーガナイザーから同じシグナルを受けても組織によって異なる振る舞いをする事が知られており、この受容性は“コンピテンス”という言葉で表現される。オーガナイザー内の各領域は Wnt シグナルによって、それぞれ異なる遺伝子を発現し異なる機能を獲得する。これも各領域のコンピテンスとよべるかもしれない。機能する側と機能される側の相互理解が進むことこそ、体軸形成機構を理解することにつながる。

オーガナイザーそのものに関する分子的な理解は始まったばかりである。関与するすべての分子機構が明らかとなったときには、はたしてオーガナイザーを分子として理解できるのであろうか。オーガナイザーが物理化学的にどのように理解されていくのか、今後の研究の進展が非常に楽しみである。

文 献

1) Spemann, H., Mangold, H.: *Wilhelm Roux's Arch.*, **100**, 599-638 (1924)

2) Vincent, J. P., Oster, G. F., Gerhart, J. C.: *Dev. Biol.*, **113**, 484-500 (1986)  
 3) Nieuwkoop, P. D.: *Adv. Morphog.*, **10**, 1-39 (1975)  
 4) Slack, J. M. W.: *in From Egg To Embryo*, 2nd ed., pp. 98-101, Cambridge University Press, Cambridge (1991)  
 5) Watabe, T., Kim, S., Candia, A., Rothbacher, U., Hashimoto, C., Inoue, K., Cho, K. W. Y.: *Genes Dev.*, **9**, 3038-3050 (1995)  
 6) Christian, J. L., Moon, R. T.: *Genes Dev.*, **7**, 13-28 (1993)  
 7) Laurent, M. N., Blitz, I. L., Hashimoto, C., Rothbacher, U., Cho, K. W. Y.: *Development*, **124**, 4905-4916 (1997)  
 8) Brannon, M., Gomperts, M., Sumoy, L., Moon R. T., Kimelman, D.: *Genes Dev.*, **15**, 2359-2370 (1997)  
 9) Sakai, M.: *Development*, **122**, 2207-2214 (1996)  
 10) Rowning, B. A., Wells, J., Wu, M., Gerhard, J. C., Moon, R. T., Larabell, C. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 1224-1229 (1997)  
 11) Larabell, C. A., Torres, M., Rowning, B. A., Yost, C., Miller, J. R., Wu, M., Kimelman, D., Moon, R. T.: *J. Cell Biol.*, **136**, 1123-1136 (1997)  
 12) Giese, K., Cox, J., Grosschedl, R.: *Cell*, **69**, 185-195 (1992)  
 13) Lemaire, P., Garret, N., Gordon, J. B.: *Cell*, **81**, 85-94 (1995)  
 14) Creasee, D. J., Dyson, S., Gurdon, J. B.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 4398-4403 (1998)  
 15) Keller, R., Danilchik, M.: *Development*, **103**, 193-209 (1988)  
 16) Shih, J., Keller, R.: *Development*, **116**, 887-899 (1992)  
 17) Shih, J., Keller, R.: *Development*, **116**, 901-914 (1992)  
 18) Smith, W. C., McKendry, R., Ribisi, S. Jr., Harland, R. M.: *Cell*, **82**, 37-46 (1995)  
 19) Jones, M. C., Kuehn, M. R., Hogan, B. L. M., Smith, J. C., Wright, C. V. E.: *Development*, **121**, 3651-3662 (1995)  
 20) Lane, M. C., Keller, R.: *Development*, **124**, 895-906 (1997)  
 21) Glinka, A., Wu, W., Onichtchouk, D., Blumenstock, C., Niehrs, C.: *Nature*, **389**, 517-519 (1997)  
 22) Sasai, Y., Lu, B., Steinbeisser, H., Geissert, D., Gont, L. K., De Robertis, E. M.: *Cell*, **79**, 779-790 (1995)  
 23) Glinka, A., Wu, W., Delius, H., Monaghan, P. A., Blumenstock, C., Niehrs, C.: *Nature*, **391**, 357-362 (1998)  
 24) Hawley, S. H. B., Wunnenberg-Stapleton, K.,

Hashimoto, C., Laurent, M. L., Watabe, T., Blumberg, B. W., Cho, K. W. Y. : *Genes Dev.*, **9**, 2923-2935 (1995)

25) Bouwmeester, T., Kim, S. H., Sasai, Y., Li, B., De

Robertis, E. M. : *Nature*, **382**, 595-601 (1996)  
 26) Bouwmeester, T., Leyns, L. : *BioEssays*, **19**, 855-863 (1997)



たった1/3—インターネットサーチエンジンの検索範囲

インターネットの利用が爆発的に増加している現在、用語の検索のためにサーチエンジンの利用の機会もしばしばある。誰もがうすうす疑問に感じていると思うが、いったい検索の範囲は全体のどのくらいだろうか？ 実際、皆さんもサーチエンジンを変えるとずいぶん違った項目が呼びだされてくることを経験されたと思う。このような疑問に答える研究(?)が目についたので、これからの検索に役に立つのではないかと思い紹介する [Lawrence, S., Giles C. L. : *Science*, **280**, 98-100 (1998)]。

Lawrence らはアメリカの代表的な6つのサーチエンジン、Alta Vista ([www.altavista.digital.com/](http://www.altavista.digital.com/)), Excite ([www.excite.com/](http://www.excite.com/)), HotBot ([www.hotbot.com/](http://www.hotbot.com/)), Infoseek ([www.infoseek.com/](http://www.infoseek.com/)), Lycos ([www.lycos.com/](http://www.lycos.com/)), Northern Light ([www.nlsearch.com/](http://www.nlsearch.com/))において1997年12月15~17日にかけて575の用語を検索した。検索されたすべての項目をそれぞれのサーチエンジンから呼びだし、そのなかから重複、検索用語を含まない項目を除いて、各々のサーチエンジンで呼びだされた項目を比較した。6つのサーチエンジンで呼びだされた項目全体のなかで、各々のサーチエンジンの呼びだし率を比較すると、HotBotが最も多くの項目を含み全体の57.5%で、以下Alta Vista 46.5%, Northern Light 32.9%, Excite 23.1%, Infoseek 16.5%, Lycos 4.4%であった。さらにどのエンジンにも呼びだされない項目を含めた全体の項目はどれくらいあるかは、2つのサーチエンジンの組合せで推定した(図1)。その結果は驚くべきことに、最もカバー範囲が広いHotBotにしても検索可能と考えられる全体のうち約1/3しかカバーしていなかった。推定された検索されるべき範囲は3億2000万ページであると推定された。これはこれまでのどの推定よりインターネットに含まれる情報が多いことになる。しかも彼らの推定方法はまだ過小である可能性が高い。6つのサーチエンジンを組み合わせると、HotBot単独の3.5倍の項目が呼びだされる。サーチエンジンを2つ組み合わせるだけでも、検索範囲は相当広がる。

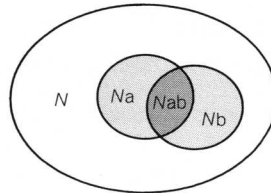


図1 Aのサーチエンジンでカバーされる情報をNa, Bのサーチエンジンでカバーされる情報をNb, 両者重なってカバーされる情報をNab, 検索されるべき全体の情報をNとする。各々の集合の相対的な大きさを、検索で呼びだされた項目数から算出する。そこで  $Nb/Nab = N/Na$  と考えてNの大きさを推定する。AをHotBotとして(Naの実数は1億1000万ページとされている), BをAlta Vistaとした場合のNは3億2000万ページと推定された。

個人のホームページを検索する場合は(科学者が他の研究者の情報を得たい場合など)、いくつかのサーチエンジンを自動的に組み合わせ検索してくれるAHoy! ([ahoy.cs.washington.edu:6060/](http://ahoy.cs.washington.edu:6060/))のようなサービスもある。実際使ってみると、屑データも多いが、その検索範囲は驚くほど広い。

実際に、筆者はコラゲナーゼの用語で以下の日本のサーチエンジンを比較した。goo ([www.goo.ne.jp/](http://www.goo.ne.jp/)), InfoNavigator ([infonavi.infoweb.or.jp/](http://infonavi.infoweb.or.jp/)), Infoseek ([japan.infoseek.com/](http://japan.infoseek.com/)), Excite ([www.excite.co.jp/](http://www.excite.co.jp/)), Hole-in-one ([www.hole-in-one.com/](http://www.hole-in-one.com/))である。呼びだされた項目はgooが一番多く91で、以下InfoNavigatorで48, Infoseekで42, Exciteで15, Hole-in-oneで9であった。そしてgooとInfoNavigatorの共通の項目は37, gooとInfoseekではたった19, 15項目しかないExciteでさえ7項目は前の3つのサーチエンジンに含まれない独自の情報であった。これはたった1つの用語の検索結果なので、どのサーチエンジンが優れているかはいえないが、いくつかのサーチエンジンを組み合わせる有用性は日本語の検索でも明らかであった。

服部俊治 (ニッピバイオマトリックス研究所)