

## サイエンスネット

物(化)生(地)...

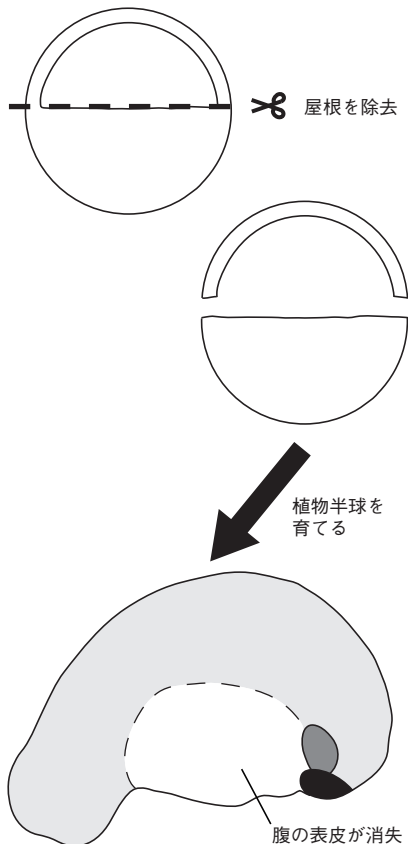
数研出版株式会社

SCIENCE NET

Contents

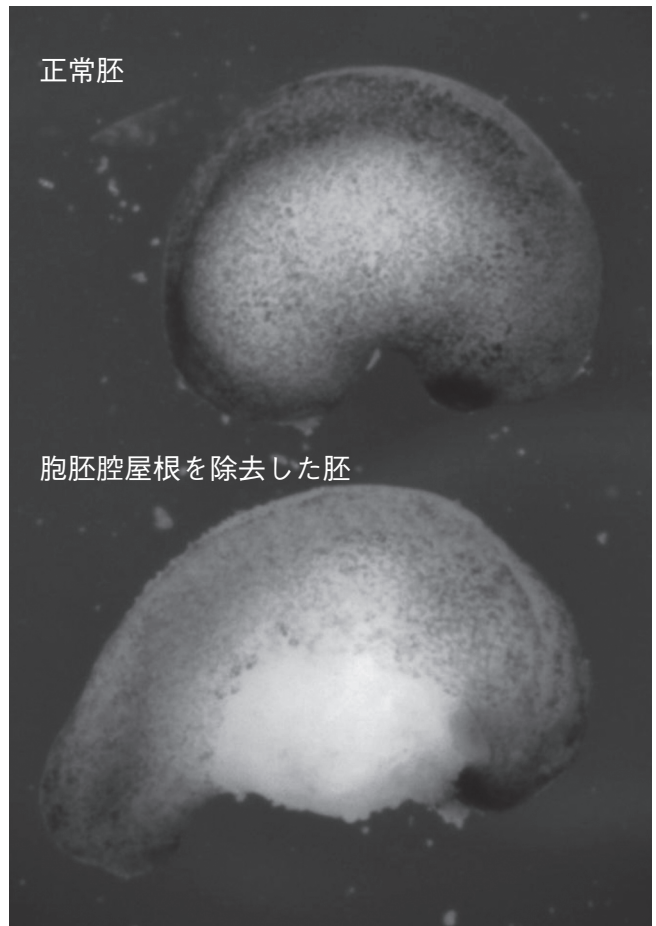
- ▶ 特集 1 / 橋本 主税...2 ▶ 特集 3 / 田島 慶三...10  
▶ 特集 2 / 小森 雅晴...6 ▶ コラム / 小西 邦和...14

アフリカツメガエルの初期原腸胚



正常胚

胞胚腔屋根を除去した胚



## 胞胚腔の屋根の運命

JT 生命誌研究館・大阪大学大学院理学研究科 橋本主税

アフリカツメガエルの初期原腸胚から、特定の時期に胞胚腔屋根を切除して発生を進めたところ、腹部の表皮は形成されなかったが、神経は頭部の先端まで形づくられていた。このことから、この時期の胞胚腔屋根は、将来神経にならないことが分かる。写真上は、切除実験を行っていない正常胚で、写真下は、写真上と同時に受精した胚で、初期原腸胚期に胞胚腔屋根を除去して育てたものである。下の胚の方がより体長が伸びているのは、切除実験の際に卵膜を除去した影響による。(→特集 1 p.2～5)

## 両生類の原腸形成機構

JT 生命誌研究館・大阪大学大学院理学研究科 橋本主税

### 1. 原腸形成とは

両生類の原腸形成過程は、3胚葉を確立する過程であると同時に、神経が誘導され、頭尾・背腹・左右の3体軸が確立する過程でもあるため、初期発生において最も重要な発現現象の1つとされる。仮に原腸形成が起こらなければ、筋肉や骨がなく神経もなければ頭も尻尾も背中もお腹もない、内臓の上に皮膚がかぶっただけの物体にしかたない。だから発生学者 Wolpert は「あなたの人生において最も重要なのは、生まれたときでも結婚するときでもなければ、死ぬときでもなく、原腸形成だ」と原腸形成過程を表現した。

両生類を用いた原腸形成過程の研究は、Spemann と Mangold によるランドマーク的研究から数えて今年で90年になる。彼らが切り開いた実験発生学という学問分野は発生学に新しい知見をもたらし、その基本的な考え方は現在も変わっていない。胚の移植実験が精力的に行われていた時代には、イモリやカエルなど様々な両生類種が用いられていたが、その後起こった分子生物学の発展により、材料は主にアフリカツメガエルに変わり、原腸形成過程の研究は新しい時代を迎えた。実験材料はその研究に相応しいものが選択されるが、その根本には両生類種の発生機構は基本的に共通であるとの認識があった。

ここで、現在考えられている両生類の原腸形成を概観しよう(図1)。原腸形成過程は、胞胚の背側帯域に原口が形成されることに始まる。原口が生じると、外部の細胞層が原口を通して胚の内部に潜り込

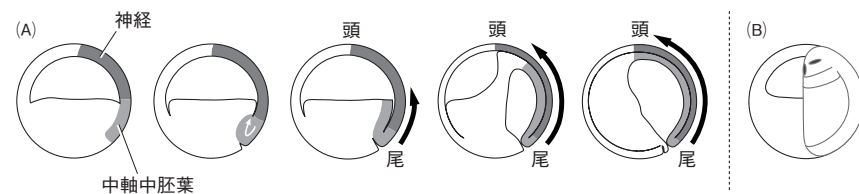


図1 (A) 現在考えられている両生類の原腸形成過程。背側帯域に形成された予定中軸中胚葉は原口を通して内部へと陥入し(白矢印)、胞胚腔をさかのぼり、裏打ちした胞胚腔屋根を神経へと分化させる。中軸中胚葉の到達した先が将来の頭部であり、したがって体軸は尾部から頭部へと形成されることとなる(黒矢印)。(B) 初期原腸胚での将来の体軸は動物極が頭部となり原口側に背側が形成される。

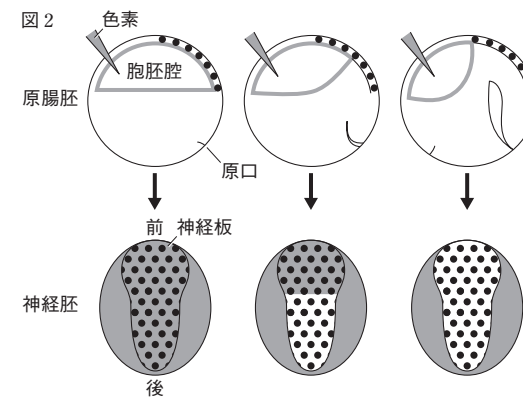
み、動物極に向かって外胚葉(胞胚腔屋根)を裏打ちするようにさかのぼって中胚葉を形成する。特に原口を通る経線に沿ってさかのぼる中胚葉は中軸中胚葉と呼ばれ、将来の脊索になる組織として重要である。この中軸中胚葉は、自身が裏打ちする胞胚腔屋根を神経へと誘導し、さらに己が持つ位置情報をもとに誘導した神経を頭尾軸に沿って領域化することで、将来の中樞神経の基本を作り上げるのである。特に初期原腸胚の原口背唇部は、頭部を誘導することから頭部オーガナイザーとよばれる<sup>1)</sup>。また、最初に陥入が始まる原口は将来の尾部端となる。

両生類の原腸形成過程は長年このように理解されてきたのだが、筆者は、いくつかの実験結果から、新しいモデルを考えるにいたった<sup>2)</sup>。

### 2. 頭部はどこにできるのか

中軸中胚葉は、原腸形成過程の途中で予定頭部神経の先端に到達すると考えられてきたが、どの発生段階に胚のどの部分で頭部が決めるのか明確には分かっていなかった。そこで、実験材料として4種の有尾両生類と6種の無尾両生類の胚を用い、以下の標識実験を行なった。様々な時期の原腸胚の胞胚腔へ色素を注入することで胞胚腔屋根の裏面を生体染色し、神経胚まで育てて染色された領域を観察した(図2)。さかのぼりが始まっていない時期では胞胚腔屋根のすべてが標識され、したがって神経胚の神経板と表皮が染色されるはずである。さかのぼり途上で先端がまだ頭部神経に到達していない時期に標識すれば、神経板の後方はさかのぼった中胚葉

に遮られて染色されず、神経板前方と表皮の染色が確認されるはずである。このように様々な時期に標識を行うと、神経板全体がまったく染色されない胚を得ることが可能となる。どの時期に胞胚腔屋根を



標識すれば神経板が染まらない胚となるのかを知ることで、予定神経先端に中胚葉がさかのぼりを完了した時期が分かる。さて実験の結果だが、内部の組織が予定神経外胚葉を完全に被うのは原腸形成過程のかなり早い時期であることが分かった(アフリカツメガエルで3時間/20時間(原腸形成完了に20時間かかる条件で、原口が出現してから3時間)、アカハライモリで7時間/26時間)。これは、原腸形成過程の早い時期に神経の最前方端にまで中軸中胚葉のさかのぼりが完了していたことを意味する(ここでは、将来の頭部を形成する中軸中胚葉と予定頭部神経の先端が接触した場所、あるいはその時期を「頭端完了」と呼ぶことにする)。この頭端完了期の胚の断面(図3)を見ると、内部組織が接している最前方部は赤道あたりで、内部組織のさかのぼりの形態がまったく見られず、原口が生じたばかりの原腸胚の内部形態と変わらないように見える。

この結果は、かなり早い時期の原腸胚において、胞胚腔屋根は神経にならないことが決定することを意味する。これが正しければ、頭端完了期の胞胚腔屋根をすべて切除して発生を進めたら、神経は先端まで完全に形成され、表皮の一部が欠損するはず

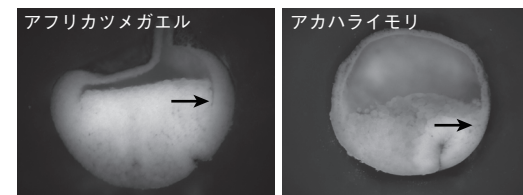


図3 頭端完了期の原腸胚の断面。アフリカツメガエルとアカハライモリ共に、頭端完了期の胚では中軸中胚葉のさかのぼりは見られない。この時期の胞胚腔屋根は神経にはならないことから、将来の頭部は赤道あたりに形成されることが分かる。矢印は「ブラシエーの裂け目」を示す。

である。結果としては予想どおり頭部神経は先端まで形成され、腹側表皮の欠損が見られた(表紙参照)。

### 3. 頭部オーガナイザーは何に由来するか

ここでひとつの疑問が生じる。頭部オーガナイザーは原口背唇部にあるはずである。この原口背唇部領域は、これだけ早い時期にさかのぼりを完了させられるのだろうか?そこで、原口背唇部を標識して動きを見たところ、頭端完了期に赤道までたどり着くことはできなかった。したがって、頭部神経を裏打ちしている組織は原口背唇部由来ではない。また、頭端完了期の胚の内部形態からみても、中軸中胚葉のさかのぼりは頭端完了期にはほとんど起こっていないように見える。それではどのようにしてオーガナイザー組織が予定頭部神経と接することができるのだろうか?

頭端完了期の胚に特徴的な構造として、外胚葉と内部組織(中胚葉)の境界にできた隙間(図3矢印)がある。これを「ブラシエーの裂け目」とよぶ。頭端完了領域での両組織の接触は「ブラシエーの裂け目」を介しており、頭端完了期以前にこの構造は見られないことから、「ブラシエーの裂け目」が頭端完了に重要な意味をもつと考えられる。この構造がいかんして生じるかを考えることが、頭部神経と頭部オーガナイザーがいかんして接触するかを考えると同義であろう。そのためには原腸形成過程の初期に起こっている組織の動きを知る必要がある。原腸形成運動を駆動する主なふたつは「覆いかぶせ運動」と「ベジタルローテーション」である。

覆いかぶせ運動は、胞胚腔屋根が薄くなり、その分だけ面積が増えることにより、動物極付近の細胞が背側赤道へと下りてくる動きである。ベジタルローテーション<sup>3)</sup>は、マントル対流にも似た植物半球背側内部組織の大規模な運動であり、原口背唇部をさかのぼらせる原動力のひとつと考えられている。

原口が出現した瞬間のアフリカツメガエル原腸胚を用い、胞胚腔床の背側領域にビーズを置いて発生を進めると、胞胚腔床の最も背側隅にビーズを置いた場合には「ブラシエーの裂け目」の先端(下端)に、床の背側端から距離をとってビーズを置いた場合にはその距離に応じてブラシエーの裂け目の中程から上端あたりにビーズが分布した(図4)。この事実は、「ブラシエーの裂け目」は覆いかぶせ運動とベジタル

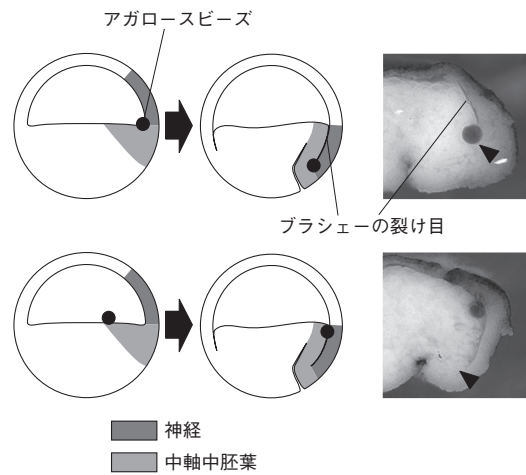


図4 胞胚腔の床にビーズを置くと、頭端完了期のブラシェーの裂け目にビーズが挟まる。これは初期原腸胚の胞胚腔の床が将来の頭部神経を誘導することを意味する。

ローテーションの両方により形成され、胞胚腔床に由来することを示す。頭部オーガナイザーは赤道で予定頭部神経と接することから、頭部オーガナイザーは原口背唇部ではなく胞胚腔床に存在し、胞胚腔屋根から下りてくる予定神経外胚葉と接することを示す。

オーガナイザー特異的遺伝子コーディン(chd)の発現領域の時間的な変化からアカハライモリのオーガナイザーの挙動を可視化してみると、chd発現領域は胞胚腔屋根から胞胚腔床へと広がった。更なる覆いかぶせ運動に伴って床と屋根の間にV字型の谷(溝)ができ、はさみが閉じるように予定神経外胚葉とオーガナイザーが接するようになった。これは、覆いかぶせ運動により、胞胚腔屋根にあるオーガナイザーが胞胚腔床へと広がり、床に広がったオーガナイザーがベジタルローテーションによって神経領域に向かって動くことと解釈できる。

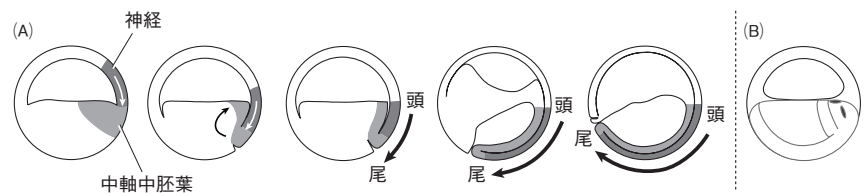


図5 (A) 両生類の原腸形成過程の新しいモデル。後期胞胚で胞胚腔床に存在したオーガナイザーは覆いかぶせ運動(白矢印)とベジタルローテーション(黒細矢印)によって、赤道領域で予定頭部神経と接する。頭部端は互いにずれることなく固定され、体軸は後方へと延びる(黒太矢印)。(B) 初期原腸胚での将来の体軸は原口周辺が頭部となり植物極側に背側が形成される。

#### 4. 新しいモデル

これらの知見を総合してできたのが両生類原腸形成過程の新しいモデルである(図5)。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するはずである。実際に、胞胚腔床を移植した胚は、原口背唇部を移植した胚と同程度の頭部誘導活性を有していた(図6)。様々なオーガナイザー遺伝子の発現領域を調べると、同じ遺伝子が胞胚腔床と原口背唇部に発現していることが確かめられている。また、原口背唇部は予定内胚葉組織であるにも関わらず、腹側に移植すると中軸中胚葉(脊索)になる。このことから、原口背唇部は、腹側に移植されたときには結果的に頭部誘導活性を有するが、それはたまたまそのはたらきを有していただけであり、正常発生においては頭部オーガナイザーとしては機能していないのかもしれない。

また、このモデルによると、頭部オーガナイザーは原腸胚初期からすでに内部に存在するから、外部の標識によっては少なくとも脊索の前方部分から脊索前板あたりは染まらないはずである。Vogtの標識実験の結果<sup>4)</sup>を詳細に見てみると、後期胞胚で動物極から植物極にかけて等間隔で置かれた色素に染まらない中軸中胚葉がある(図7)。おそらくこの領域が、初期原腸胚の胞胚腔床にある「頭部オーガナイザー」に相当するのだろう。Vogtの予定運命図で頭部神経の前端が動物極にあることもさかのぼり運動を支持するきっかけとなったのかもしれないが、これは上述のように覆いかぶせ運動により赤道域に下りてくることで説明される。

さて、ではなぜ中軸中胚葉がさかのぼるモデルが長年定着しているのだろうか? 第一に考えられる理由は、正常発生で原腸形成が完了した時に動物極側に頭部が形成されることである。直感的に「頭部は上に作られる」と感じたのかもしれない。しかし、原腸形成過程は細胞の大移動であり胚の重心変化を伴う。重心が変化すれば、球状の胚は常に重心を真下に向ける方向に転がり、結果として最も安定な状態で維持されるはずである。この安定な配置こそが、頭部

を上に向けた姿勢であると推測できる。しかし、重心の移動によって胚が転がらないようにゼラチンで固めて原腸形成を行わせたところ、新しいモデルに示されている通り、頭部は原口側の赤道付近に、神経板は植物半球に形成された。

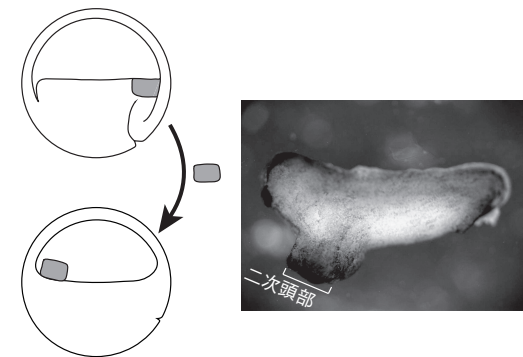


図6 頭端完了期の胞胚腔床を Spemann にならって予定腹側領域に移植したところ二次頭部を誘導したことから、原口背唇部同様に胞胚腔床も頭部オーガナイザーの活性を有することが分かる。

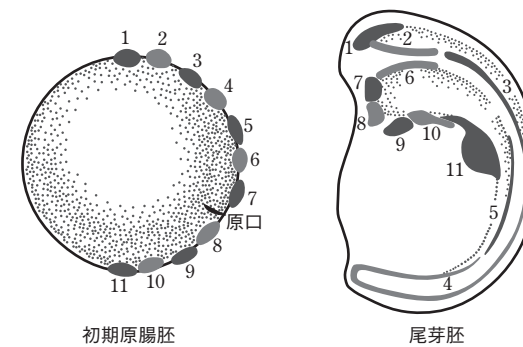


図7 Vogtが後期胞胚の表面に生体染色をし、そのまま尾芽胚まで育てて標識がどこに移動するのか調べたところ、中軸組織にそって連続して並んでいた標識が、5番と6番の間で大きく途切れていた。これが胞胚腔床に存在する「オーガナイザー」に相当するのであろう。

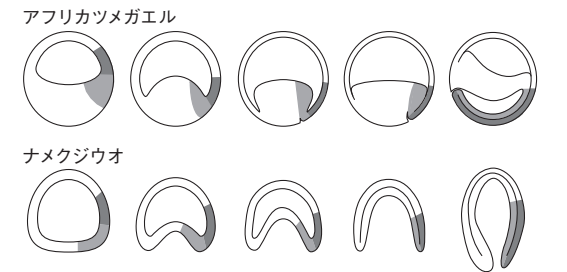
を上に向けた姿勢であると推測できる。しかし、重心の移動によって胚が転がらないようにゼラチンで固めて原腸形成を行わせたところ、新しいモデルに示されている通り、頭部は原口側の赤道付近に、神経板は植物半球に形成された。

もうひとつ重要な点がある。これまで、胞胚腔屋根を裏打ちしてさかのぼる組織はないとして話を進めてきたが、実は赤道を越えて動物極方向に進む組織は存在する。それは内胚葉である。Spemannがオーガナイザーと位置づけた原口背唇部は、常に伸張中の原腸先端部分に存在し、最終的には頭部の最先端に位置する咽頭内胚葉になることが分かっている。これは原口背唇部が頭部神経を追い越してさらに前方部へと進むことを意味する。この内胚葉のさかのぼりを中軸中胚葉のさかのぼりと取り違えたのかもしれない。

#### 5. 終わりに

この新しいモデルをもとに、脊索動物門に属する様々な生物種の前腸形成運動を見ると共通性が浮かび上がってくる。例えば、両生類の初期原腸胚を一部の壁が分厚くなっている中空のボールであると見ると、中空の軟式テニスボールに例えられるナメクジウオ(原索動物)との類似性が見えてきて興味深い(図8)。

図8



種が違うのだから発生様式が異なると当然である一方で、同じ分類群(脊索動物、あるいは脊椎動物)に入る以上は共通の発生様式をとっていても不思議ではない。両者を比較し異なるところをそぎ落としていった後に残るものが普遍性であろう。からだ作りの根幹を担う原腸形成運動の様式が脊椎動物において種を越えて保存されていると考えることは当然と言えば当然かもしれない。今回提示した両生類の新しい原腸形成モデルの視点から、脊椎動物に共通する普遍的モデルの作成に新たな一歩を踏み出したように思う。

#### 参考文献

- 1) Spemann, H., Mangold, H., 1924. Über Induktion von Embryonalanlagen durch Implantation artfremder Organisatoren. *Wilhelm. Roux. Arch. entw. Mech. org.* 100, 599-638
- 2) 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
- 3) Winklbauer, R., Schurfeld, M., 1999. Vegetal rotation, a new gastrulation movement involved in the internalization of the mesoderm and endoderm in *Xenopus*. *Development* 126, 3703-3713.
- 4) Vogt, W., 1929. *Gestaltungsamalyse am Amphibienkeim mit ortlicher Vitalfärbung.* *Arch. Entw. Mech. Organ.* 120, 384-706.