

招待講演 2

ヒト・マウスの器官形成と組織形成における正常と異常

島根大学医学部解剖学講座発生生物学

大谷 浩

Key words

上皮管腔組織
器官形成
組織形成

はじめに

生活習慣病の素因が胎生期に形成されるとのBarker仮説が提唱され、エピジェネティックな機構が成因として注目されている。一方生活習慣病は臓器の機能不全の結果であることから、当教室では、生理機能を支える全身臓器の組織形成過程において生じる、腎臓におけるネフロンのような臓器の機能構造的単位の総数における個人差が疾病の素因形成に関わる、という作業仮説を立てて解析を進めている。

視点を変えると、我々の身体には、神経管として形成が始まる中枢神経系、消化器系およびそこから派生する呼吸器系、別個に発生する泌尿器系および生殖器系など、上皮で裏打ちされた多くの管腔構造が存在する。発生初期に単純な管状構造であった各器官系は、内腔拡大、伸長や折れ曲がりなどを経て大まかな形づくりをし(器官形成)、その後管腔の壁を構成する細胞が分化し、壁の中に層構造を形成する(組織形成)。さらに肝臓や腎臓などの「実質」臓器も、上皮管腔組織から出芽して伸長・分岐を繰り返し、おびただしい数の機能構造的単位を作り出すことによって形成される(組織形成)。これらの臓器の器官形成および組織形成とその維持には、上皮管腔組織としての共通した基本的機構と、各臓器に特有の機構が存在すると考えられる。

このような観点から、上皮管腔組織の分子レベルから臓器・器官、さらに個体レベルまで一貫・連続して理解するため、当教室では、文科省科研費新学術領域研究「上皮管腔組織の形成・維持と破綻における極性シグナル制御の分子基盤の確立」の計画研究の一つ「器官・組織形成期の発生異常に基づく上皮管腔組織形成障害」(<http://shimane-u-developmental-biology.jp/>)を進めている。

ヒト胎生期の概要

ヒト胎生期は大きく4つに区分される。受精後着床までの1週間弱の間に、胚結節(内細胞塊)と栄養膜が分化する。受精後約2から3週には、着床後胚結節に分化が始まって3胚葉が分化し、身体の座標軸(体軸)が決定する。受精後約3から8週は器官形成期と呼ばれ、体軸に沿って身体のおおまかな形作りが起こる。ダイナミックな形態変化の結果、この時期の終わりにはヒトとしての外形的特徴とともに、臓器・器官もおよその形が整い、ほぼ成人と同じ位置に配置される。この形作りの時期に遺伝および環境要因により何らかの障害が胚子におよぶと、形作りの異常、すなわち奇形が生じる。

最後の組織形成期(受精後約9週から生後しばらく)には、各臓器に特徴的な様々な細胞種が分化して、組織の構築が進む。そしてこの過程で、生後我々の身体で働く様々な機能が次第に成熟する。

組織形成と疾病素因の関係—知られざる先天異常—

この時期は胎児期と呼ばれ、身長が増加など、サイズの増大のみが強調されがちである。しかし例えば腎臓では、組織形成期になって初めて、腎臓の機能構造的単位であるネフロンの組織構築の形成が始まる。臓器内における細胞分化と機能構造的単位自体の形成機構は盛んに研究されている。一方、成人の腎臓はネフロンの集合体であり、それら単位の総数は予備能を含む腎機能に直結・比例する。ネフロンの総数は、ヒトでは胎生後期に決まることが知られており、従って生後の腎機能・予備能の基本はすでに出生前に決定される。ところが、ネフロンの数には1.5倍から3倍以上に及ぶ個体差が存在すると報告され、当教室での胎児解剖例でも、同じ大きさの胎児において腎臓のサイズ(ネフロン総数におよそ比例する)に最大数倍にも及ぶ大きな変異があることがわかっている。また、他の臓

器にも同様の大きな個人差が確認されている。このことは、臓器の予備能に大きな個人差があり、それが出生前あるいは生後早期の臓器の組織形成中に決まることを示唆する。同じ生活習慣を維持していても、早々に臓器不全・生活習慣病になってしまう人と臓器に予備能を残したまま天寿を全うする人がいる、あるいは、同様な病理過程を経ても顕性疾患に至る時期に有意差が生じる可能性があり、それらの違いが組織形成中に基本的に決定するということである。現代の長寿社会においては、臓器予備能の低下はいわば遅発性の先天異常とも考えられるが、これまで明確に意識されず、例えば薬剤の安全性試験などでも考慮されていない。そして、その基礎となる機能構造的単位の総数の調節・決定機構は未だ全く明らかになっていない。当教室では、その調節機構の一つとして神経・免疫・内分泌ネットワークの形成とそれによる全身の臓器・器官における組織形成の調節機構について、数理解析法を加えつつ解析して成果を順次発表している（前掲当教室HP）。

十二指腸の器官形成における「新知見」

上皮管腔組織の器官形成の例として、十二指腸について述べる。

器官形成期中期に中腸（上腸間膜動脈の流域）は体幹（腹腔）の成長を超えて著しく伸長し、生理的臍帯ヘルニアが起こる。この時期の十二指腸の正常発生過程において、内腔が一度閉鎖し、その後再開通するという興味深い現象が古くから知られていた。発生学の教科書では、この機構として、上皮細胞が増殖して内腔を詰めて、その後細胞死により再開通する、そしてこの過程の異常が先天性十二指腸閉塞などの奇形を起こす、と記載していた（いる）。しかし、当教室のヒト胚子の解析からその解釈は誤りであることが分かった。内腔の一時的閉鎖と再開通の前後で、細胞増殖や細胞死が特に増えることはなく、実際には、内腔が閉鎖する過程では、十二指腸の径が小さくなり、横断面を構成する上皮細胞の数が少なくなっていた。この所見は、この時期の十二指腸で収斂伸長（convergent extension: CE）と呼ばれる発生現象が起こっていることを示唆した。CEとは、細胞が管腔の中心軸に向かって（極性を持って）再配置されることにより、全体として太く短い管腔構造が細く長い形に変わる現象である。体軸が決定する過程で、最初太く短かった脊索が、細く長く伸びることで我々の前後軸が決まるように、CEは発生過程のいくつかの重要な局面で働くことが知られている。

ヒトから得られた十二指腸上皮組織のCEを示唆する所見について、前述の新学術領域研究により神戸大学の南康博教授と共同して、マウスを用いて実証した。成長因子Wnt5aと、そのチロシンキナーゼ型受容体

Ror2を介したシグナルは細胞の極性のある移動に関わることが知られている。南研究室で作成されたRor2KOマウスの腸管を解析すると、腸管が野生型マウスに比べて太くかつ短縮しており、生理的臍帯ヘルニアが起こらないことが分かった。妊娠11日に野生型では中腸の十二指腸部が伸長して細くなるが、Ror2KOマウスではこれが起こらず太く短いままである。腸管の器官形成に関わる機構のうち、上皮細胞の増殖や細胞死、個々の細胞の大きさや形の変化、細胞分裂の方向について、Ror2KOマウスと野生型の間に有意差は見られなかった。一方、野生型では十二指腸部が細く長くなるのに対応して上皮細胞の配置・分布が変化するのに対して、Ror2KOマウスではそのような細胞分布の変化が見られなかった。したがって、ヒト胚子で示唆されたように、器官形成期に十二指腸がCEによって細長くなるという形態変化を起こすこと、そしてその機構にRor2受容体を介したシグナルが関わるということが明らかとなった。

消化管に加えて尿管についても、基本的に同様の所見を得た。ヒトの腎臓は、最初骨盤の中にあり、器官形成中に急速に相対的な位置上昇が起こり、成人と同じ位置に達するが、この機構も未解明である。この腎臓の「上昇」および関連する多様な腎・尿管の奇形にも尿管上皮組織におけるCEが関わるということが、我々のヒトおよびマウスの観察から示唆されている。

十二指腸・尿管と神経管の初期組織形成に共通した幹細胞増殖調節機構

消化管の光学顕微鏡観察から、従来教科書や論文では、器官形成期中の消化管の上皮は「重層上皮」であると記載されてきた。しかし筆者は、ヒト胚子の光顕および走査型電顕（SEM）観察から、胃の上皮が重層ではなく偽重層であり、本質的には「単層」であると以前から報告していた。全ての上皮細胞の突起が頂表面と基底面の両方に達しているが核の位置が様々であるため、光学顕微鏡では突起は見え位置の異なる核が見え、「重層」と判断されていたのである。同様に中腸上皮が単層であることをSEM観察により確認した。したがって、前述のCEは単層では細胞の再配置は起こり得ないので、実際は細胞核のCE様の再配置であることがわかる。一方、外胚葉由来上皮管腔組織である神経管は、典型的な偽重層上皮であることが古くから知られ、神経上皮細胞が「偽重層」となる機構についても研究が進んでいる。神経幹細胞に当たる神経上皮細胞では、細胞周期と同期して核の位置が移動するinterkinetic nuclear migration (INM)と呼ばれる現象が起こる。頂表面で分裂した後（M期）、基底側へと核が移動し（G1期）、基底側でDNA複製を行った（S期）後、核がまた頂表面側に移動する（G2期）。このように分裂して幹細胞が増えていく一方、娘細胞の一部は

細胞周期から離れ、脳室帯から外へ移動してニューロンやグリアへと分化していく。マウスでは、神経上皮細胞のINMによる分裂は11回で終了することが分かっており、それまでに全ての神経上皮細胞が幹細胞を生み出す分裂周期を終了して、分化の過程に進んでいく。したがって、1回目から11回目までの分裂周期のいつ、どの程度の割合の神経上皮細胞がINMから離脱して分化へと向かうかにより、将来神経細胞に分化する幹細胞の数が決まることになる。早くから多くの細胞が細胞周期から離脱すると、結果残る幹細胞が減ることとなり、最終的には神経細胞の数は減る。逆に細胞が分裂周期から離脱せずに分裂を繰り返すと、それだけ幹細胞のプールが大きくなり、最終的な神経細胞数は多くなる。つまり、このタイミングと量の調節が、脳の神経細胞数の調節に関わることになる(脳ではその後大量の細胞死が起こるため、最終的な脳の神経細胞数には直結しないが)。

では神経管とは異なり内胚葉由来だが、同様に偽重層である中腸の上皮はどうだろうか。筆者はヒト胚子の中腸でも分裂中期像が内腔に接してのみ観察されることに気づき、INMが中腸でも働いているのではないかと考えた。核酸類似体のbromodeoxyuridine (BrdU) をDNA合成期に取り込んだ細胞を免疫染色で観察できる。BrdUを妊娠マウスに投与すると、胚に移行してS期の細胞に取り込まれる。投与後BrdUは代謝されて消えるため、投与時にS期にあった細胞核が、その後どのような挙動を示すか経時的に追跡できる。すると、中腸でも経時的な頂底軸に沿った核の位置の分布変化が観察され、INMが起こっていることが示唆さ

れた。さらに、上皮細胞の核の位置の頂底軸に沿った分布をヒストグラムに表し、多次元尺度構成法を用いてヒストグラムのパターンの経時変化を解析することにより、上皮細胞の核の移動に細胞周期と同期した周期性があることを証明した。しかし、全ての細胞がINMを示す神経管に比べて、中腸では移動する細胞核は一部であることが示唆され、また中胚葉由来の尿管でも類似の上皮細胞核の移動現象を認めたが、周期性は不完全だった。このようにINMは、外胚葉由来の神経管上皮のみならず、内胚葉由来の中腸上皮、中胚葉由来の尿管上皮にも共通して起こる基本的な現象であること、一方その様相は各器官によりかなり異なることが示唆された。INMは、神経上皮では組織形成の基礎となる神経幹細胞の増殖と分化の調節に関わることが明らかとなっている。では腸管や尿管では同様に幹細胞の増殖調節の機能を果たしているのか、それがその後の組織形成にどのように関係するのか、幹細胞数の調節を介した最終的な機能構造的ユニットの総数の調節への関与を含めて解明していく必要がある。

また、Ror2KOマウスの中腸では卵黄腸管の消失遅延が認められ、興味深いことにその近傍に再現性良くINMから離脱して極性を失った上皮細胞塊が観察された。細胞周期と同期して極性制御された形態変化を示す上皮細胞群が、器官の肉眼的形態の形成と維持に寄与していることを示唆する所見である。

これらの所見は全て未だ予備というべきだが、さらなる多面的包括的な解析により、分子レベルから肉眼レベルに至る一貫した臓器の器官形成と組織形成の正常と異常の理解が深まることが期待される。