

形態形成研究部門の4 年

江 口 吾 朗

基礎生物学研究所が創設されて早10年が過ぎたとは、とても信じ難い。名古屋大学から当研究所に移って既に4 年を過したのであるから、不思議がるには及ばぬのではあるが、私がこんな感懷を抱くのは、過去4 年の研究所の変化が激しくて、時の経過を感じる暇がなかったからかも知れない。

発生生物学研究系形態形成研究部門は、最後の固定研究部門として昭和57年度に発足した。私は、同年度も大詰となった昭和58年2月1日付で着任した。当時、研究棟は玄関側から3分の2が完成していた。25年以上も大学人であった勢もあってか、建物の大きさの割に人数の少なさが驚きでもあり、気掛りでもあった。しかし、大学固有の雑務から解放されて——これは認識不足であったのだが——、新しい環境で研究に専念できるという期待も大きかった。それだけに、大学当時に比べいかほど研究を發展させうるか、といった圧迫感もあった。

58年春に、名古屋大学理学研究科を終える児玉隆治君を、最初の協力者として迎えることにしたが、同君着任までの2 か月間は、一人で研究室の創設に携わざるを得なかった。当時の国立大学の事情からは予想すべくもない巨額な創設費をいただいて、それをいかに有効に費やすかが最初の仕事となった。すでに研究所は全体としては整備が進んでおり、最新の研究設備の数々が配備されていた。共通機器として利用しうる設備も充実しており、それらを有効に利用すれば、当分は何不自由なく研究をおこなうことが可能と思われた。『一体何を購入すれば国費の無駄使いにならないか?』が、日夜悩みの種であったことを今でも時折想い出す。ご苦勞をしておられる大学の先生方のお叱りは当然と思えるほど、ぜいたくな悩みを経験したものである。しかし、悩んだ甲斐あって、4 年を経た今日も、利用度の低い研究機器のない研究室の状態を秘かに自負できるのだと思う。

この間、故金谷晴夫先生、藤田善彦先生、鈴木義昭先生をはじめ、多くの諸先生方には筆舌につくし難いお世話をいただいた。岡崎での研究のことから日常生活に至るまで、細々と親身の助言を賜り、たいへん有難かった。また、当時の管理局にあって、管理運営上のお世話に当られた方々、とりわけ、物品購入の実務を担当された小林秀二第2 用度係長のご努力には、敬服を禁じ難いものがあった。

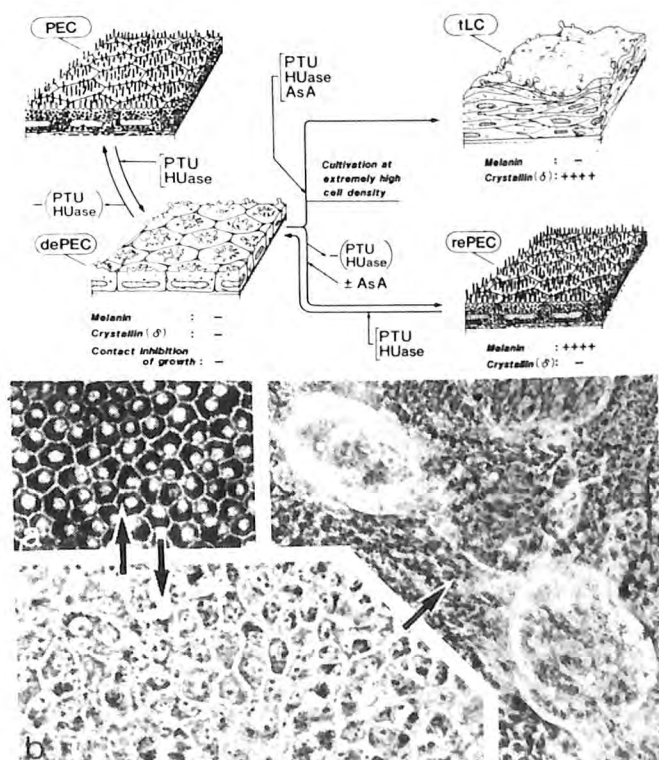
他部門の1 室を借用しての仮住いも、建屋の完成によって58年夏には解消した。児玉隆治助手をはじめ、名古屋大学理学研究科から岡崎に移った受託大学院生諸君の大活躍によって、新しい実験室の整備が急速に進み、同年秋には実質的な研究活動に入ることができたのである。

基生研に移る直前までの名古屋大学での主要な研究課題は、組織細胞の分化転換機構と高次組織形態の構築機構であった。前者については、分化転換のしくみを物質レベルで解明すべく、愛知医科大学伊藤義昭講師らと共に、ニワトリ胚色素上皮細胞を用いた有効な培養実験システムの開発に努めて

いた。また、後者については、鐘紡ガン研究所の本多久夫主任研究員、名古屋大学分子生物学研究施設の尾張部克志博士らの協力を得て、児玉隆治君と共に、色素上皮細胞の上皮構造形成における収縮性環状線維束の機能を解析していた。したがって、基生研での当面の課題については、必然的にこれらを発展的に研究することとした。

ニワトリ胚色素上皮細胞を用いての分化転換の研究はたいへん順調に進展し、この細胞種のレンズ細胞への分化転換を自由に制御しうる培養実験システムが、昭和60年ばでにはほぼ完成した。この研究の過程で、分化転換現象の成立と、その調節機構を分子レベルで探究するための研究計画が生れた。この間、昭和59年12月には阿形清和君が助手として加わり、60年4月には福井医科大学の渡辺憲二助教授（61年5月16日付で形態形成研究部門の助教授に就任）の出自を要請して、研究室の人的充実を計り、鋭意研究活動を展開した。

さて、私たちの研究室で完成されたニワトリ胚色素上皮細胞の培養実験システム（図1）は、きわめてユニークなものとなった。このシステムでは、色素上皮細胞のレンズ細胞への分化転換の全過程が忠実に再現されるばかりでなく、各過程を完全に人為制御することも可能である。また、現在のところ少くとも2種の異なる細胞種に分化する、多能的脱分化細胞の均一集団を大量に作出することが可能である。形態形成研究部門では、この実験システムを駆使しての研究に主力を注ぎ、今日までに、発生生物学的に意義深い下記のような成果を蓄積することができた。



(1) 環境条件に応じて多分化能を発現する色素上皮細胞由来の脱分化細胞は、ギャップ結合による細胞間連絡を失い、互いに密に接し合っているにもかかわらず、活発な増殖を続けて重層化し、解糖呼吸を営み、がん細胞類似の細胞特性を示す。さらに、この細胞状態では、myc - 遺伝子が活発に発現されているのみならず、レンズ細胞が特異的に産生する δ -クリスタリンの遺伝子が転写され、転写産物の mRNA へのプロセシングが抑止されている。しかし、脱分化状態で δ -クリスタリン遺伝子と同様な発現様式を呈する色素上皮細胞に特異的な産物の遺伝子は、現在のところ見いだされていない。

(2) 脱分化細胞に分化を仕向けると、myc - 遺伝子は急速に不活性化され、ギャップ結合による細胞間連絡が成立して、増殖の接触阻止性も回復する。色素上皮細胞への再分化（図 1 参照）にともない、 δ -クリスタリン遺伝子は急激に不活性化され、色素上皮細胞で特異的に発現される遺伝子群の転写とプロセシングが進む。一方、レンズ細胞への分化を仕向けると（図 1 参照）、蓄積されていた δ -クリスタリン遺伝子の転写産物のプロセシングが急速に進み、 δ -クリスタリン mRNA の蓄積と共に、 δ -クリスタリンの合成と蓄積がおこる。

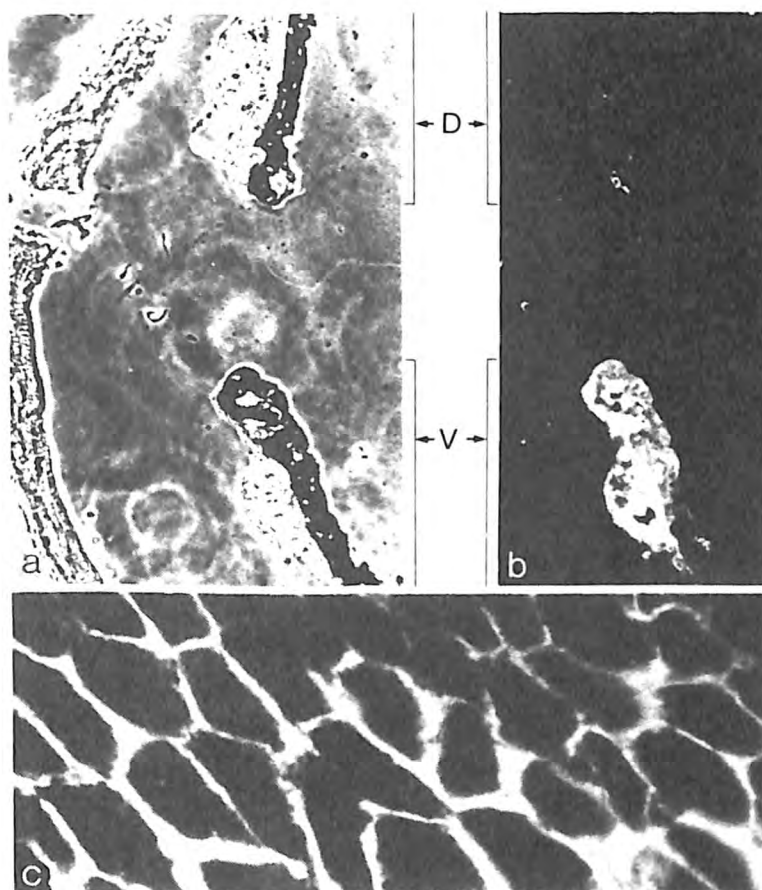
(3) このような性状を示す脱分化細胞の多分化能の発現は、細胞の加齢と深く関連する。継代培養で維持される場合、平均的分裂回数が15回前後までは多分化能を安定に維持しているが、分裂を重ねるほど色素上皮細胞への分化能を失い、最終的にはレンズ細胞のみにしか分化できなくなる。

これらの成果は、個体発生に伴う細胞の特異化の胚細胞が経由する多能的未分化状態を遺伝子レベルで理解するための、貴重な基礎を与えると考える。さらに、私たちが確立した実験システムは、単に細胞の分化や分化転換を物質レベルで研究するのに有効であるのみならず、細胞の分裂増殖及び加齢と分化形質発現との関連性や、細胞の正常な分裂増殖と分化におけるがん遺伝子の機能などを探究するにも、きわめて有効なシステムであることを物語っていると考えている。

ところで、イモリという動物は発生研究の古典を支えた立役者である。この動物は、再生力のきわめて強い動物としても良く知られているが、形態形成研究部門の今日の研究課題は、実はこの動物に特徴的なレンズの再生現象に根ざしているのである。

イモリのレンズが虹彩上皮の特定の部域（瞳孔の上縁部——虹彩上縁ともいう）からしか再生されないことは、古くから実験的に示されている。一種類の色素上皮細胞によって構成されているにも拘らず、虹彩上皮の他の部域からはレンズは決して再生されないのである。しかし、解離細胞を培養する細胞培養の条件下では、虹彩のどの部域の色素上皮細胞でも一様にレンズ細胞に分化転換し、レンズ様体を形成するのである。つまり、生体系ではレンズを決して再生することのない虹彩域の上皮細胞にも、レンズ細胞への分化転換能が保持されているということであって、虹彩上縁以外の部域では、色素上皮細胞のそのような潜在能の発現が、何らかのしくみで完全に抑制されているのである。私はかねてより、イモリの虹彩色素上皮組織で示されるこのような機能的部域差は、細胞相互間の接着やコミュニケーションの度合と深く関連するに相違ないと考えてきた。そして、このような考え方が、ニワトリ胚やヒト胎児の色素上皮細胞を培養する素地となり、研究の発展につながったのも事実である。

形態形成研究部門では、細胞培養を主要な研究手段のひとつとしているが、上のような見地から



“生体系で物を見る”ということも常に心掛けています。そのような努力と若い人達の絶大な協力が稔り、ごく最近、再生の制御に関与すると思われるきわめて興味深い分子の存在が、示唆されるに至った。それは下記のような単クローン抗体の作出に成功したことである。

イモリの虹彩組織のホモジェネートでマウスを免疫し、常法に従って約2,000種のハイブリドーマを作出した。そそれらを詳細に検定選別し、2種の興味深いハイブリドーマ(2NI-12, 2NI-36)をクローン化した。これらのハイブリドーマが産生する単クローン抗体, 2NI-12及び2NI-36は、虹彩上皮に特異的ではなく、角膜基質、脈絡膜細胞などとも反応し、抗原分子の分布は広い。しかし、レンズを摘出すると、将来レンズ再生のおこる虹彩上縁部のみで抗原分子が消退しはじめ、3-5日後には殆んど検出できなくなる(図2)。レンズを摘出して7日ほど経つと、虹彩上縁部で脱分化した色素上皮細胞が分裂増殖をはじめ、10日目頃までにレンズの原基(水晶体胞)を形成する。この水晶体胞が形成されるころから再び抗原分子が検出されるようになる。また、この抗原分子は、細胞表面あるいは細胞間に分布することも明らかにされた(図2)。

虹彩色素上皮上縁部での、細胞間結合の消失と脱色素といったレンズ再生の具体的な初期変化は、レンズ摘出後3日前後にはじまる。この事実に着目して考察すると、上述の調査結果は、レンズの再生過程で虹彩のレンズ再生部域の初期変化と連動して消長を遂げる、細胞表面もしくは細胞間の分子の存在を端的に示している。また、実際に変化する虹彩上縁部以外に広く分布するこの抗原分子が、レンズ再生部域のみで特異的に変動することは、この分子の再生における細胞の脱組織化への普遍的な関与の可能性を強く示唆している。

話題を再びニワトリ胚色素上皮細胞に戻すことにする。私たちが材料に用いているのは、8-10日令のニワトリ胚で、イモリで見られるようなレンズ再生はもはや決して成立しない。色素上皮細胞は相互にギャップ結合によって連絡し安定な単層上皮構造を構築している。このようなニワトリ胚色素上皮細胞を解離して培養すると、イモリの細胞と同じように、レンズ細胞に分化転換しレンズ様体を形成するのである。レンズ細胞への分化転換の過程で色素上皮細胞が経由する脱分化状態では、細胞が密に接触し合っているが、ギャップ結合は失われている。しかし、脱分化細胞がレンズ細胞に分化すると、ギャップ結合は再び形成される。ギャップ結合による細胞間コミュニケーションの分化転換過程における変化とその意義を明らかにするために、レンズ細胞に特異的なギャップ結合分子、MP28の遺伝子が、児玉、阿形両君の努力によってクローン化され、その構造と機能の解析が進められている。

イモリやニワトリ胚の色素上皮細胞についてここに紹介してきた成果は、今後当研究部門が近い将来の主要課題として取り組もうとしている、“再生現象に代表されるような発生や形態形成における調整性（隔通性）の分子的基础の確立”といった課題研究の礎石となるもので、本研究部門の研究には明るい展望が開けつつあると思うのである。

当研究部門の今一つの課題、“高次組織形態の構築機構”についての具体的成果に触れるゆとりはなかったが、この課題についても評価すべき成果を蓄積してきた。このように、本研究部門の研究は、4年を経て漸く軌道に乗り、生産的段階に立至ったと客観的にもお認めいただけると思う。しかし、今日の生物科学の進歩のテンポからすれば、4か年と言えども決して短期間ではない。むしろ、一仕事も2仕事も仕遂げうるに足るほどの長期間と言わなければならない。研究所の創設10周年を機に、ことにその点を深く反省し、折角の研究環境を無にすることなく、研究所本来の目的にかなう成果を挙げるべく、精進したい。

（形態形成研究部門教授）