

学術俯瞰講義

奥深さと美しさによる全体像

可能性が生まれる

発生物学からみた
生命科学
浅島 誠

東京大学大学院総合文化研究科 教授



分子モーターから見た
生命科学
廣川 信隆

東京大学大学院医学系研究科長



ウイルスからみた
生命科学
野本 明男

東京大学大学院医学系研究科 教授



ゲノムから見た
生命科学
黒岩 常祥

東京大学名誉教授



主題科目/
テーマ講義

生命の科学

構造と機能の調和

10月16日→1月29日

月曜日 5時限 16時20分▶17時50分
駒場キャンパス 18号館ホール

学術俯瞰講義

平成18年度冬学期講義「生命の科学」

「発生生物学からみた生命科学」

第1回 10月16日(月)卵から親への形づくりのメカニズム

第2回 10月23日(月)生体情報システムとネットワークづくり

第3回 10月30日(月)器官形成のしくみ

第4回 11月6日(月)再生の科学



浅島 誠

(東京大学大学院総合文化研究科 教授)

※:このマークが付してある著作物は、第三者が有する著作物ですので、同著作物の再使用、同著作物の二次的著作物の創作等については、著作権者より直接使用許諾を得る必要があります。

「再生」とは何か？

- ・ 失われた細胞・組織・器官を再構成すること。
- ・ 生物の最も生物らしい生命現象のひとつである。
- ・ 再生に関する研究対象には3つの側面がある。

① 生理的な再生 髪, 爪, 毛, 血球など恒常性の維持

例: 赤血球 → 1秒あたり200万個作られては壊されている。

② 損傷の再生 損傷 → 修復 → 復元(再生)

例 ・ 傷の治癒, 肝臓の再生など
・ イモリ肢の切断に見られる再生
(生体の持つ再生力)

③ 生体外での再生

①, ②の知見もふまえつつ、人工的な環境下で、未分化細胞から組織や器官をつくるという新しい再生科学の方向性。



薬では治らない怪我や病気に対する新しい治療としての再生医療へつながる、器官形成・組織形成を目的とした新しい分野。

再生と幹細胞

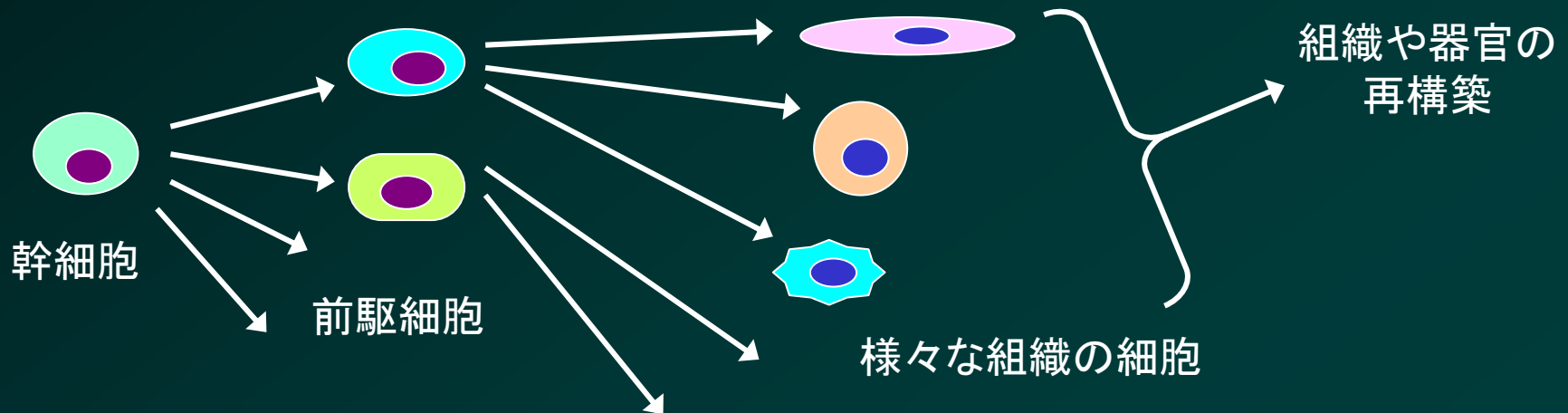
幹細胞 (Stem Cells) ;

未分化状態を保ちながら、様々な種類の細胞へと分化する能力(分化多能性)をもつ細胞。



失われた組織や器官を再構成する基になる細胞

- ・ 成体においても各組織は幹細胞を含んでいる。
(皮膚, 毛根, 腸, 筋肉や脳にもある。)
- ・ 幹細胞の分化能力は組織・器官や種によって様々である。



様々な動物で見られる再生現象とその研究

ヒドラ(腔腸動物)

プラナリア(扁形動物)

ヒメミミズ(環形動物)

コオロギ(節足動物)

イモリ・アホロートル(脊椎動物) など

腔腸動物における再生現象

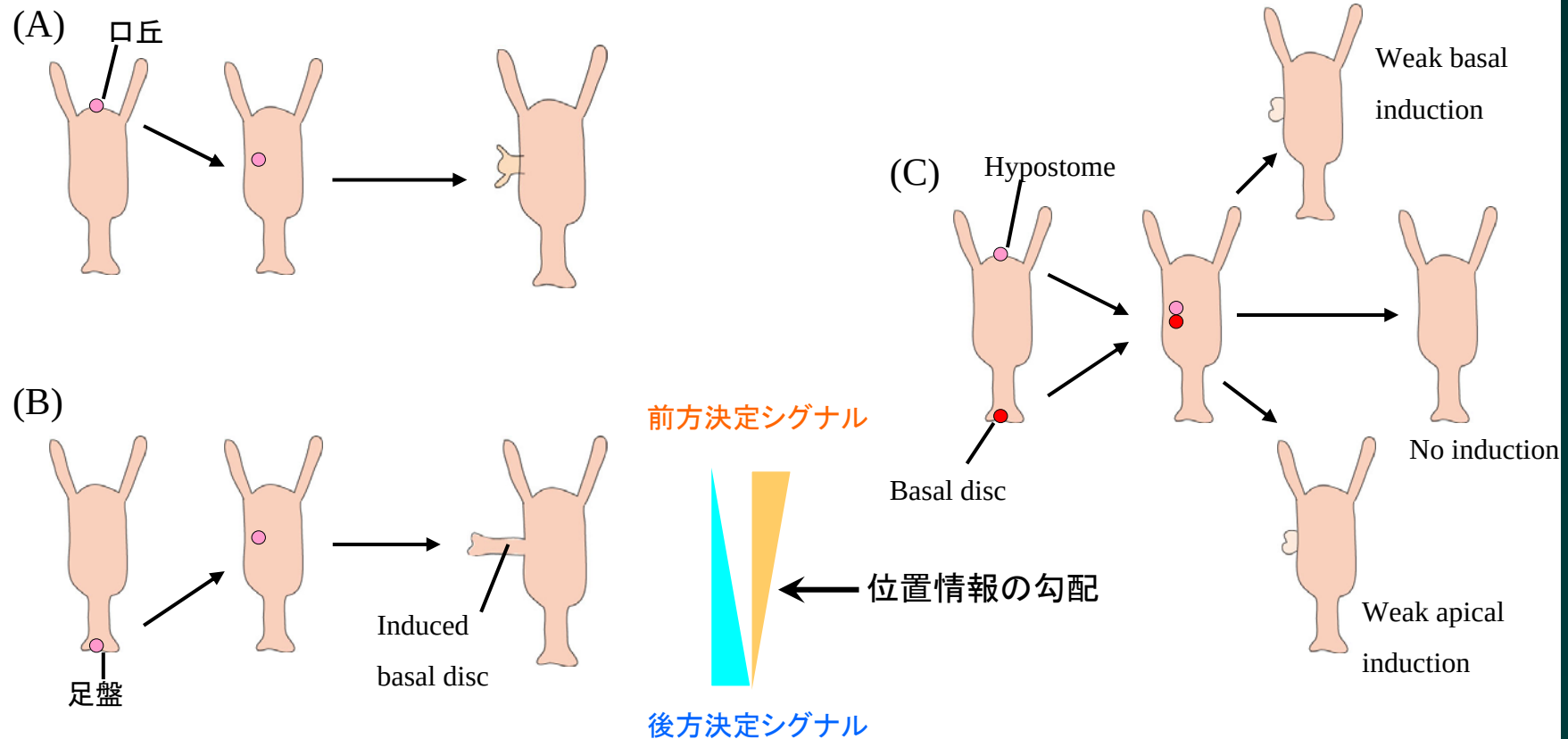
ヒドラの例

ヒドラは出芽によって増える



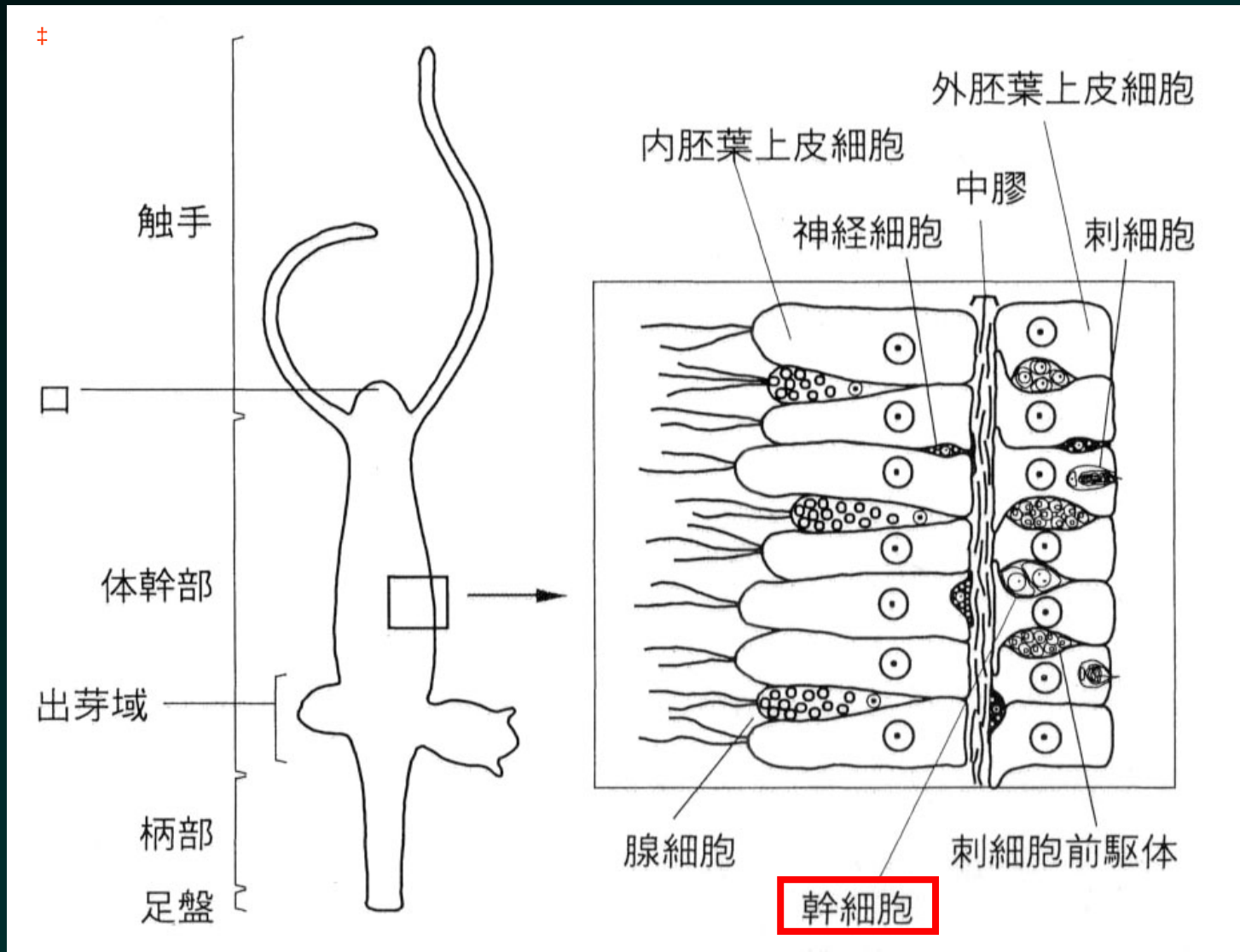
ヒドラの出芽は、同じ個体を新たに作ることである

ヒドラの出芽における位置情報は 移植した領域に依存する



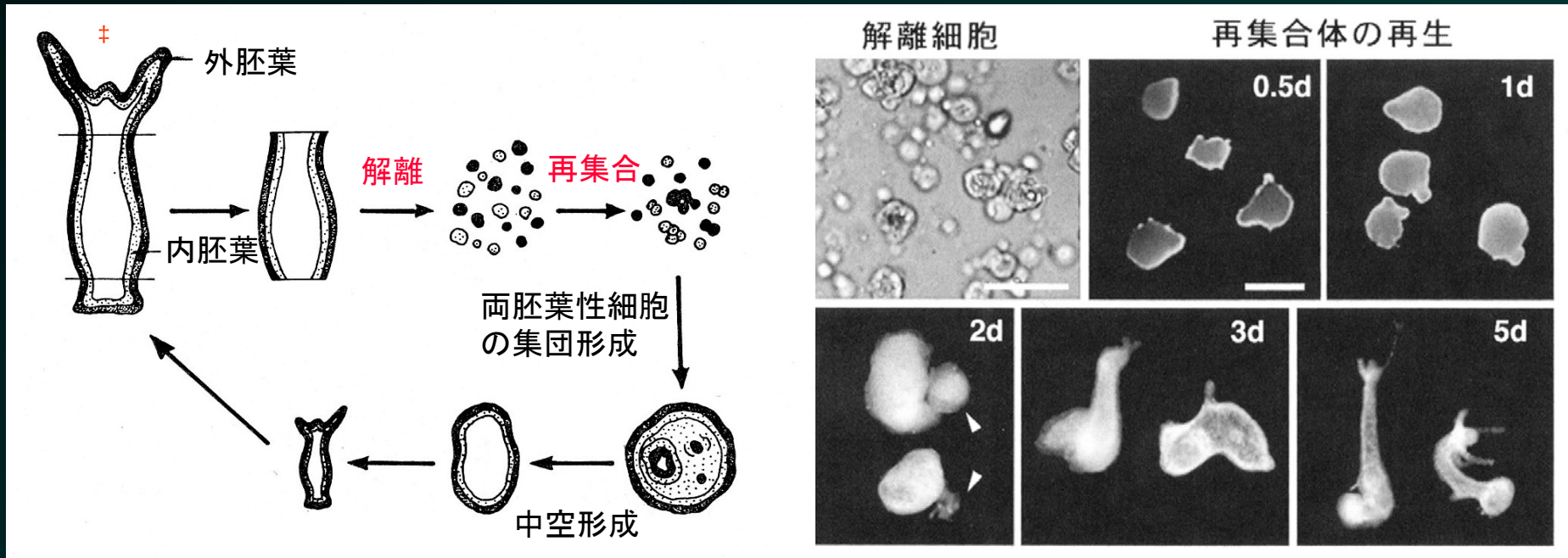
口丘を移植すると頭部が，足盤を移植すると足部が生える。

ヒドラの幹細胞は体中に散在する



ヒドラの解離再集合と再生

浅島誠・碓井益雄著「発生とその仕組み」p148-第68図 昭和58年 出光書店

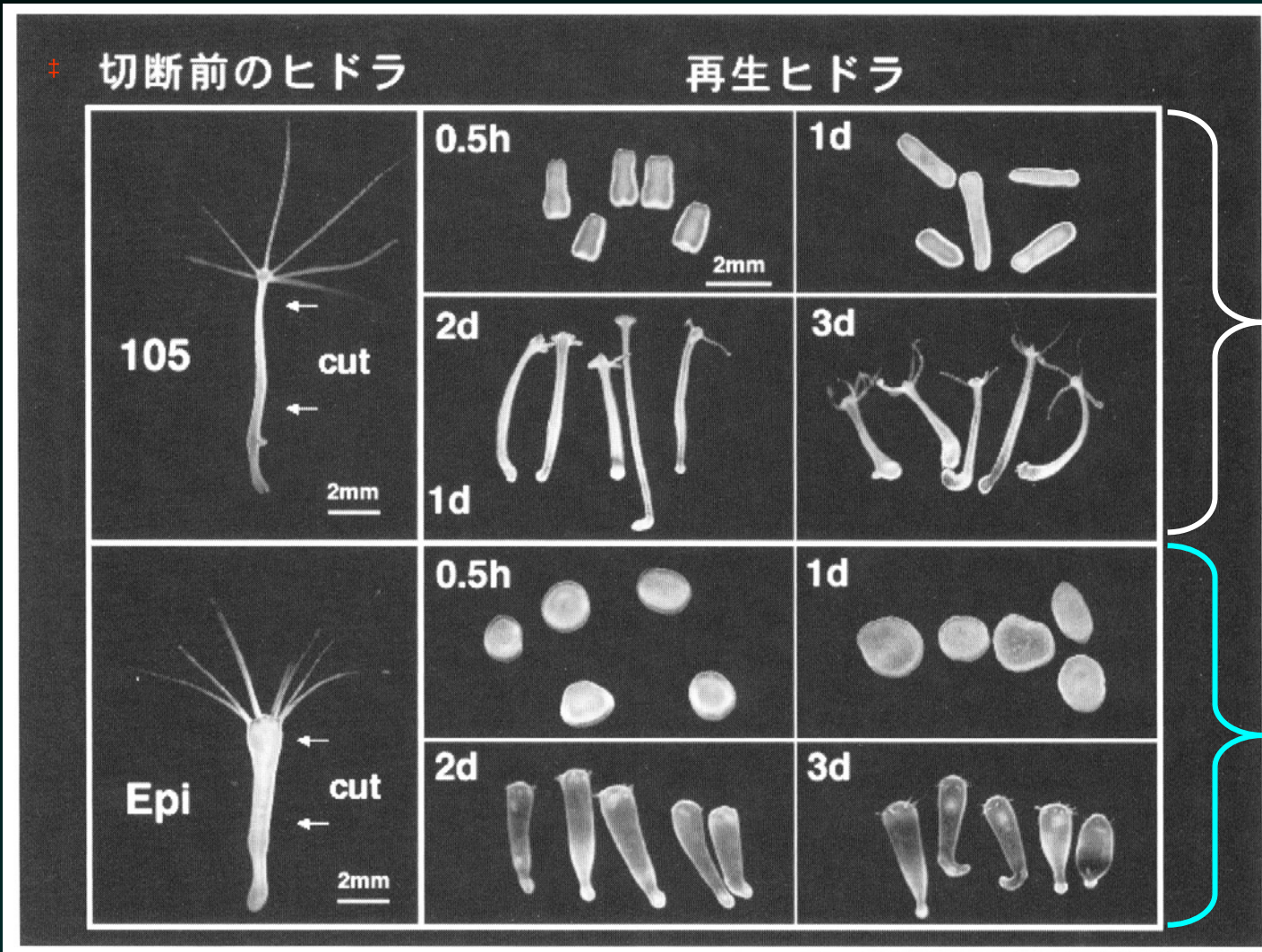


ヒドラの解離と再構成の模式図

生物の科学 遺伝 別冊No.13「発生・分化・再生」p7-図1 (藤澤敏孝の稿), 2001 裳華房

ヒドラは細胞レベルまで解離しても、
再集合させると再び個体として再生する。

ヒドラの形態の再生は幹細胞に依存しない



正常なヒドラの再生

幹細胞を死滅させた
ヒドラの再生
(神経などの構造は
再生しない。)

生物の科学 遺伝 別冊No.13「発生・分化・再生」p9-図3 (藤澤敏孝の稿), 2001 裳華房

ヒドラの形態だけの再生なら、上皮細胞だけで充分である。
しかし、完全な構造と機能の回復には、幹細胞が必要である。

ヒドラの形態の方向性を決めているものは何か？

生物の科学 遺伝 別冊No.13「発生・分化・再生」カラー扉絵 p1・右上の写真 2001 裳華房



ヒドラ頭部再生に関わる
ペプチドHym-301の発現

10～20残基程度のアミノ酸からなるペプチドの類が
頭部形成や足部形成を制御しているらしい。

足部形成の制御：Hym-323, Hym-346



足部再生の初期から働くことが分かっている。

頭部形成の制御：Hym-301



頭部再生の途中で働く。触手形成に関与する。

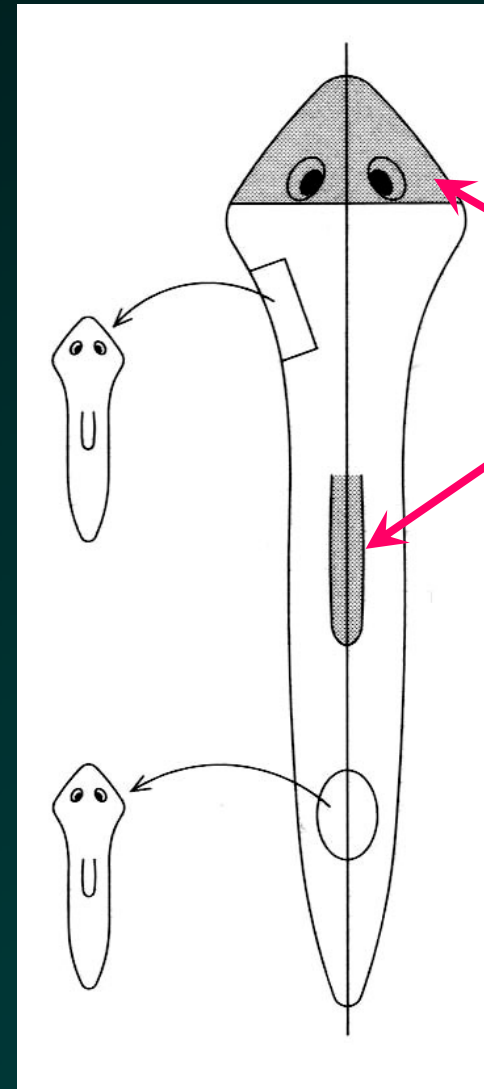
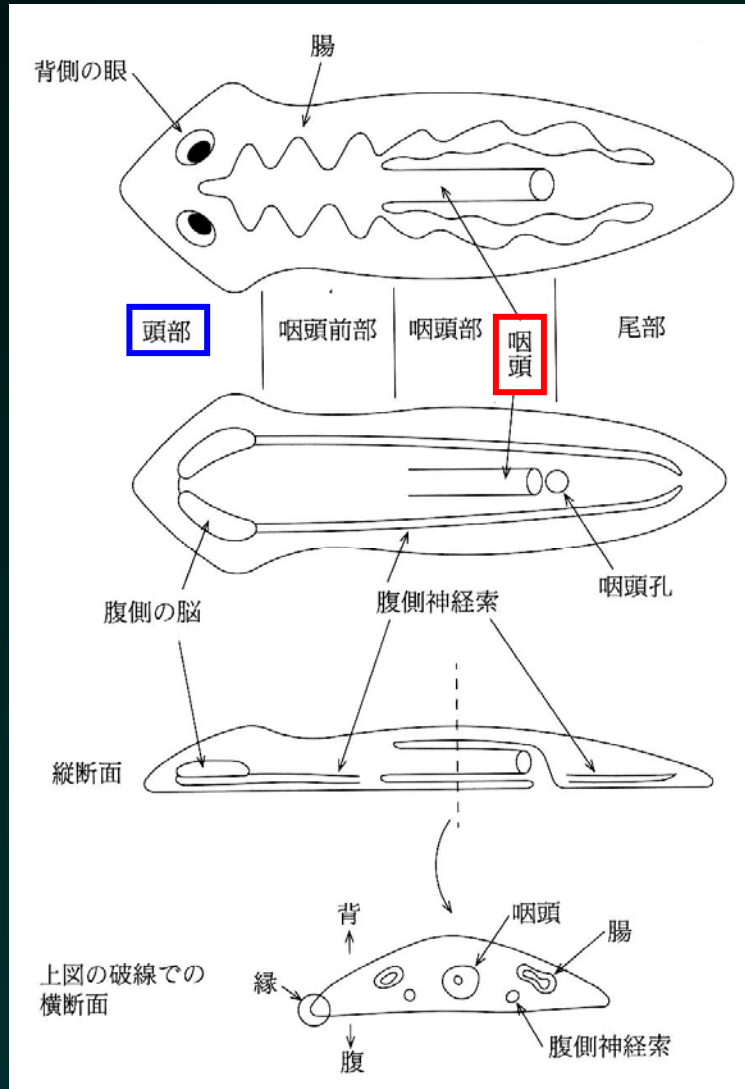
ヒドラの再生メカニズムについてはまだ不明な点が多い。

扁形動物における再生現象

プラナリアの例

プラナリアは極めて高い再生能力をもつ

プラナリアの構造



頭部前方
幹細胞が
存在しない
領域

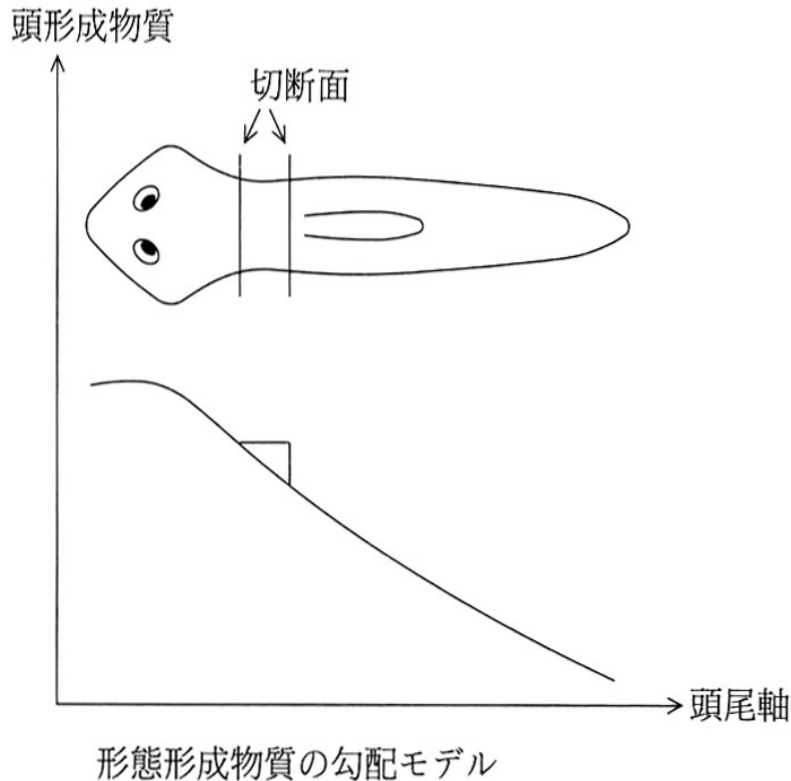
咽頭

生物の科学 遺伝 別冊
No.13「発生・分化・再生」
p15-図1, p18-図7, (渡辺憲
二の稿), 2001 裳華房

プラナリアは頭部の前方と咽頭以外の領域(幹細胞を含む領域)であれば、背腹を含んだ断片からは全身を再生できる。

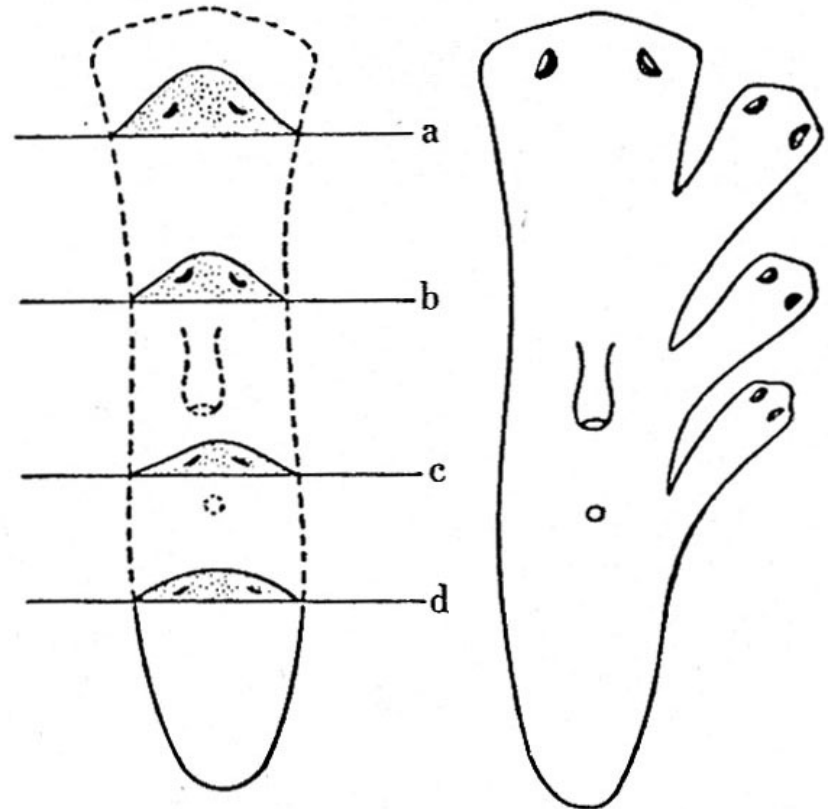
プラナリアの再生における位置情報①

プラナリアの前後軸を決める勾配モデル



生物の科学 遺伝 別冊No.13「発生・分化・再生」p17-図5 (渡辺憲二), 2001 裳華房

前後軸を決めている物質や機構についてはまだ良く分かっていない。

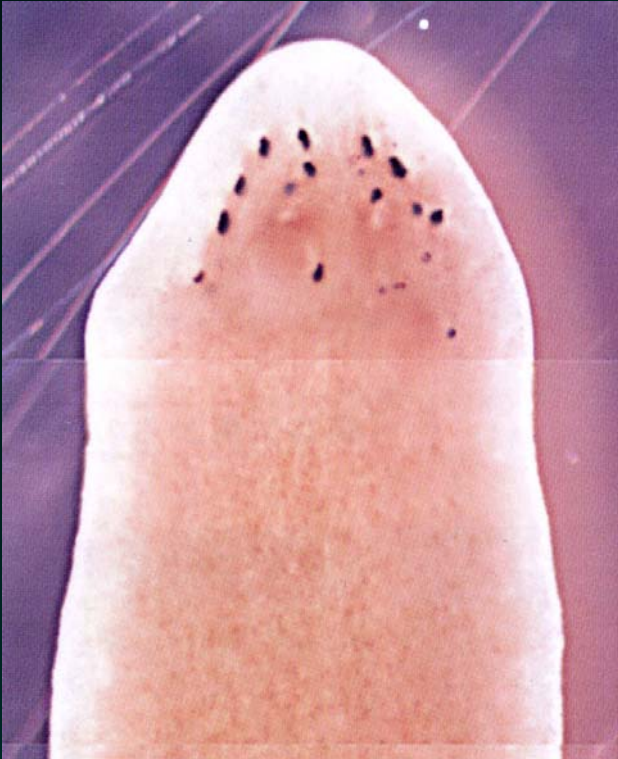


浅島誠・碓井益雄著「発生とその仕組み」p153-第71図 昭和58年 出光書店

側面に前方に向けた傷をつけた場合、傷の数だけ新しい頭部が形成される。

プラナリアにおける幹細胞の異常

生物の科学 遺伝 別冊No.13「発生・分化・再生」カラー扉絵 p1・右中の写真 2001 裳華房



幹細胞の異常によって
多眼になったプラナリア

プラナリアの再生には体内の幹細胞が大きな役割を果たしている。

再生現象は発生における形態形成を一部再現していると考えられる。

プラナリアにおける再生のメカニズムを解明するために、**幹細胞の異常による変異個体の解析**が進められている。



今後の課題；
幹細胞の多能性を決めているものは何か？
再生における細胞間の作用はどのようなものか？

環形動物における再生現象

ヤマトヒメミミズの例

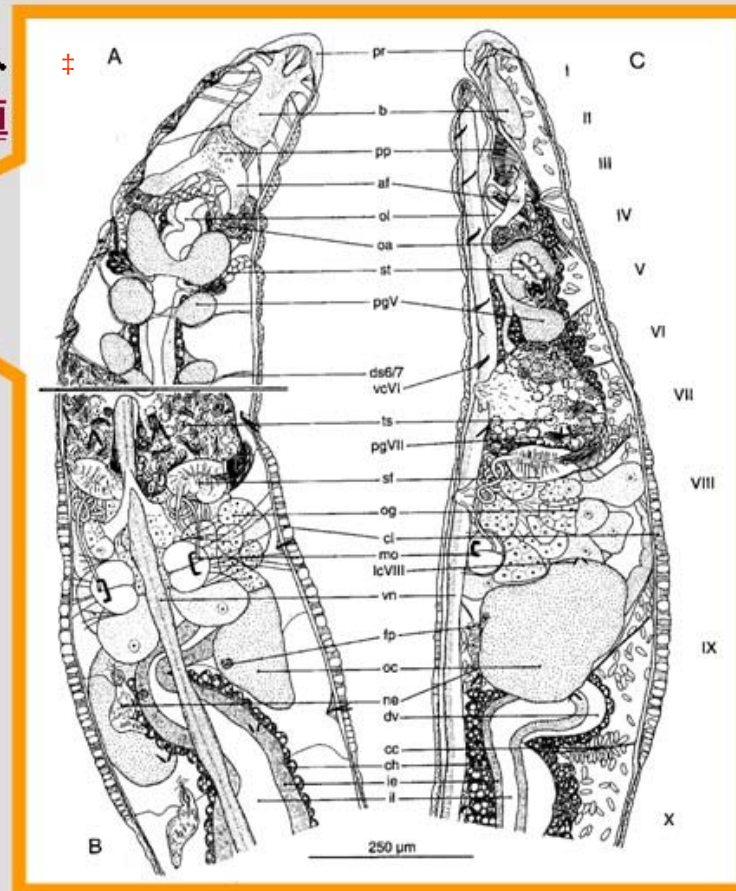
ヒメミミズは高い再生能力を持つ

ヒメミミズとは何か

- ・体長1cm以下の白いミミズ
- ・世界に数百種
- ・そのうちヤマトヒメミミズを含む8種が碎片分離による無性生殖をする。



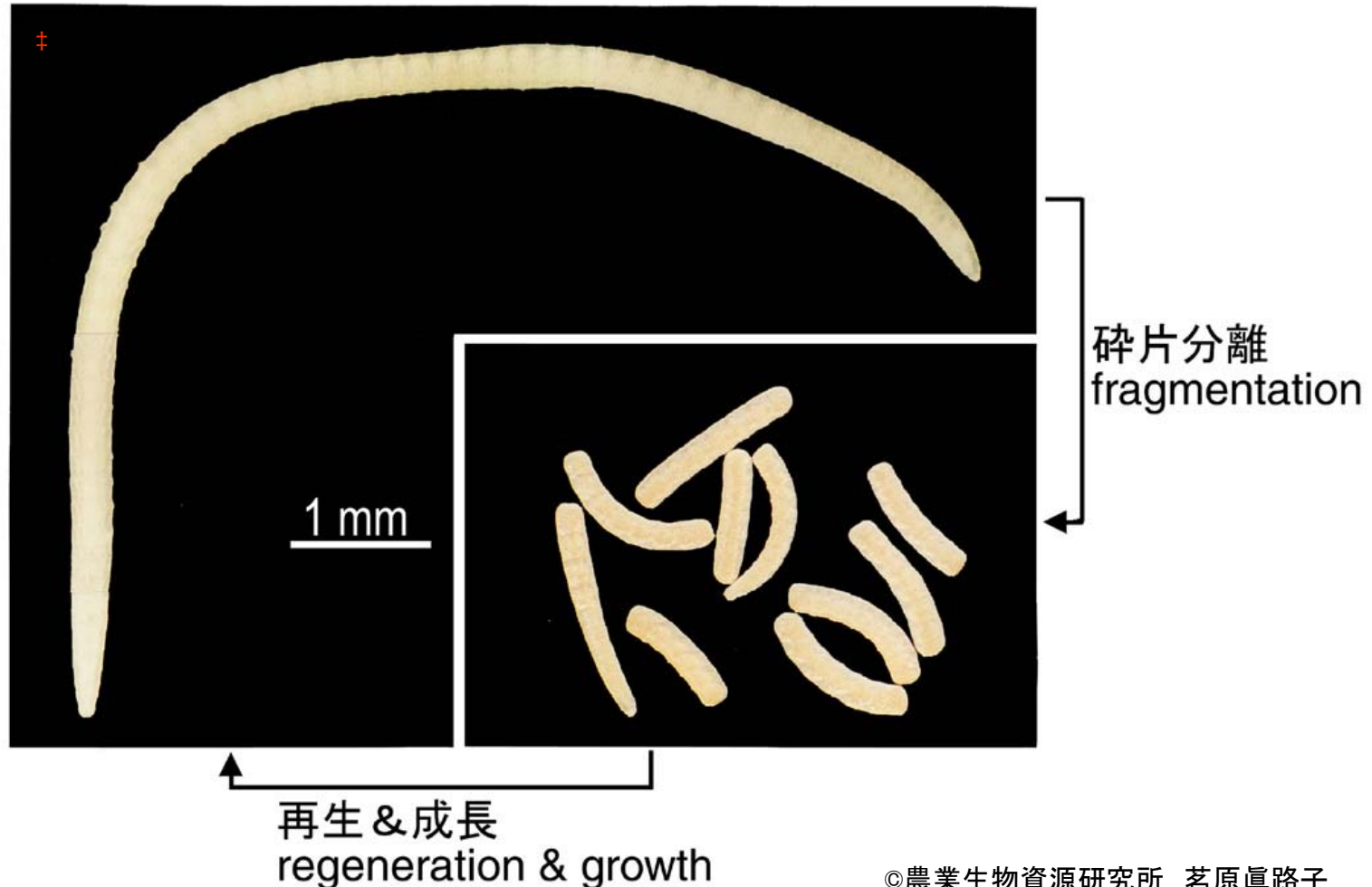
・しかし体の内部造は決して単純ではない。



ヤマトヒメミミズの破片分離による再生

ヤマトヒメミミズ（環形動物・貧毛類）

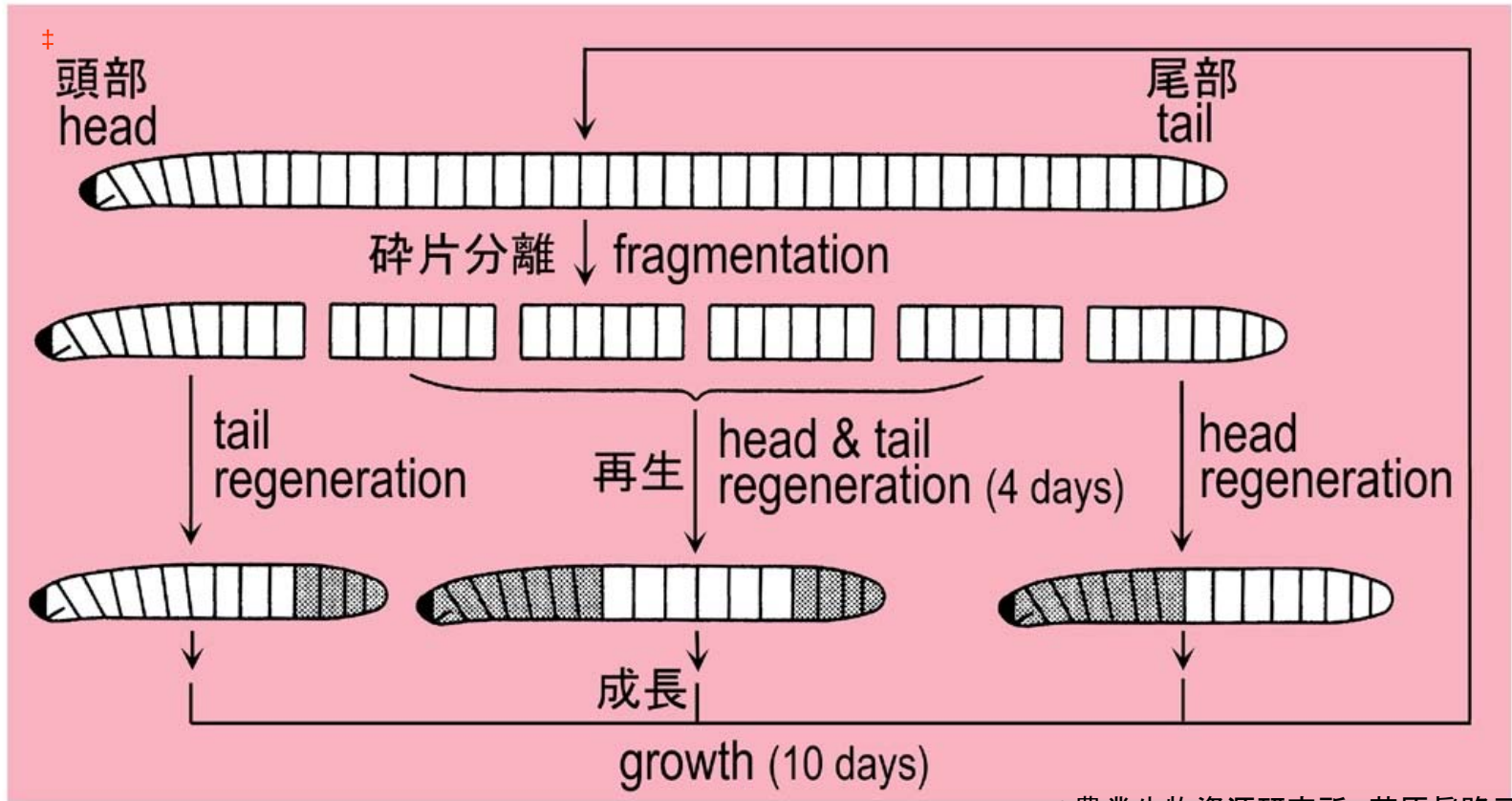
Enchytraeus japonensis (Oligochaeta, Annelida)



ヤマトヒメミミズの無性生殖

ヤマトヒメミミズの無性生殖

Asexual reproduction of *Enchytraeus japonensis* (25°C)

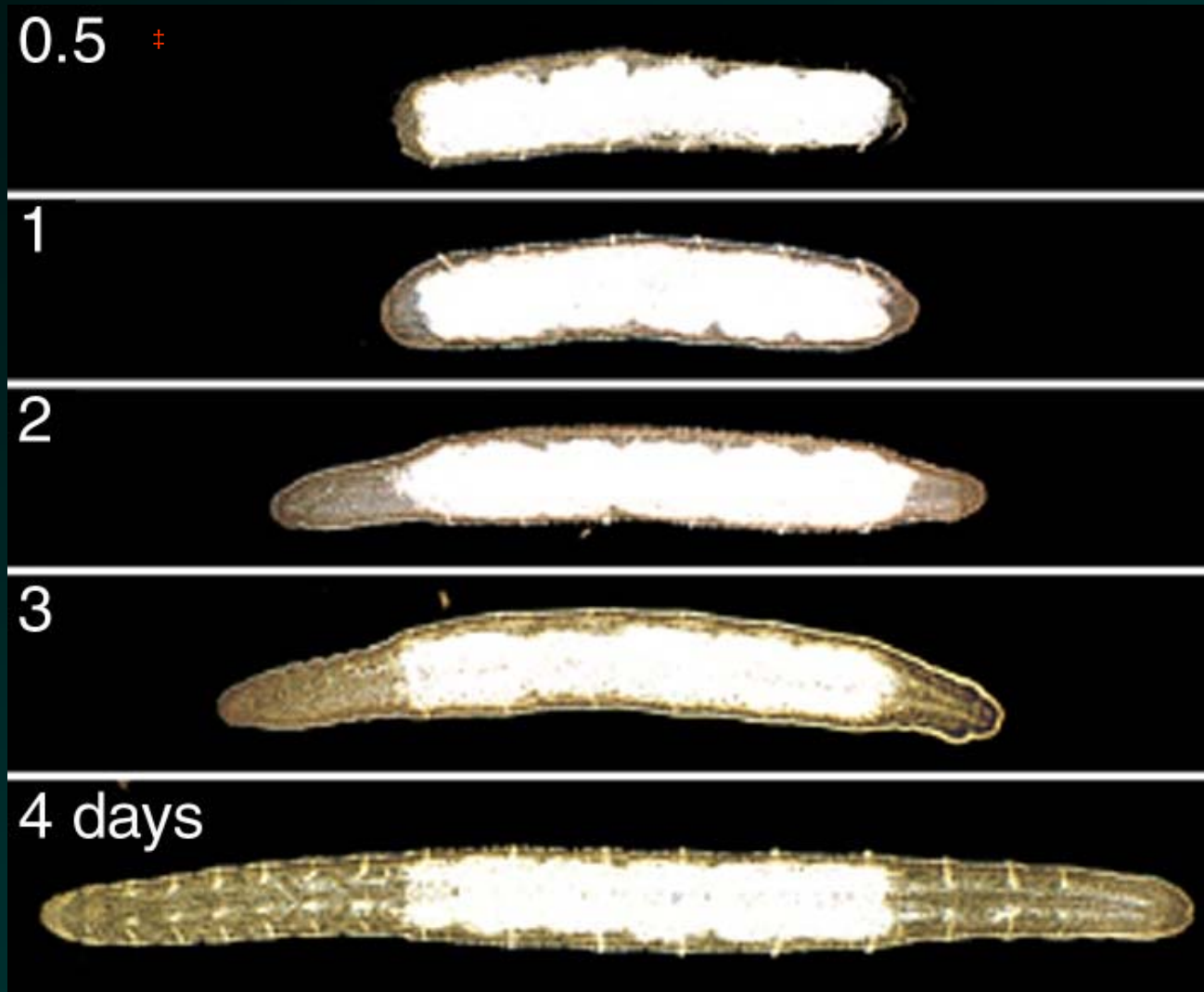


©農業生物資源研究所 茗原眞路子

「自切」によってクローンとして増えてゆくメカニズム

→ 「再生」が、通常の生殖活動に組み込まれている。

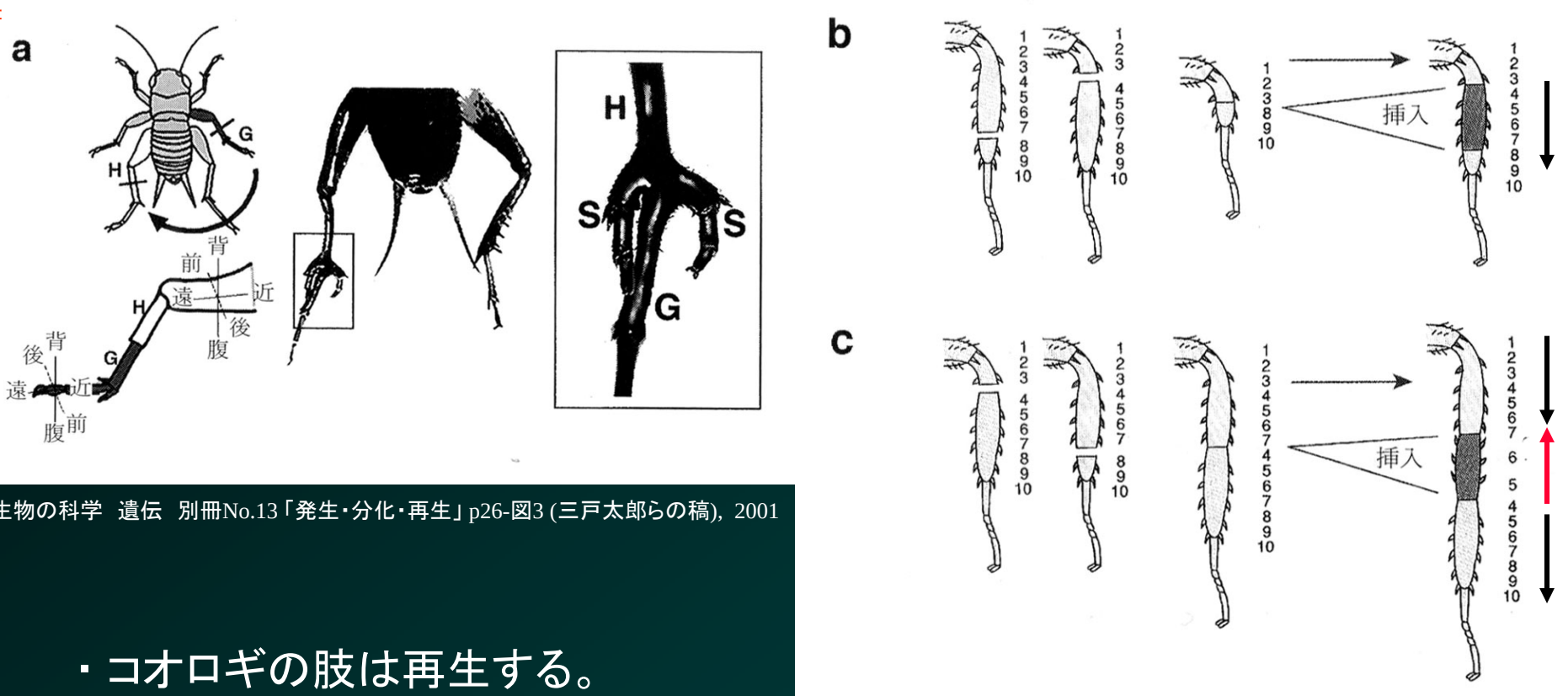
ヤマトヒメミミズの再生①



節足動物における再生現象

コオロギの例

コオロギの肢には明確な位置情報が存在する



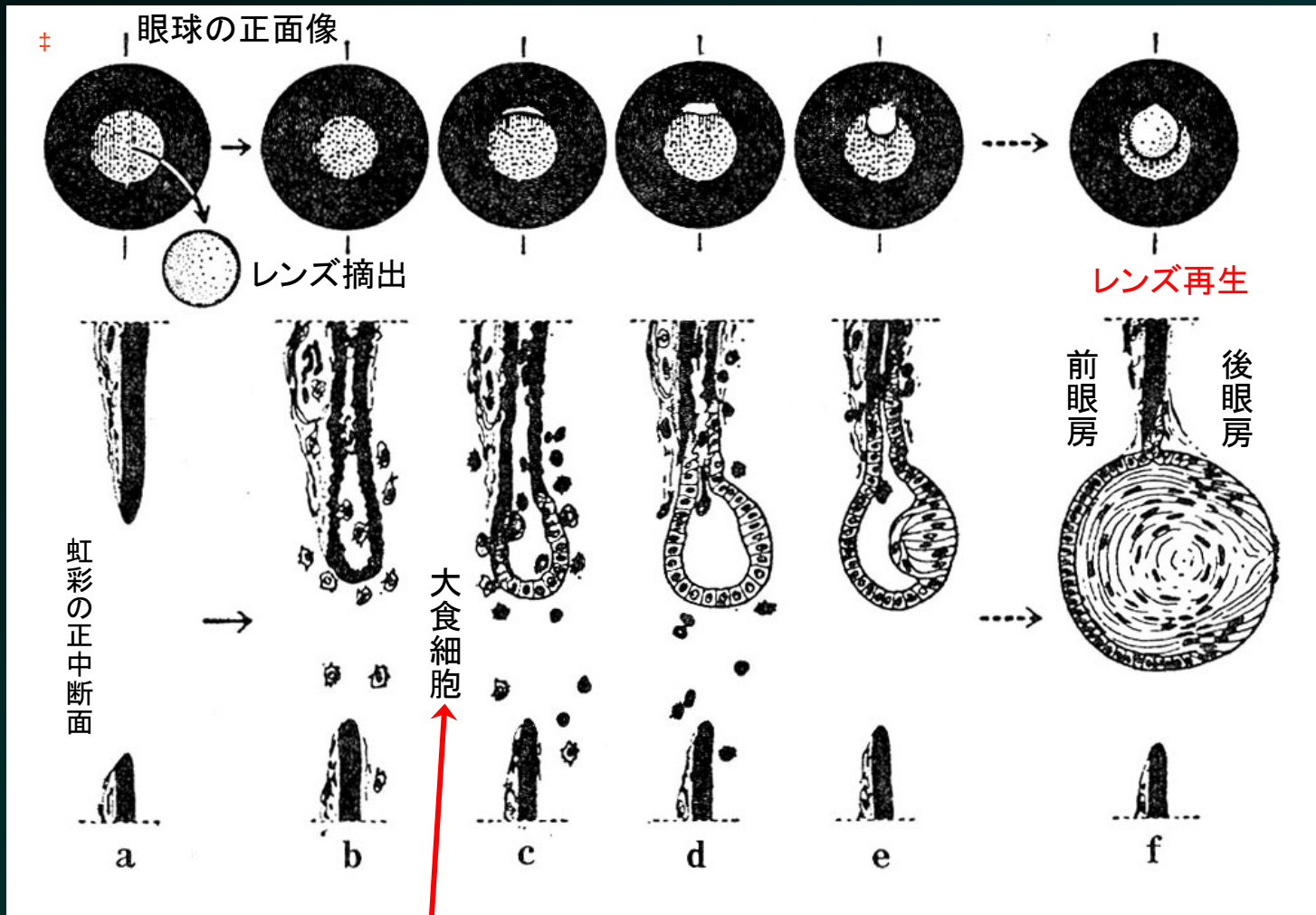
生物の科学 遺伝 別冊No.13「発生・分化・再生」p26-図3 (三戸太郎らの稿), 2001

- ・ コオロギの肢は再生する。
- ・ 前方の肢を切断し後方の肢の切断領域へ前後が逆になるように移植すると、位置情報の乱れによって過剰肢が生ずる。
- ・ 同じ部域の肢を切断・移植した場合、再生する領域の向きは接合部前後の位置情報の連続性に従う。

脊椎動物における再生現象

イモリ・アホロートルの例

イモリにおけるレンズ再生



大食細胞によるメラニン色素顆粒の貪食 浅島誠・碓井益雄著「発生とその仕組み」p162-第76図 昭和58年 出光書店

イモリでは上側(背側)の虹彩色素上皮細胞からレンズが再生する。

イモリにおける手足の再生

著作権処理の都合で、
この場所に挿入されていた
“イモリの写真”を省略させていただきます。

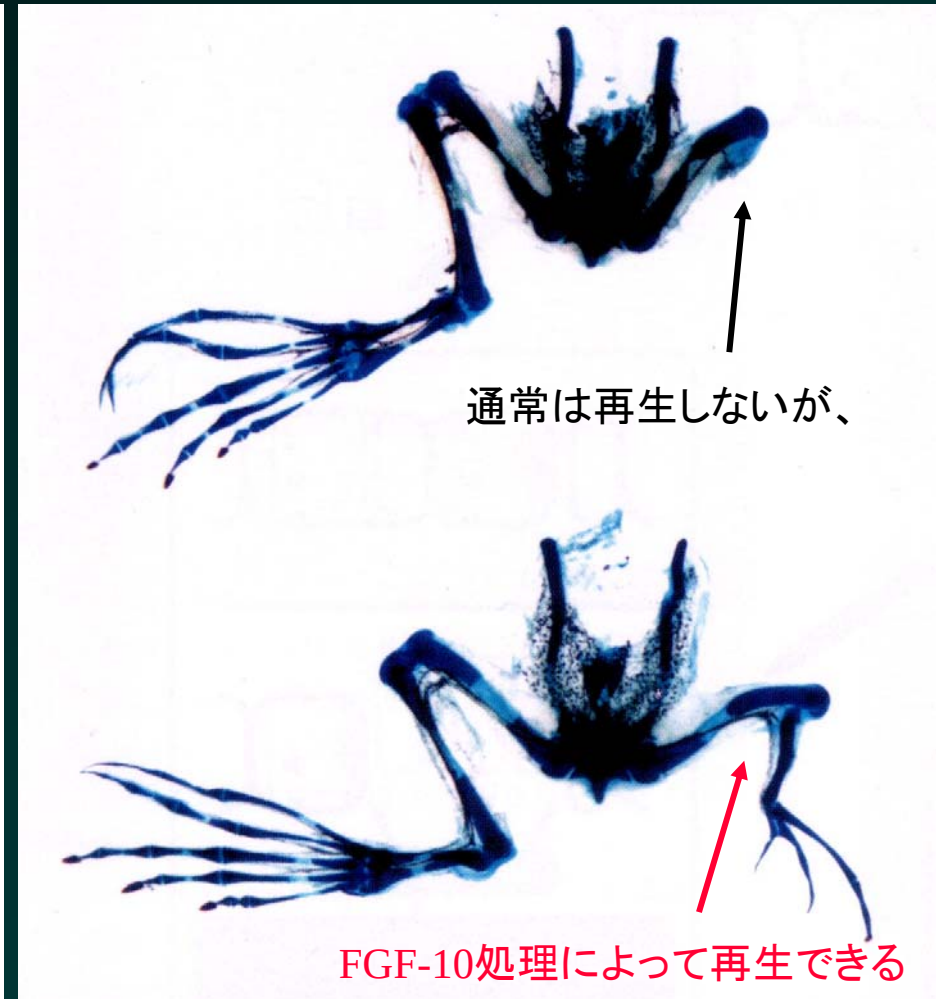
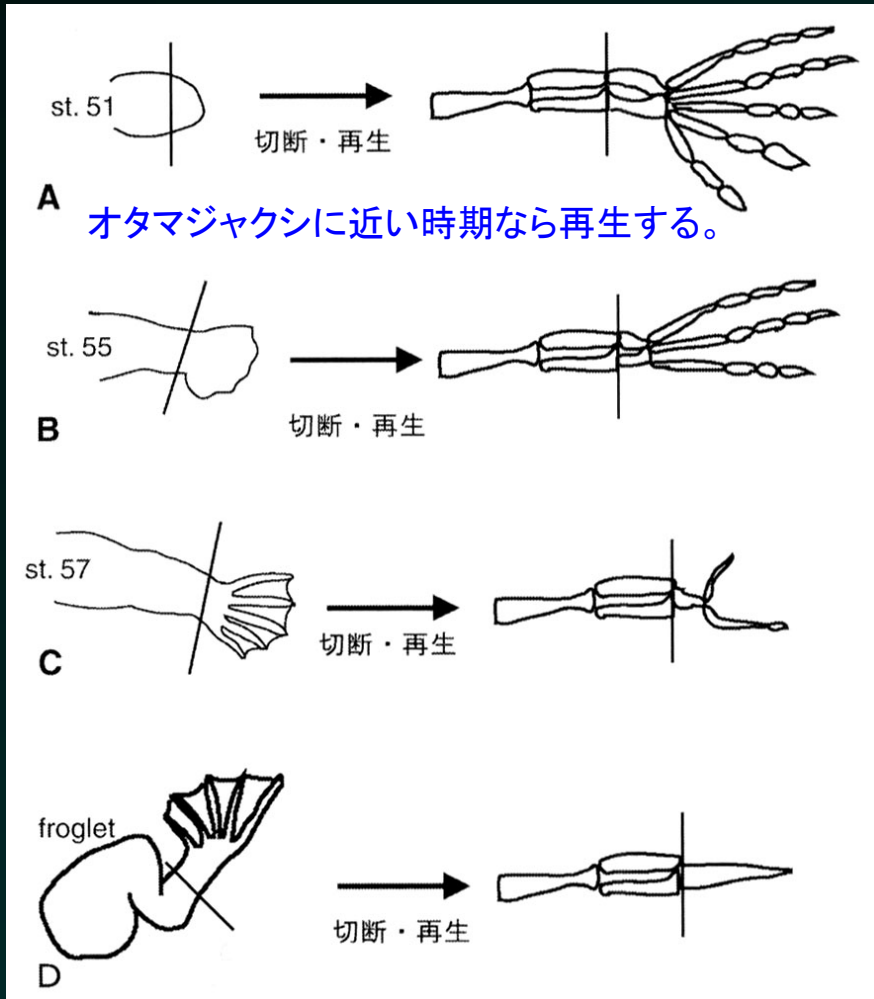
イモリの手足の再生能力は極めて高い。

有尾類(イモリ)は再生するが、無尾類(カエル)は再生能力が低い。

イモリの手の再生に見られる組織の変化

著作権処理の都合で、
この場所に挿入されていた
“イモリの手の写真”を
省略させていただきます。

カエルにおける手足の再生



生物の科学 遺伝 別冊No.13「発生・分化・再生」p43-図2 (横山仁らの稿)

生物の科学 遺伝 別冊No.13「発生・分化・再生」カラー扉絵 p1

カエルの再生能力は発生の進行に従って低下する。
カエルの手足の再生能力はFGF-10処理によって復活できる。

様々な動物が良く似た遺伝子の組み合わせで発生する。

では、再生する動物としない動物の違いは何か？



分らない。



- 仮説
- ・ 遺伝子の働きや調節に何らかの違いがある。
 - ・ 幹細胞の存在する場所や数が違う。

モデル生物の再生研究における課題

- ・ 再生における幹細胞の役割とその挙動の解明。
- ・ 再生における位置情報の決定メカニズムの解明。
- ・ 再生をつかさどる因子の同定とその働きの解明。

哺乳類における組織幹細胞と再生

皮膚・毛・小腸上皮・筋肉・神経などにも
組織幹細胞が存在する

ヒトは怪我等による体の欠損を再生しないのか？

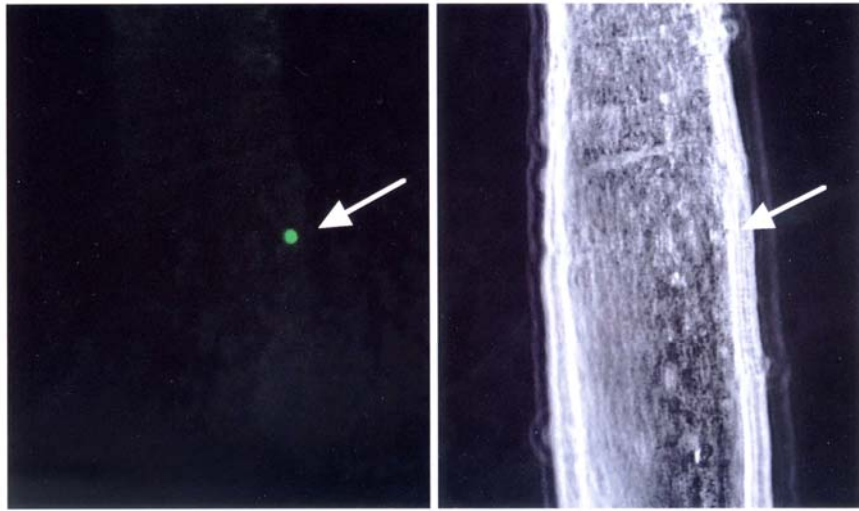
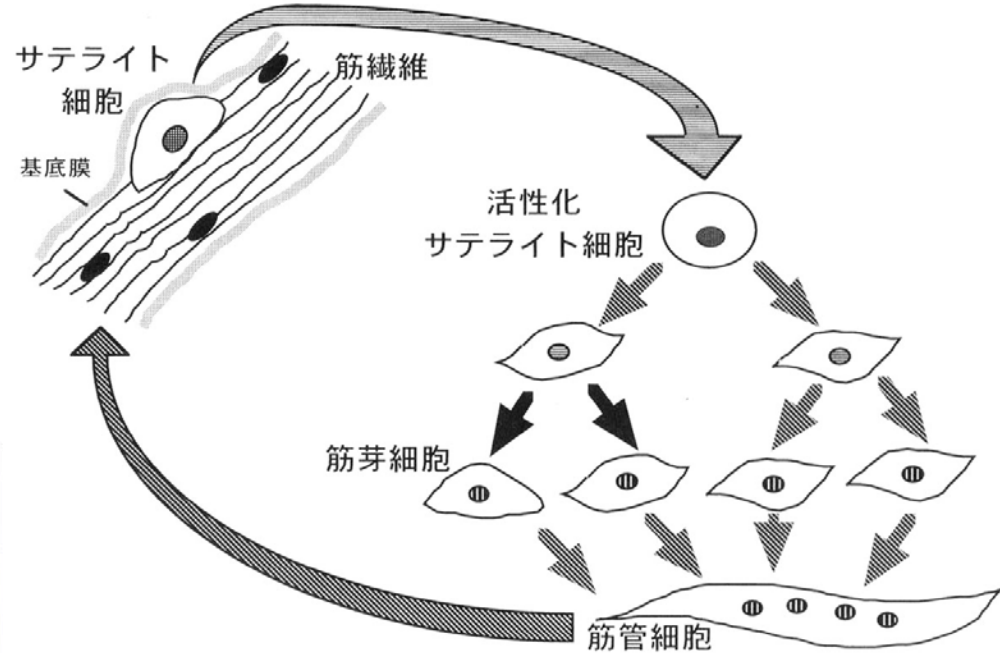
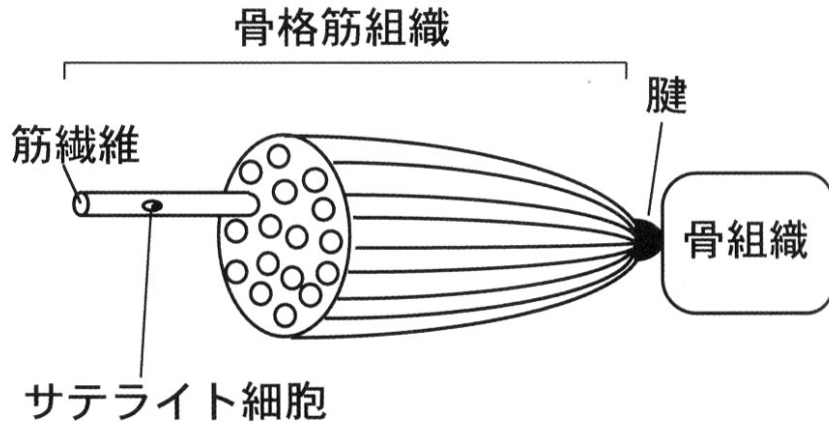
- ① ヒトでも簡単な傷なら治る。
- ② 体の恒常性は常に細胞が入れ替わることで維持される。

例 { 血球は常に壊され続け、新たに産生される。
皮膚は常に新しい細胞が入れ替わっている。
毛髪はつねに抜け替わりつつ新しく生える。
小腸の上皮も細胞が頻繁に入れ替わる。
筋肉も損傷を受けると回復する。

細胞の新陳代謝のメカニズムは組織幹細胞が担っている。

最近では脳や眼などにも組織幹細胞があることが分かってきた。

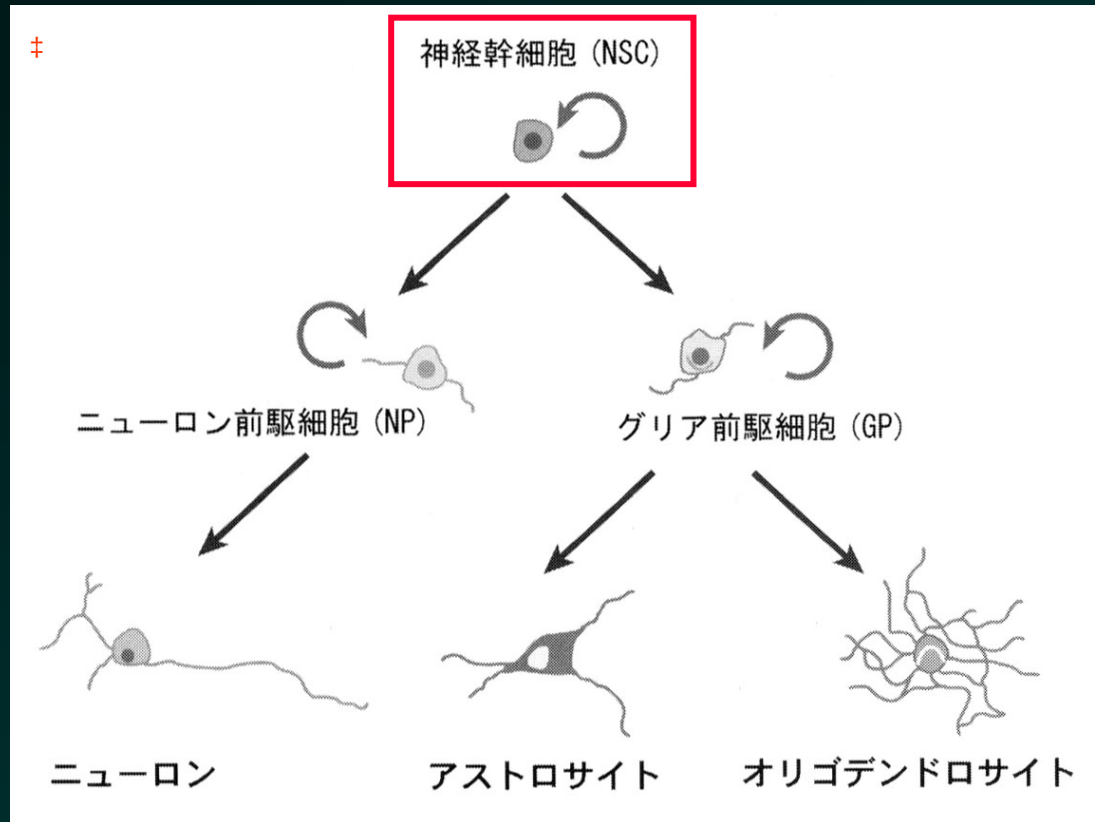
筋肉における組織幹細胞



筋肉にはサテライト細胞と呼ばれる幹細胞が存在し、筋肉の損傷を回復させている。

脳における神経幹細胞

成人の脳にも幹細胞がある。



生物の科学 遺伝 別冊No.13「発生・分化・再生」p72-図1 (吉崎崇仁らの稿), 2001 裳華房

神経幹細胞はあらゆる神経系の細胞に分化できる能力を持つ。

将来的にはドーパミン性ニューロンを人為的に分化させてパーキンソン病の治療に用いるなどの応用が考えられている。

眼球における組織幹細胞の候補

著作権処理の都合で、
この場所に挿入されていた
“眼球の組織図解”を
省略させていただきます。

CMZ: ciliary marginal zone (毛様体周縁部)

眼球にも分裂する細胞が存在し、網膜の幹細胞として用いられる可能性がある。

眼球内の幹細胞を取り出して培養し、眼に戻して視力を回復させる可能性が検討されている。

幹細胞を用いた再生医療の方向性

細胞移植や治癒能力の促進だけでは、
一定以上の大きさの欠損の再生は難しい。



通常の創傷治癒としては再生しない器官を
補うために、人為的に人体の細胞を用いて
器官を構成できないか？



「生体外での器官形成による再生医療」という発想へ

器官発生の研究における発想の転換

これまで

正常な器官形成における現象を観察・解析する。



今 後

人為的な器官形成の再現系を開発し、この再現系の解析によって器官形成のメカニズムを理解し、
人為的な器官形成の手法を開発する。

幹細胞の分類と研究上の問題

幹細胞：未分化状態を保ちながら、様々な種類の細胞へと分化する能力(分化多能性)をもつ細胞。

胚性幹細胞(ES 細胞)

- ・ 分化全能性をもつ。
- ・ 胚由来の為、ヒトの場合は倫理的問題がある。
- ・ 移植するとガン(テラトーマ)が発生する。

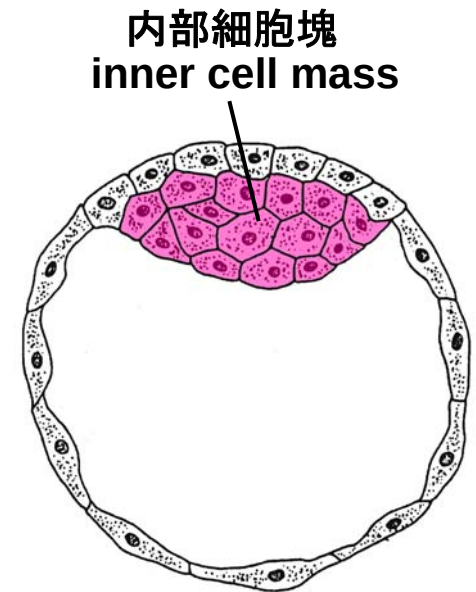
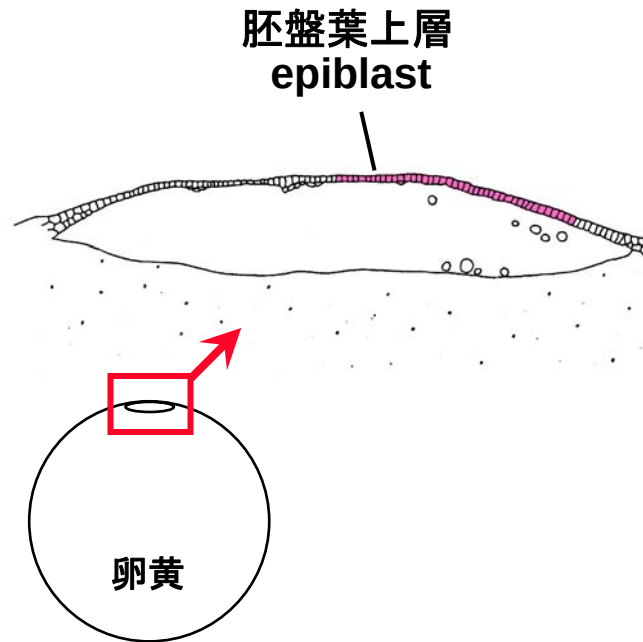
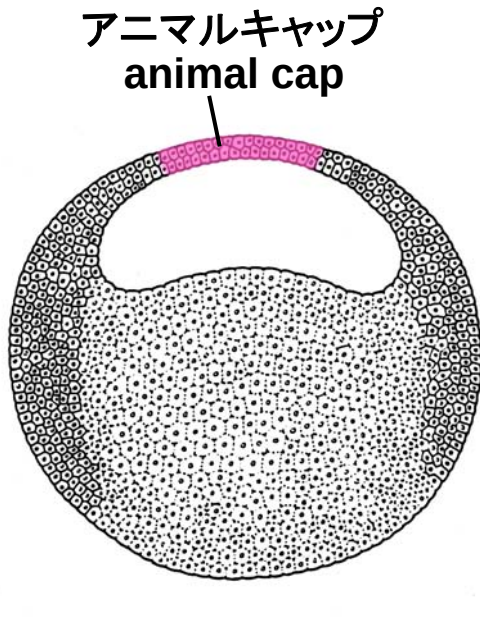
体性幹細胞(成人幹細胞, 組織幹細胞)

- ・ 分化多能性をもつ。
- ・ 倫理的問題がない。
- ・ 増殖能力が低い。

マウスES細胞を用いて器官形成を解析し、
その知見を組織幹細胞等へ応用する方向性。

倫理的問題をクリアできる研究の方向性を目指す。

脊椎動物胚における多能性幹細胞



アフリカツメガエル
イモリ
(両生類)

ニワトリ
(鳥類)

ハツカネズミ
ヒト
(哺乳類)

これらの幹細胞(未分化細胞)を用い、器官形成の研究が進められている。

器官形成研究の主な流れの一例

- 
- ① 未分化細胞からの試験管内での各組織・器官の誘導系の確立
 - ② 正常組織・器官との比較(組織学的・分子生物学的解析)
 - ③ 移植による機能回復実験
 - ④ 組織・器官形成に関わる新規遺伝子の単離と機能解析

さらに、

組織・器官形成メカニズムの解明とそれを応用した組織・器官形成法の開発

誘導系・培養方法の改良と発展による効率的な器官培養法の開発

等

(治療への応用へ)

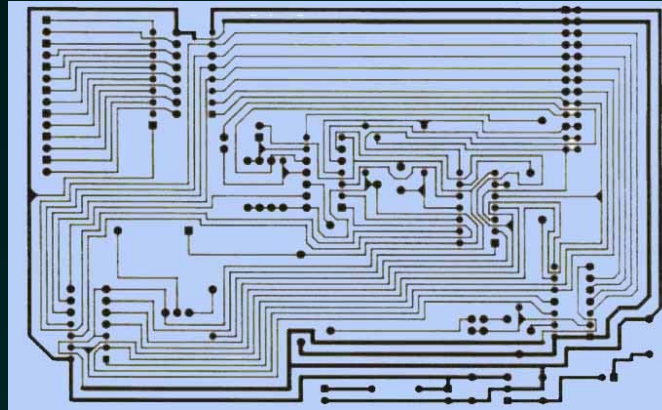
ツメガエル未分化細胞を用いた 器官形成研究の例

器官形成モデル

正常細胞

因子
いろいろな

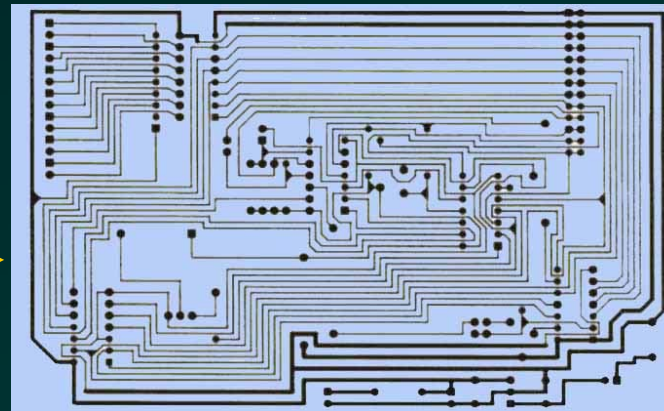
Black Box



アニマルキャップ、マウス等ES細胞

アクチビン

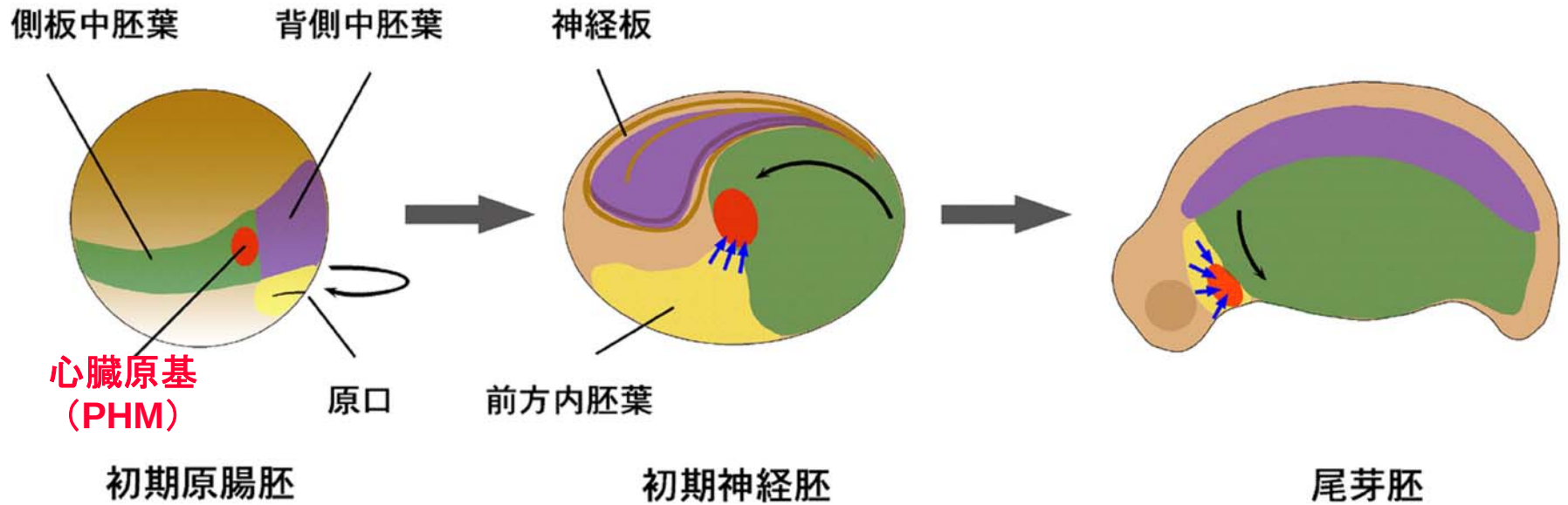
レチノイン酸



同じ筋肉

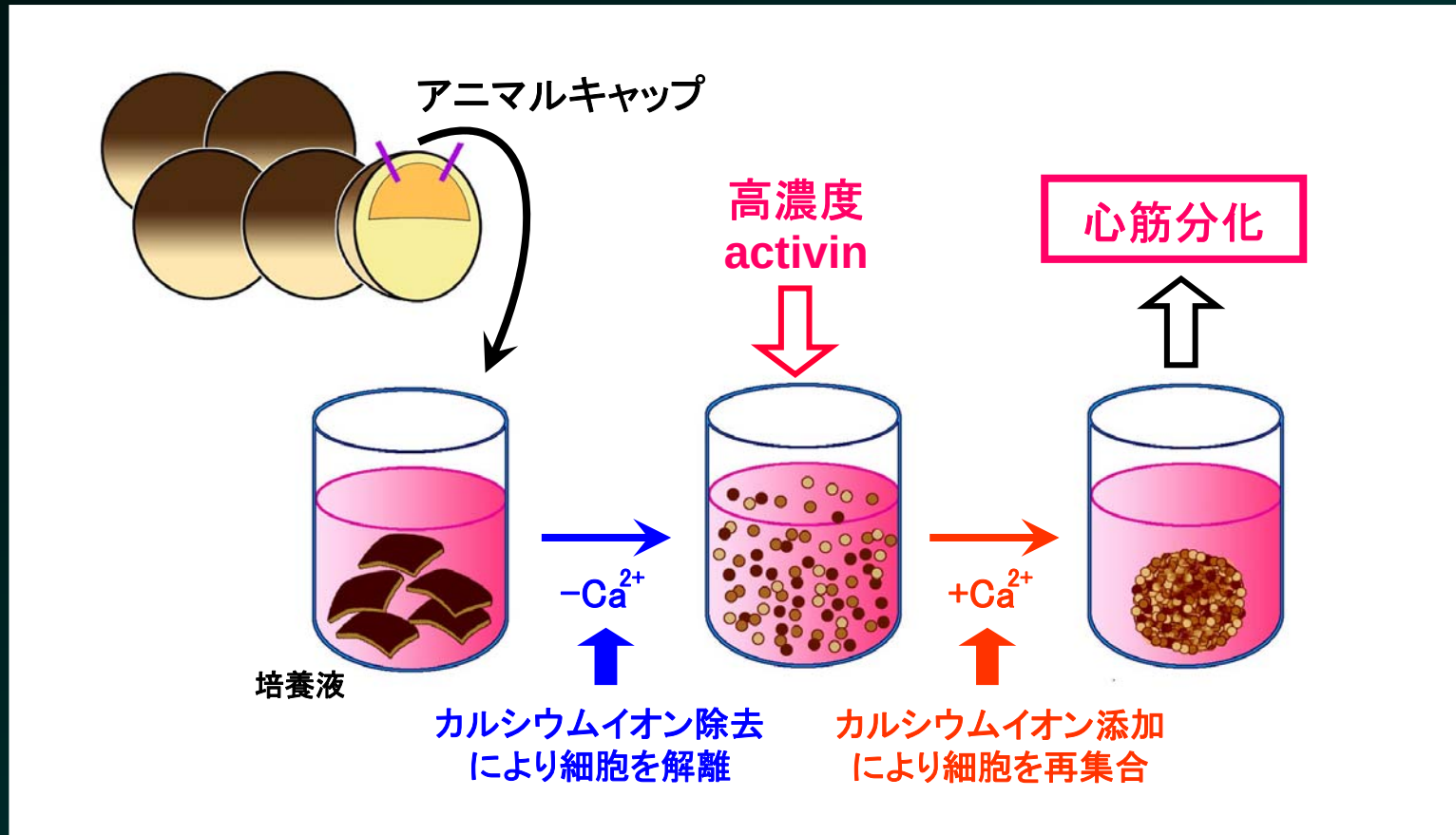
ツメガエル未分化細胞を用いた 心臓誘導系

ツメガエル胚発生における心臓発生



心臓原基 (PHM) は移動し、前方内胚葉による誘導を受ける。

ツメガエルの未分化細胞を用いた心臓の誘導系



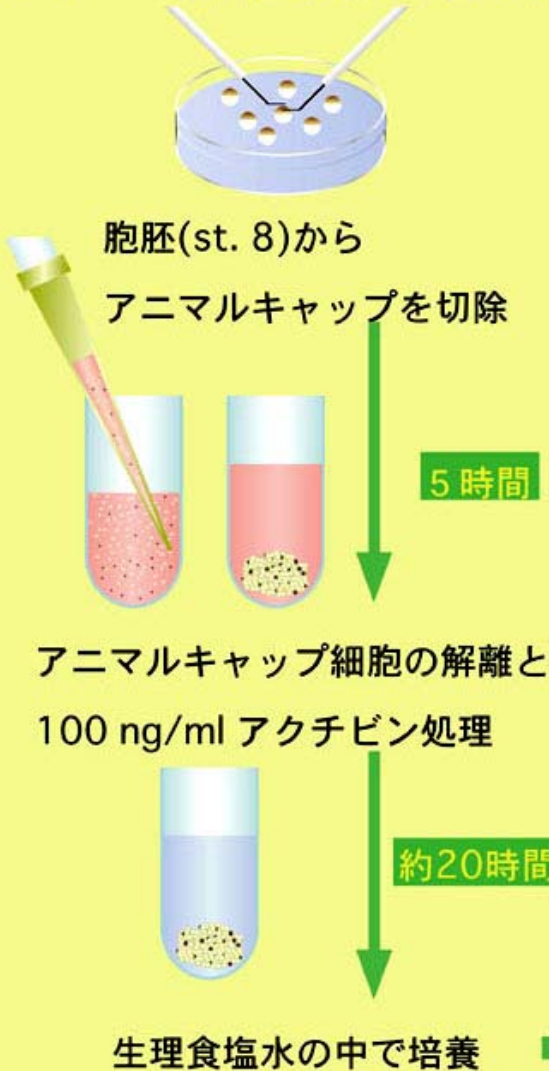
ツメガエル胞胚のアニマルキャップを解離し、
高濃度アクチビン処理の後に再集合させて培養すると
自律的に拍動する心臓様構造が誘導されてくる。

アニマルキャップからつくられた心臓の拍動

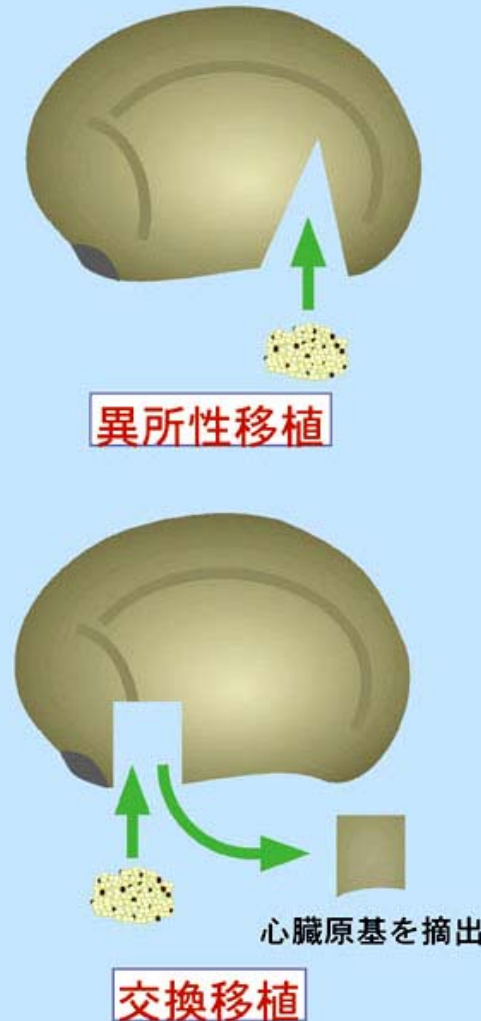


ツメガエル未分化細胞から誘導した心臓原基の移植実験

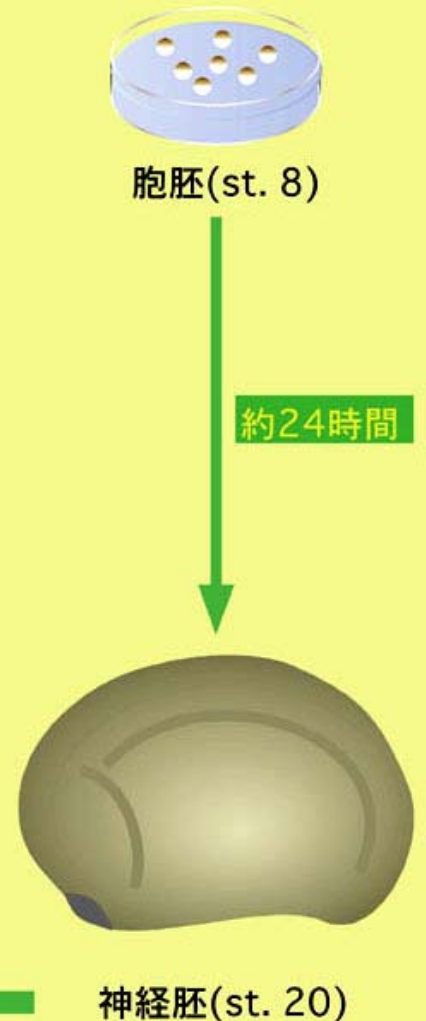
ドナー心臓の分化誘導



生体移植



ホスト胚の発生



アニマルキャップから分化誘導した 拍動組織を移植した胚

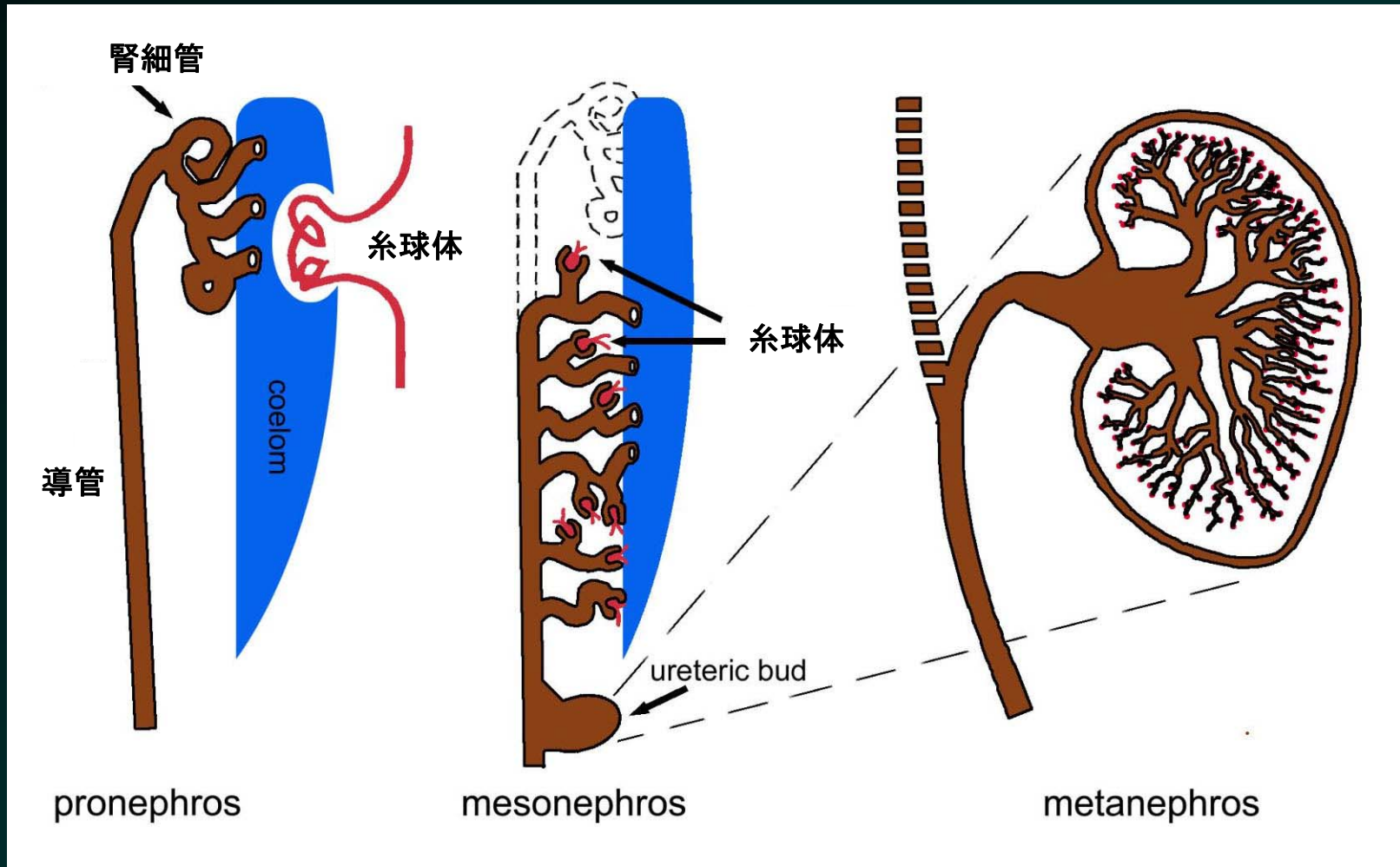


異所性の心臓移植幼生



ツメガエル未分化細胞を用いた 腎臓誘導系

腎臓の発生

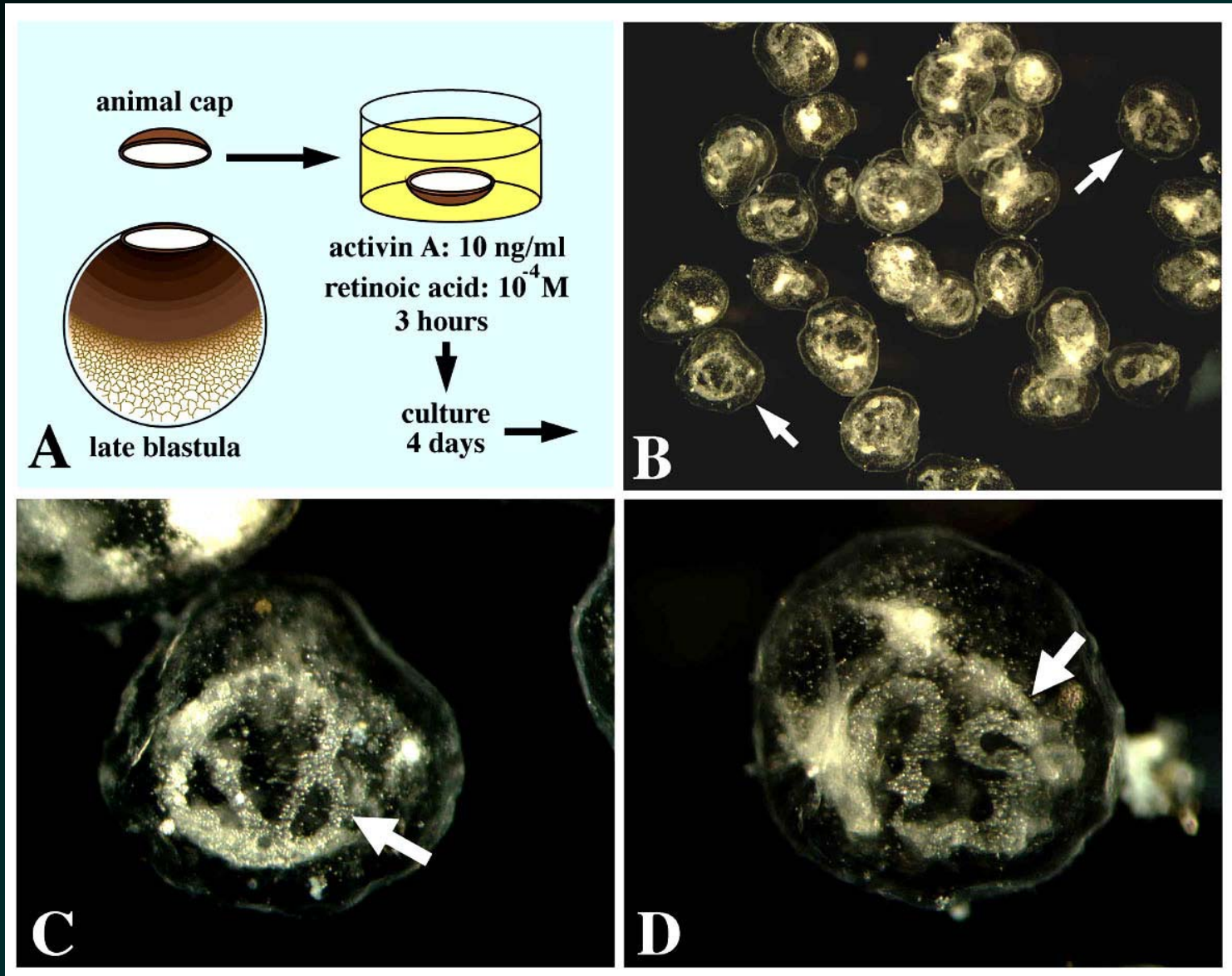


前腎
(ネフロン1個)
オタマジャクシ

中腎
(ネフロン約30個)
成体のカエル

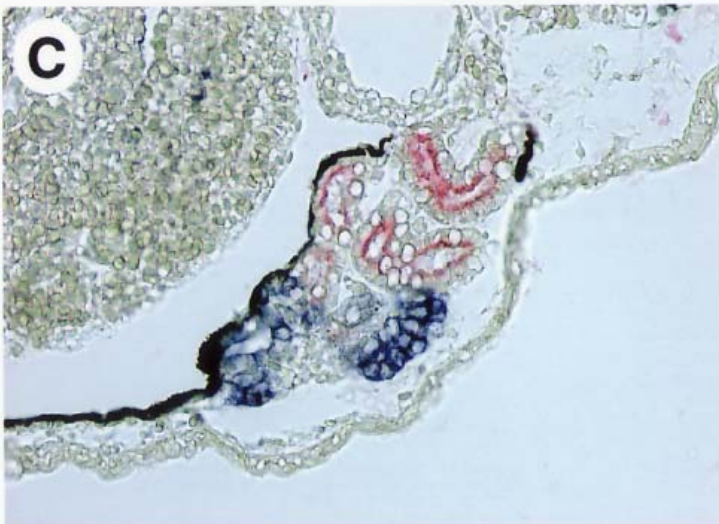
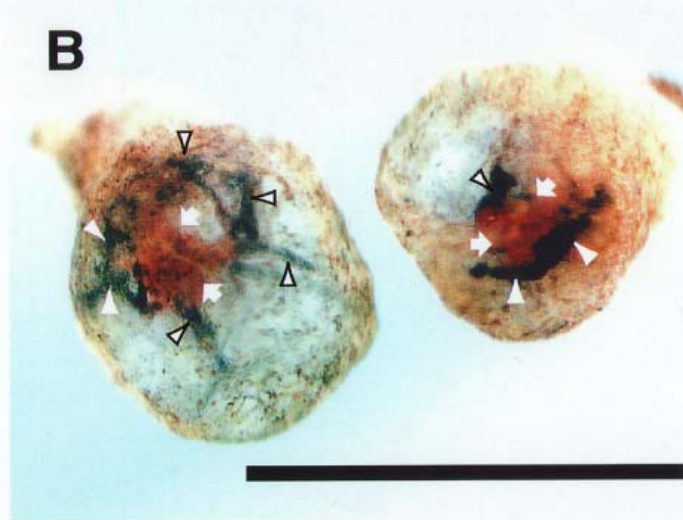
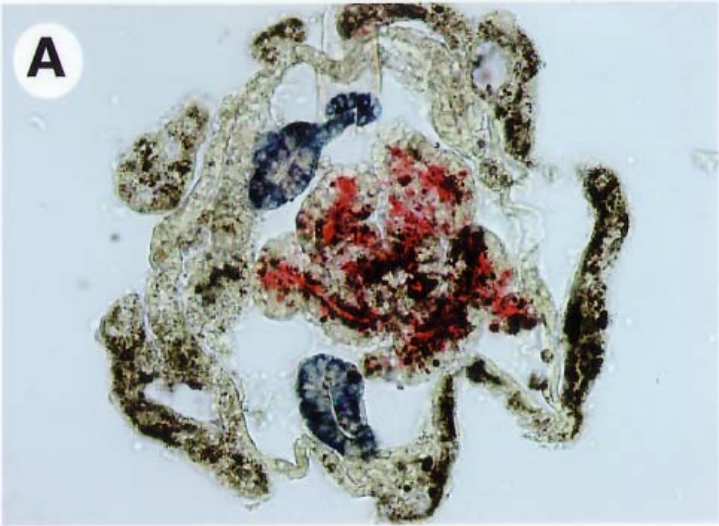
後腎
(ネフロン約100万個)
ヒトなど

ツメガエル未分化細胞からの前腎誘導①



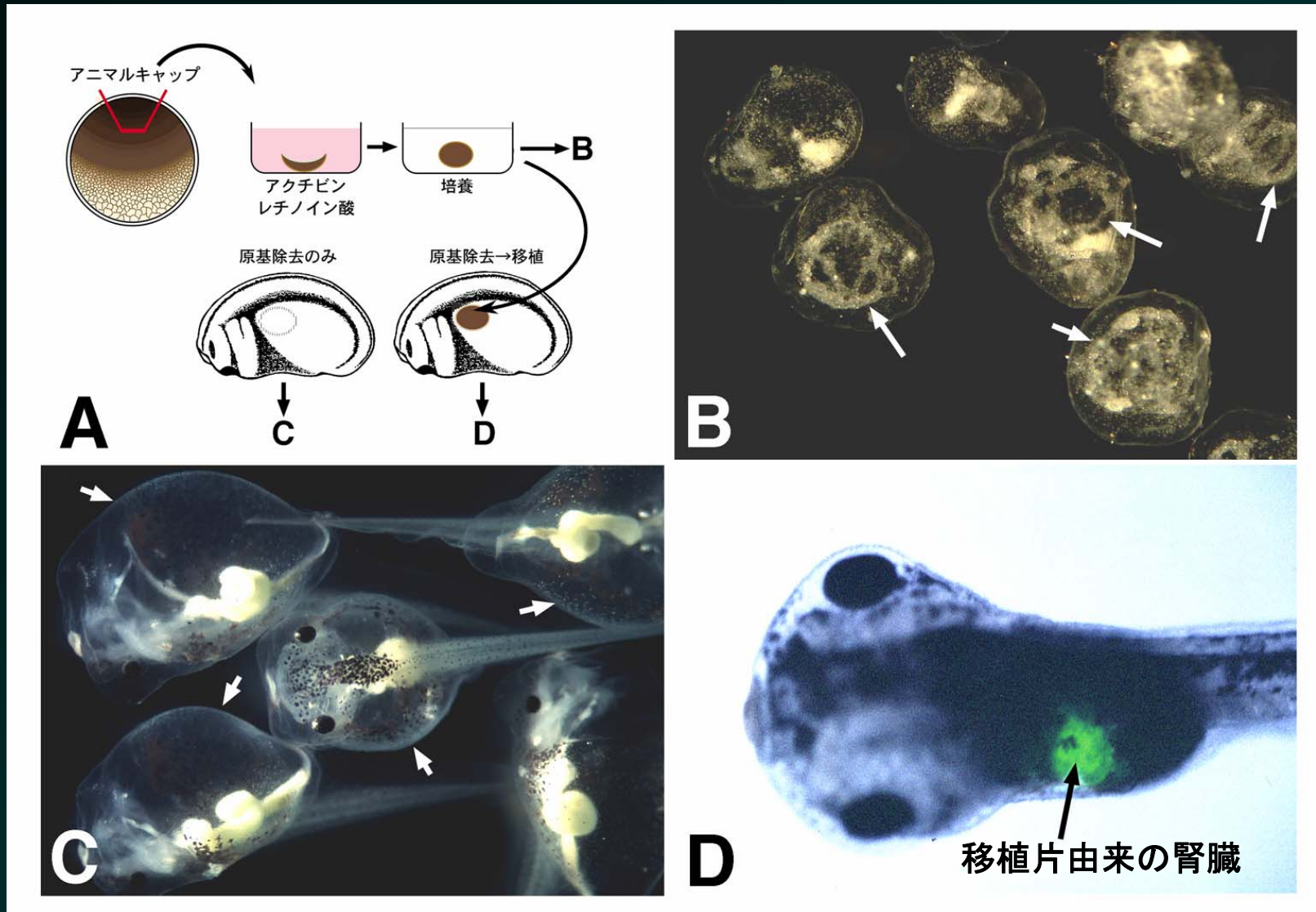
アニマルキャップをアクチビンとレチノイン酸で処理すると前腎が形成される。

ツメガエル未分化細胞からの前腎誘導②



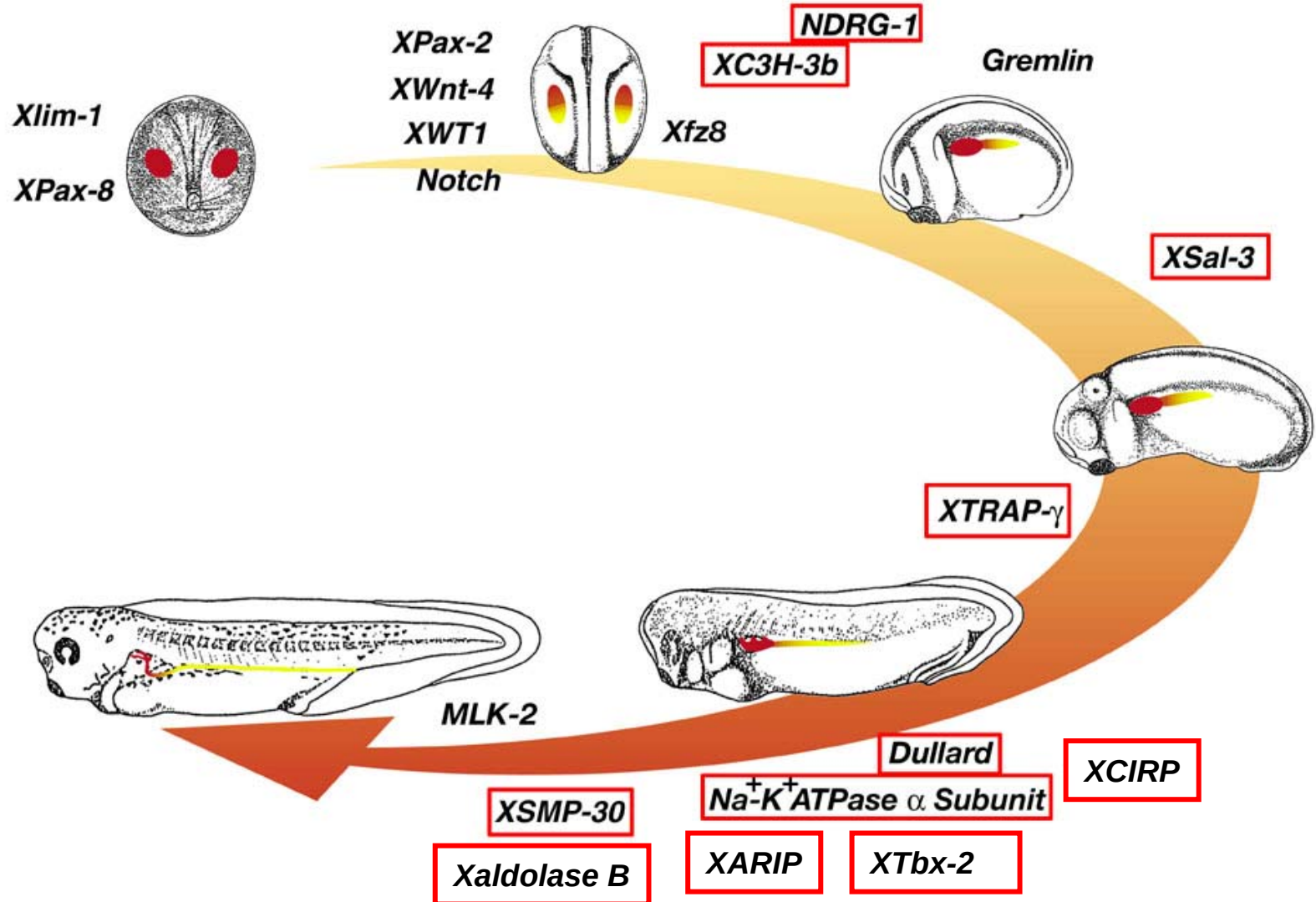
アニマルキャップから誘導された前腎は、腎臓特異的抗体で正常な前腎と同様に染色された。

ツメガエル未分化細胞から誘導した腎臓原基の移植実験

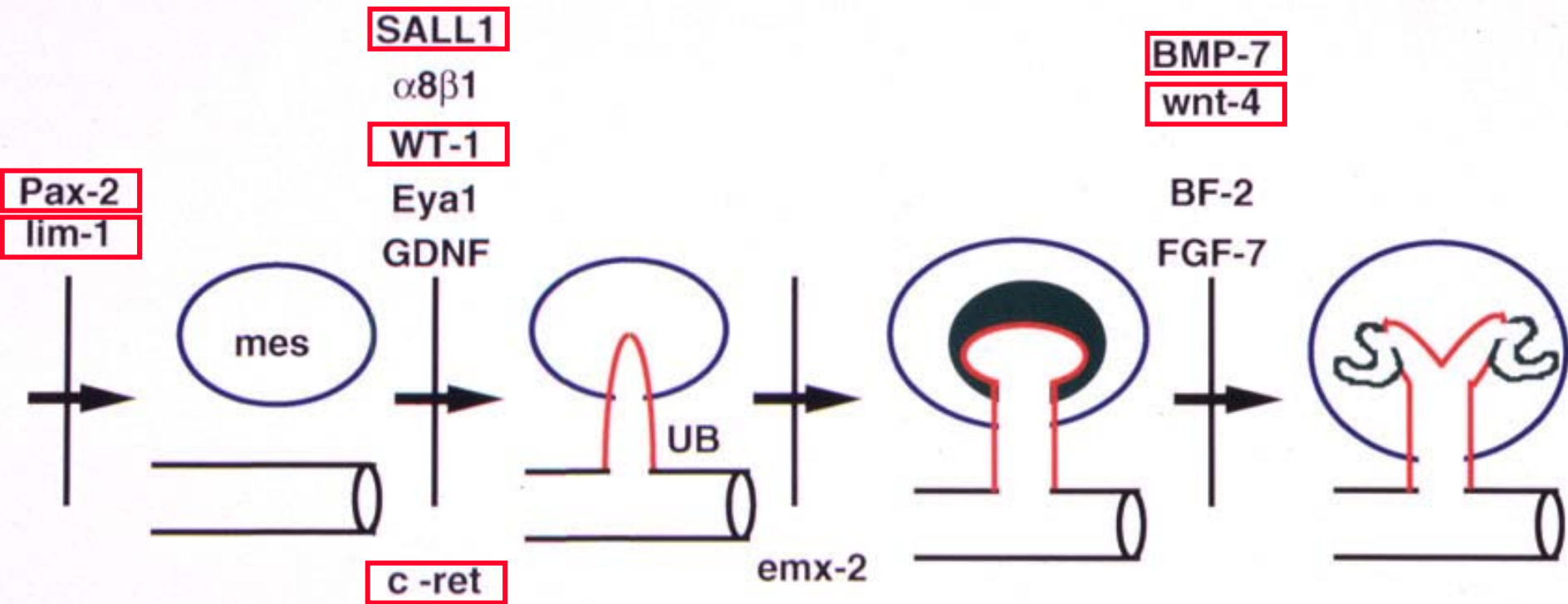


アニマルキャップから誘導した前腎原基を移植すると、機能的に正常な前腎を形成した。
→ この誘導系は正常な腎臓原基の形成を再現している。

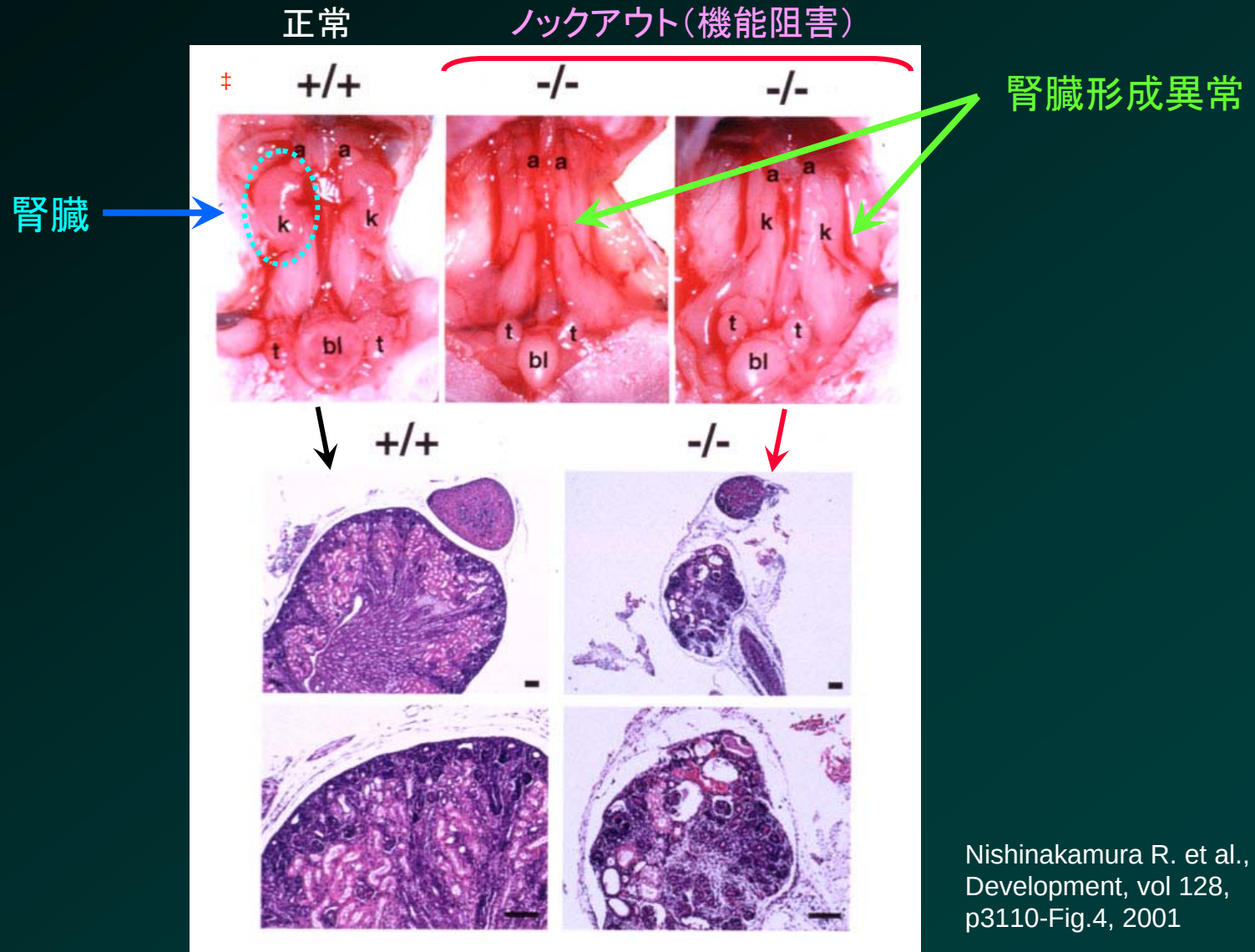
ツメガエルの前腎発生における遺伝子発現



哺乳類(ヒト・マウス)の腎臓発生と遺伝子発現



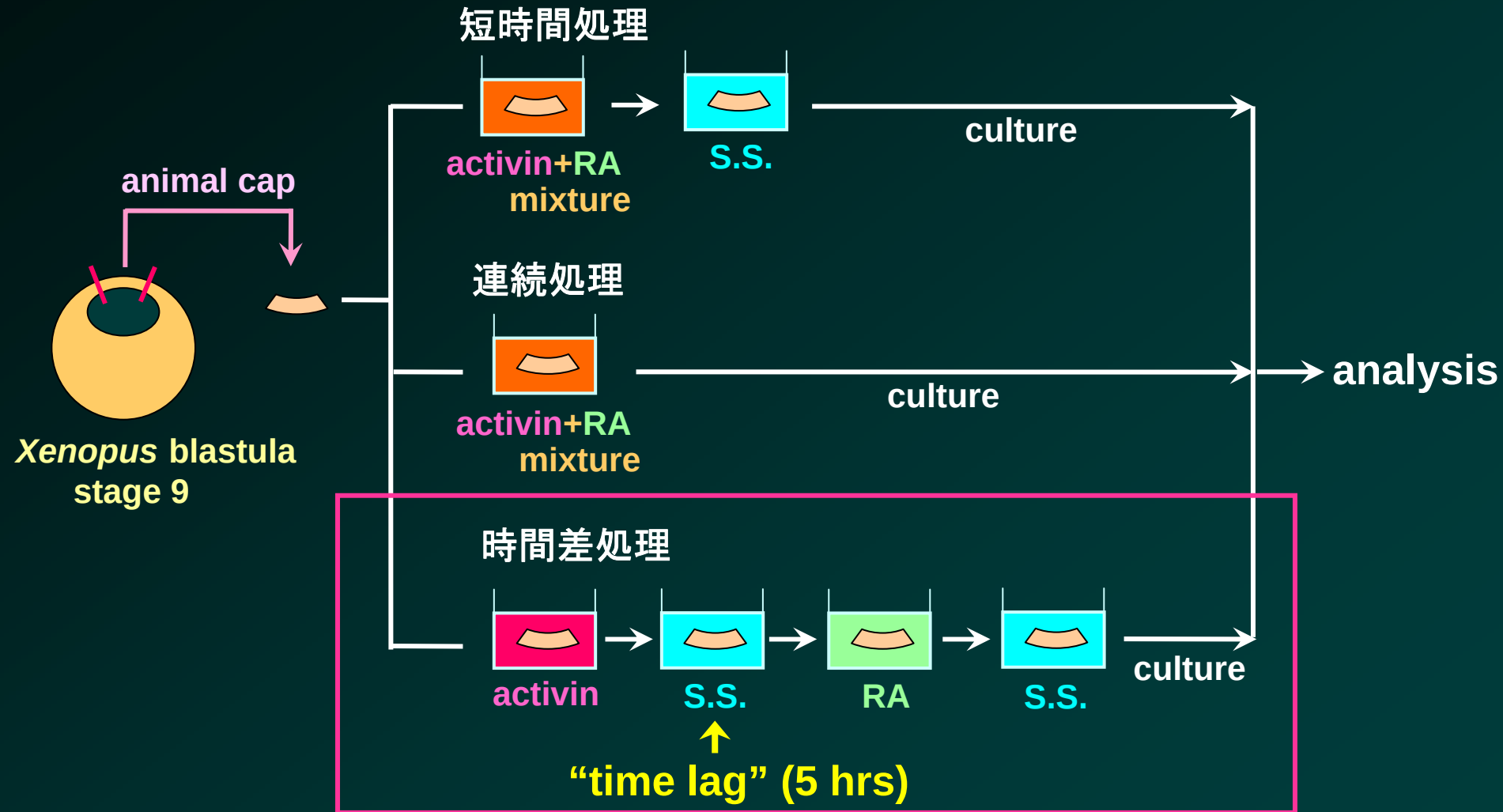
SALL ノックアウトマウスでは腎臓形成が異常になる



ツメガエル前腎において機能する遺伝子SALLはマウスでも腎臓形成に必須である。

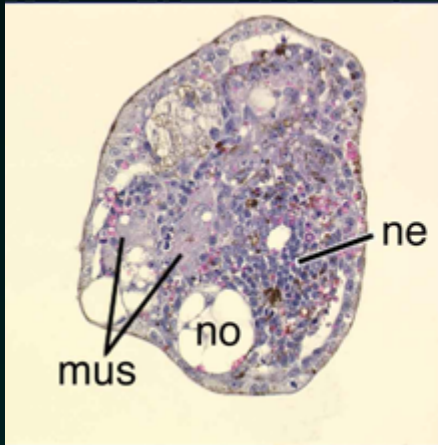
ツメガエル未分化細胞を用いた 膵臓誘導系

アクチビンとレチノイン酸を用いた アニマルキャップからの膀胱誘導系

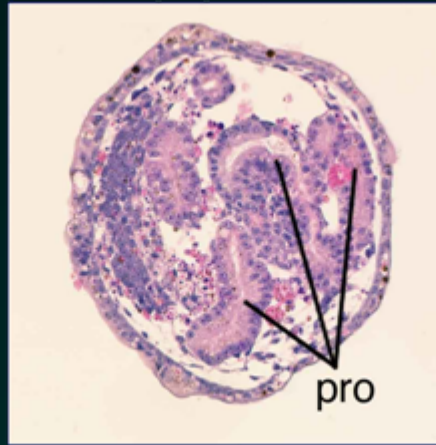


時間差処理の系によって、高頻度に膀胱の組織を誘導できる。

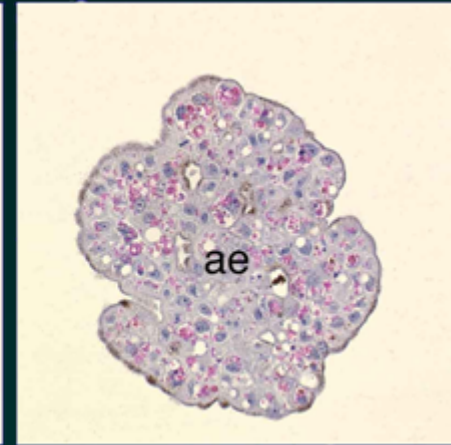
アクチビンとレチノイン酸で処理した アニマルキヤップの組織像



アクチビン 100 ng/ml



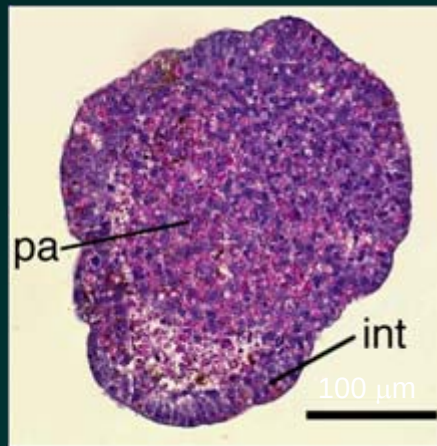
アクチビン 100 ng/ml
レチノイン酸 10^{-4} M



無処理



アクチビン 400 ng/ml



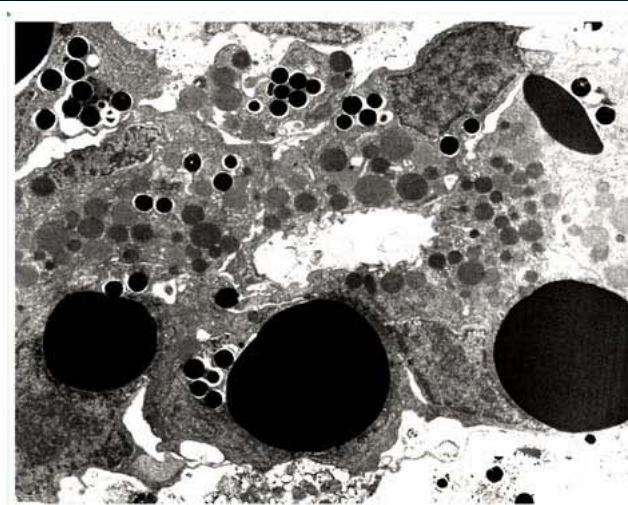
アクチビン 400 ng/ml
レチノイン酸 10^{-4} M

mus : 筋肉
ne : 神経
no : 脊索
pro : 前腎管
ae : 不整形表皮
edd : 内胚葉塊
int : 腸上皮
pa : 膵臓

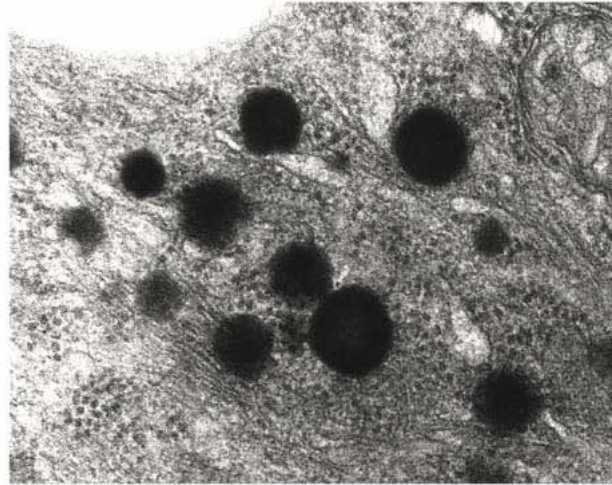
アクチビン 400 ng/ml + レチノイン酸 10^{-4} M で膵臓が誘導される。

アニマルキヤップから誘導した膵臓の微細構造

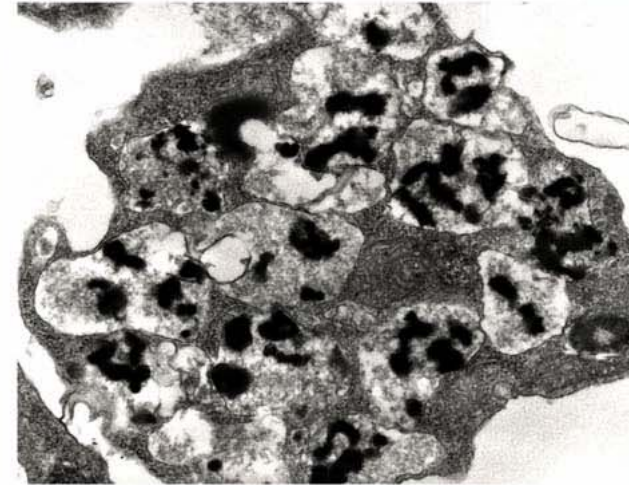
電子顕微鏡による各領域の観察像



膵臓外分泌腺



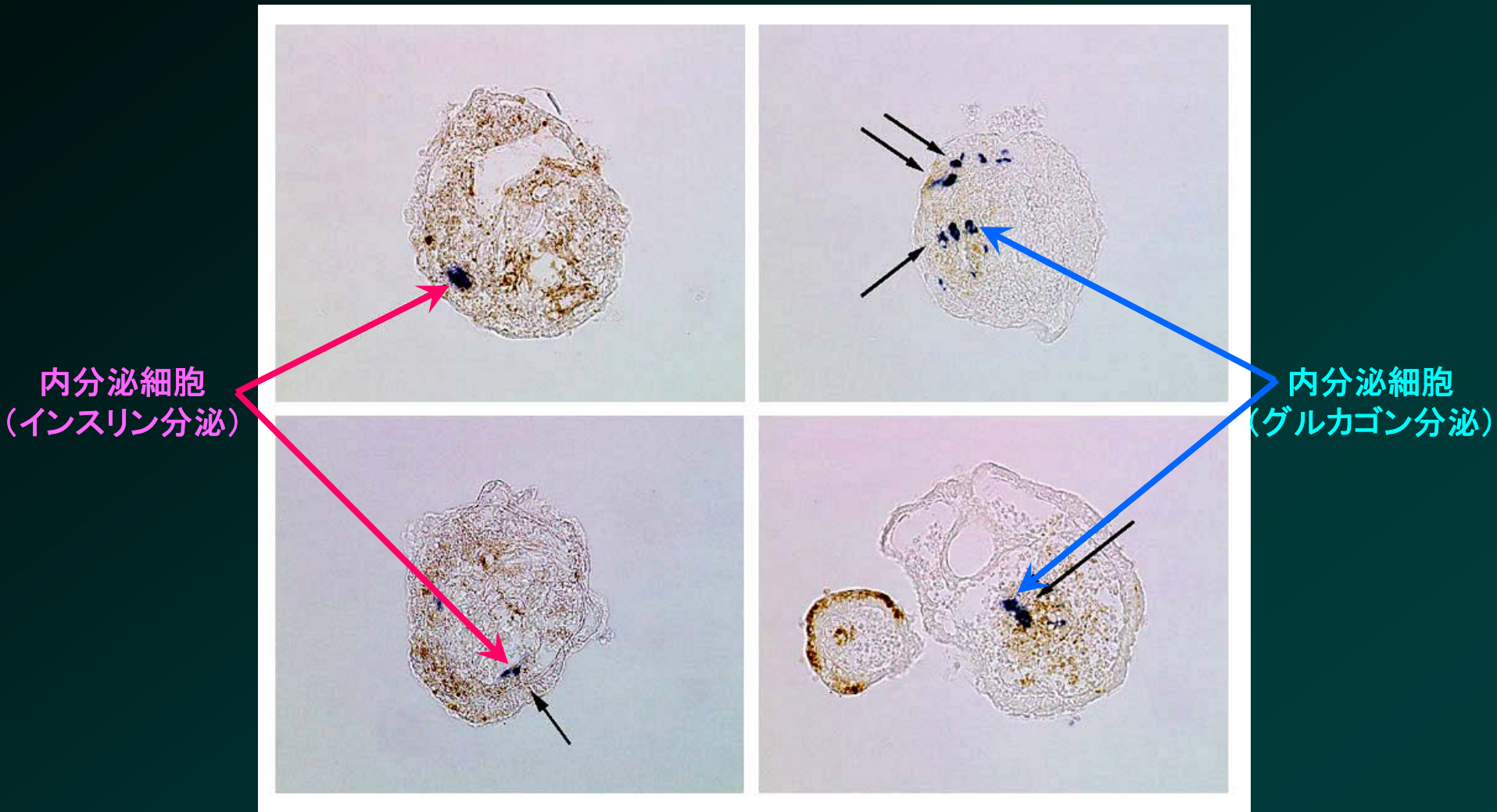
膵臓内分泌腺
(グルカゴン分泌細胞)



膵臓内分泌腺
(インスリン分泌細胞)

アニマルキヤップを用いて誘導した膵臓組織は、微細構造の点でも正常な膵臓の組織と同じ構造を示した。

アニマルキヤップから誘導した膵臓の抗体染色



誘導した膵臓組織はインスリンやグルカゴンを産生していた。

ツメガエル未分化細胞を用いた 眼球誘導系

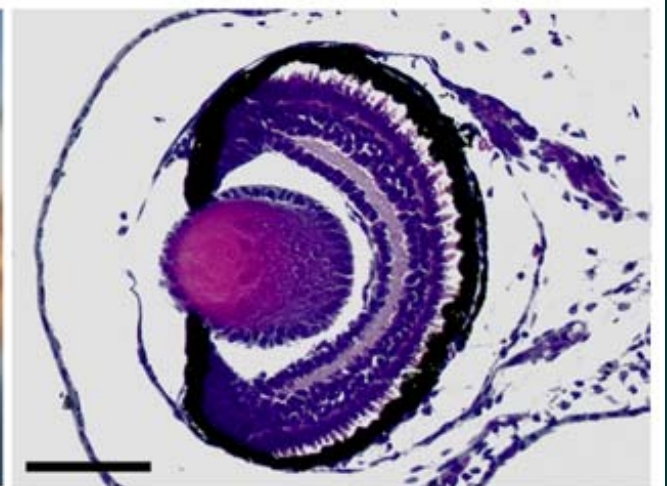
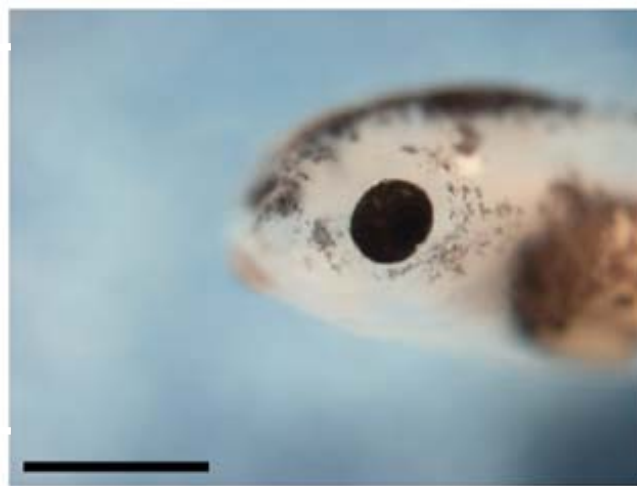
ツメガエル未分化細胞から誘導した眼球：組織切片の観察

外形

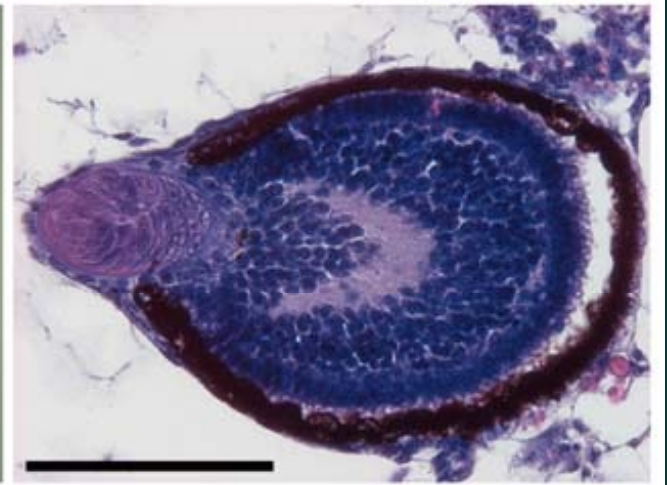
切片

(HE染色)

ステージ42
幼生

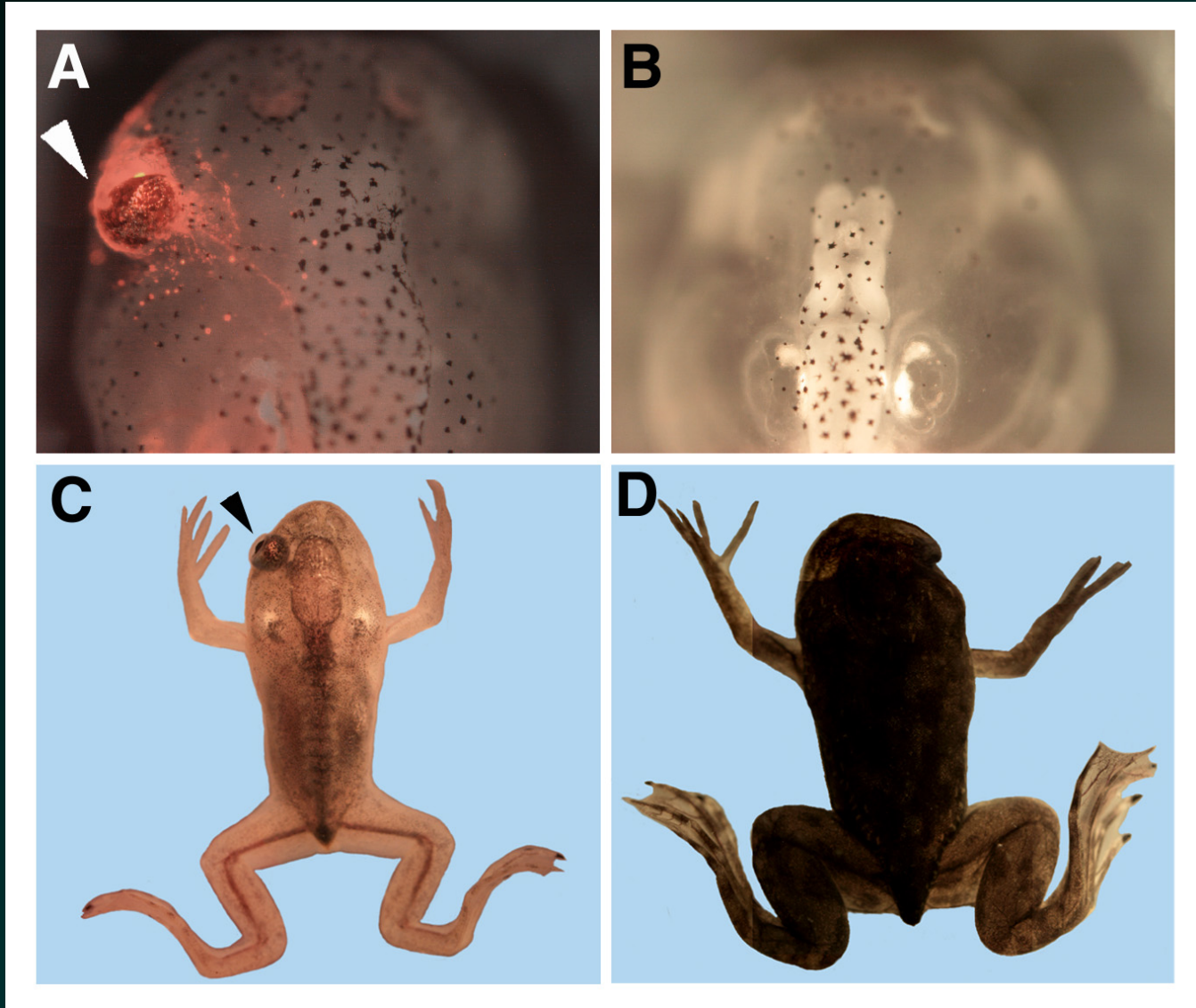


試験管内で
作った眼



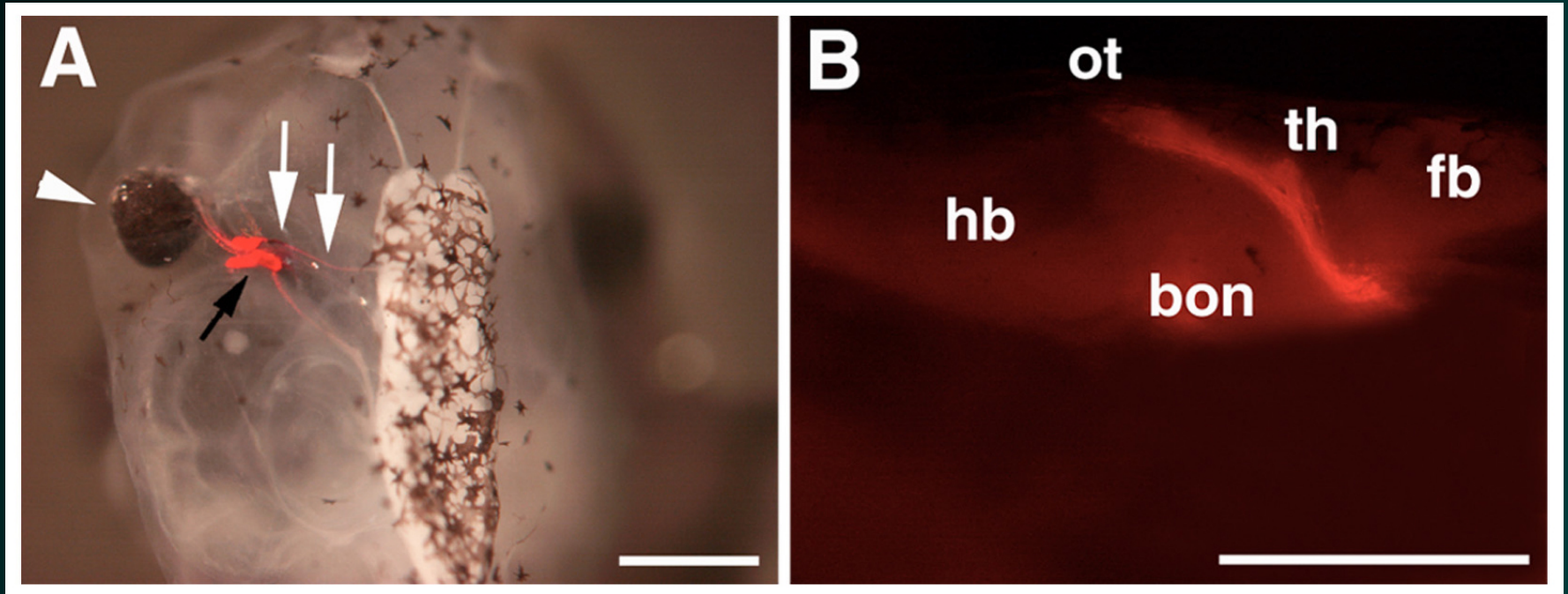
試験管内で誘導した眼は正常な眼と同じ構造をしている。

ツメガエル未分化細胞から誘導した眼の移植実験①



眼を移植されたカエルは光を感知できるので体色が明るい。
→ 移植した眼が機能していることを示す。

ツメガエル未分化細胞から誘導した眼の移植実験②



トレーサー標識による神経軸索の染色

移植された眼の視神経は、中脳視蓋へと正しく投射している。
→ 移植した眼が機能していることを示す。

Sequential gene expression

Development program

TIME

Normal development

Fertilized egg

Mesoderm formation

Gut

Pancreas

Central nervous system

Sensory organ

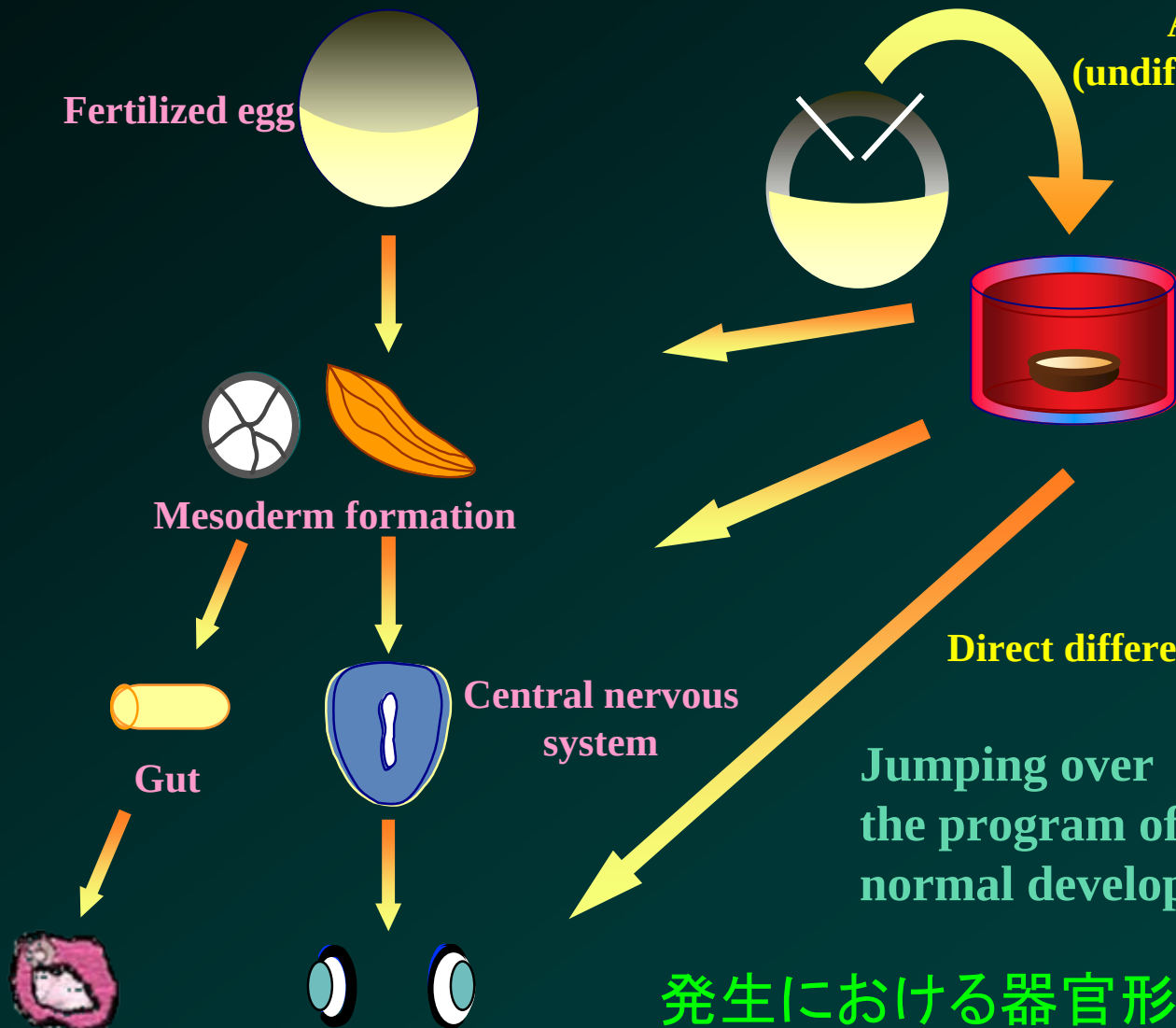
In vitro system

Animal cap
(undifferentiated cells)

Direct differentiation

Jumping over
the program of
normal development

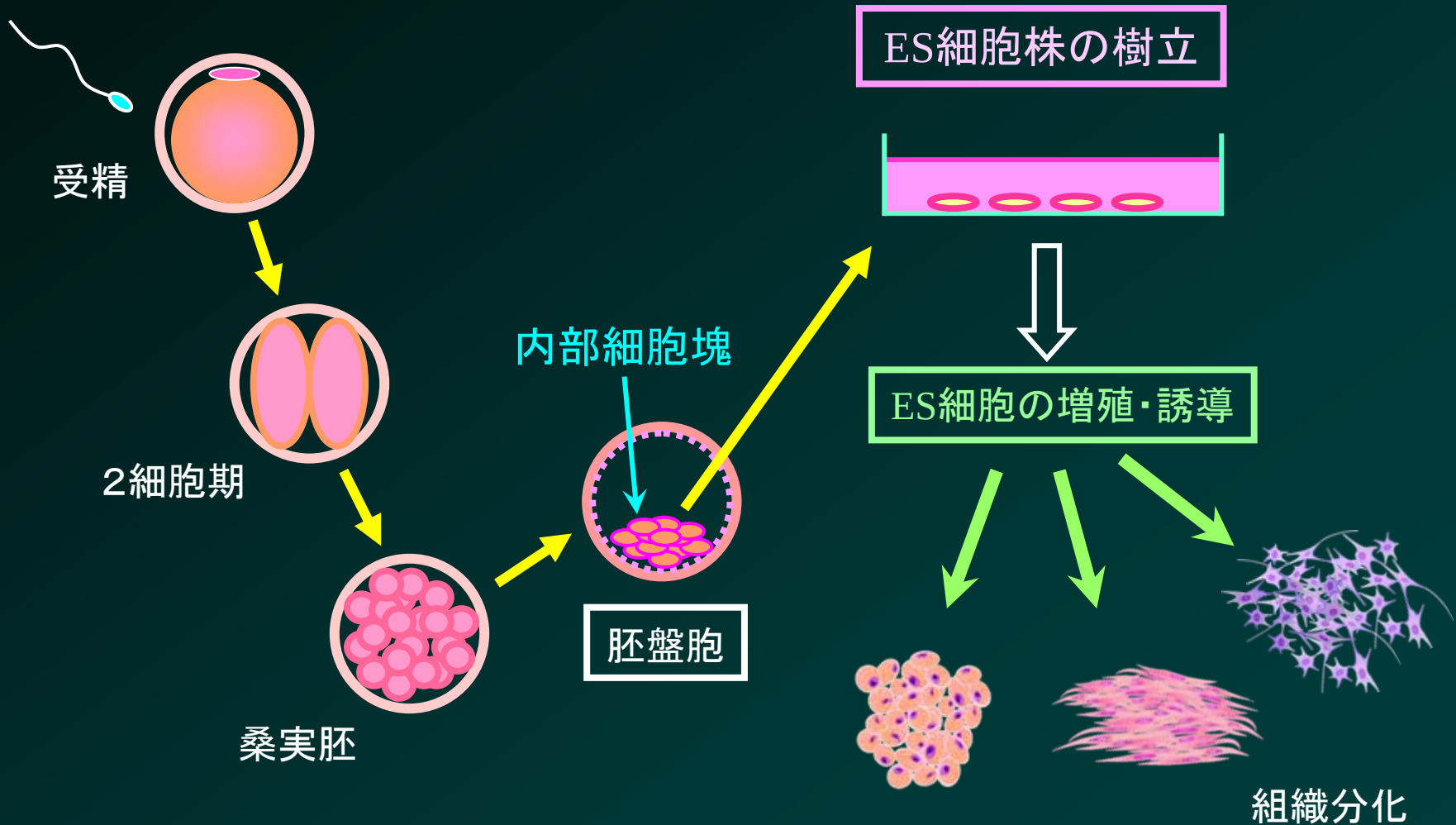
発生における器官形成を
試験管内で再現する



マウスES細胞を用いた 器官形成研究の例

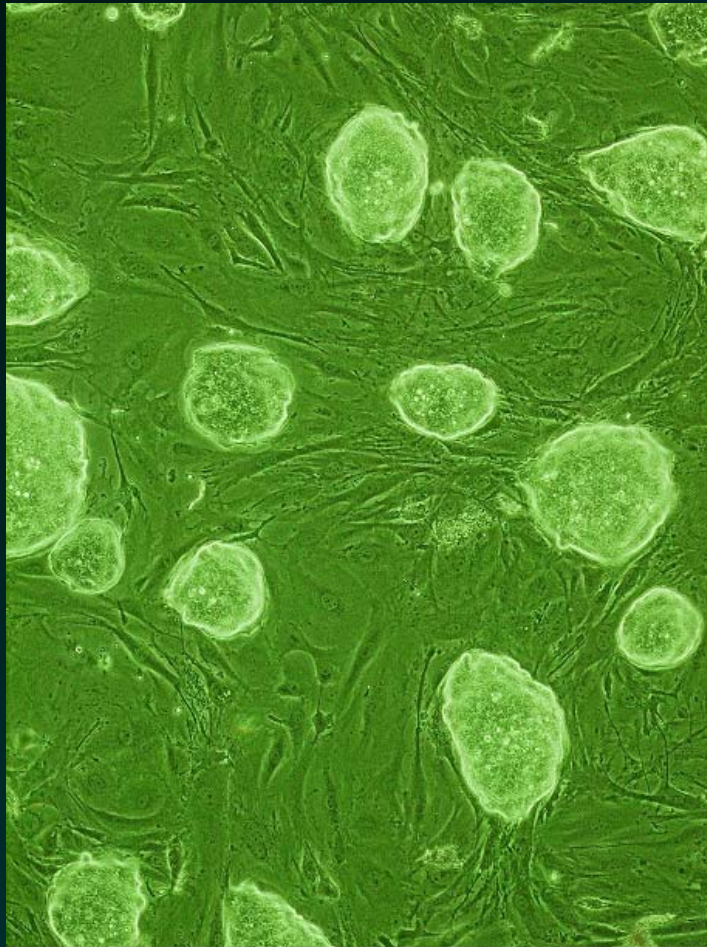
カエル未分化細胞とマウスES細胞の
分化能はどこまで同じか

マウス初期胚発生と胚性幹細胞 (ES細胞)



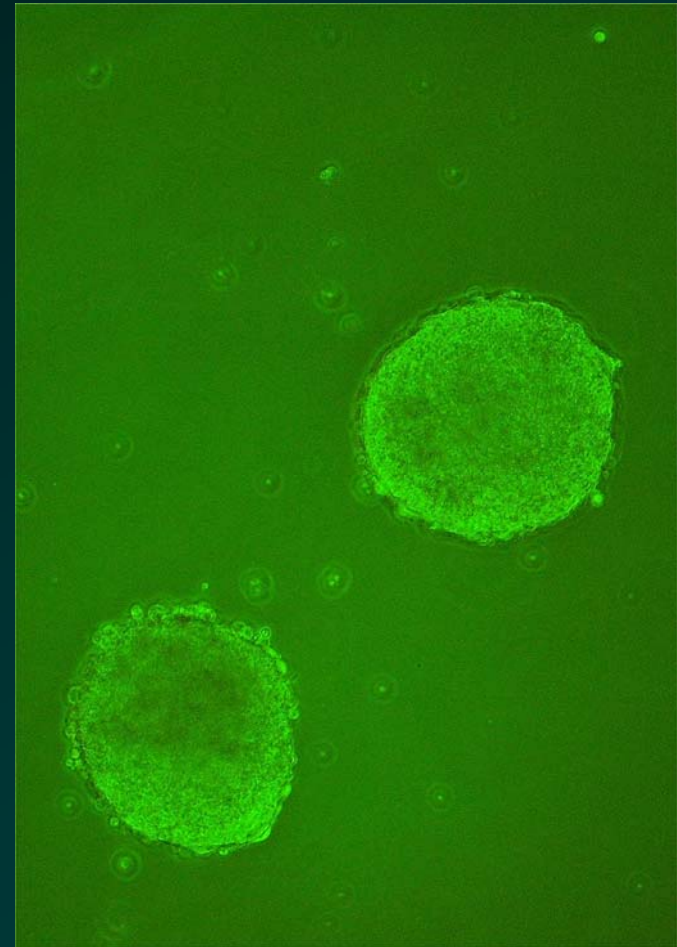
マウスES細胞のコロニーと胚様体

ES細胞のコロニー



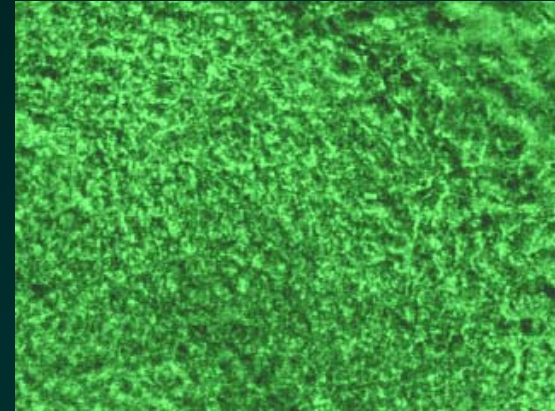
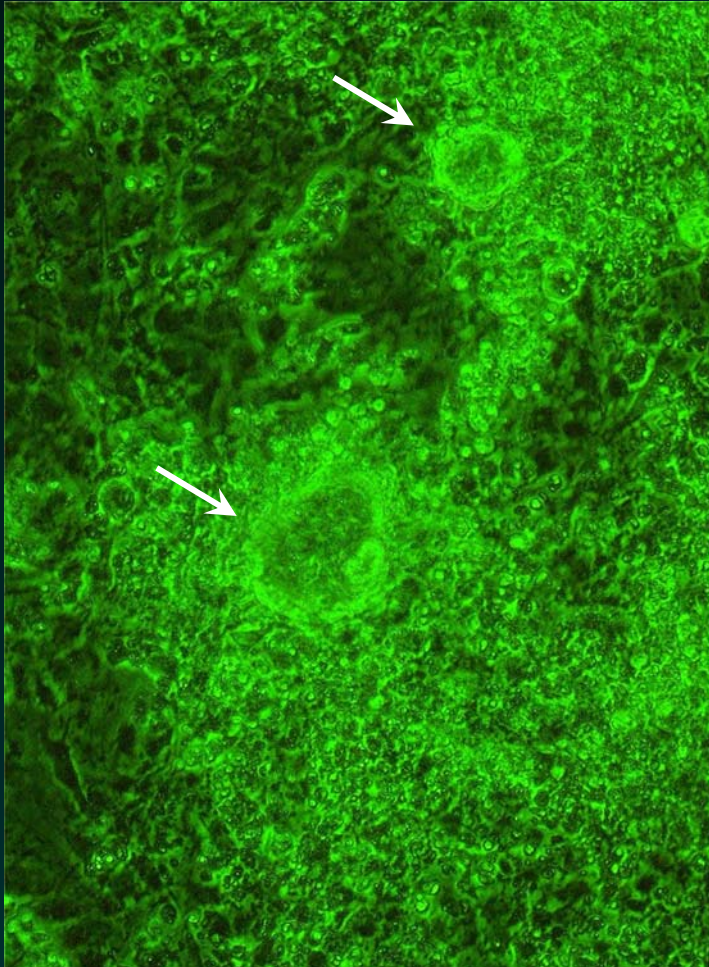
(15% FCS, +LIF)

胚様体

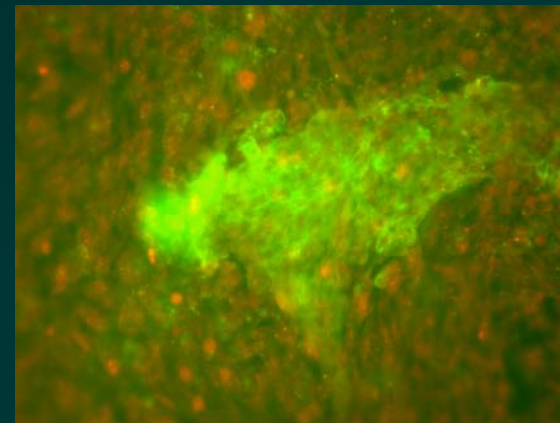


(15% KSR, -LIF)

レチノイン酸誘導体 PA024 を用いた マウスES細胞からの心筋の誘導



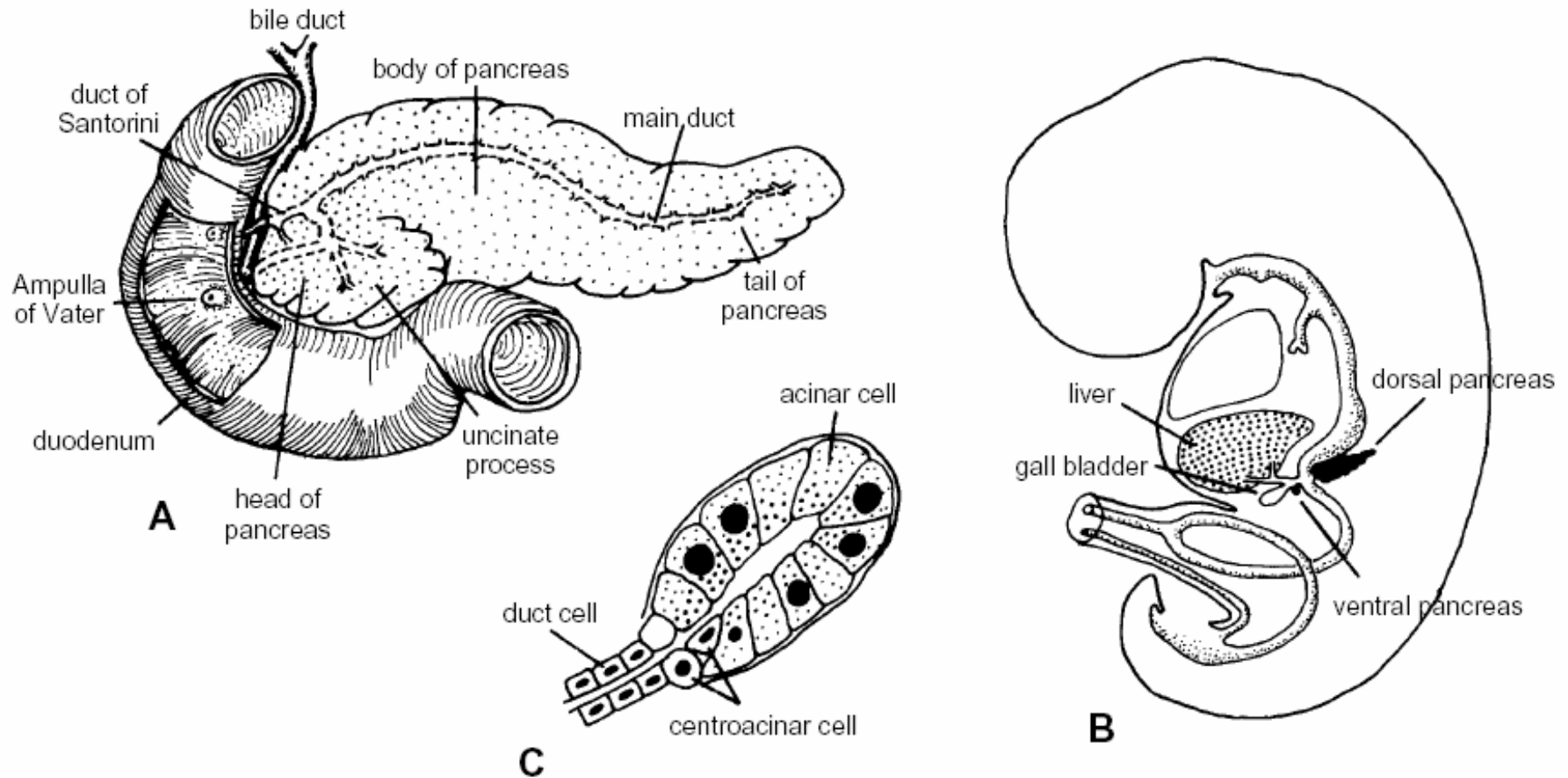
Spontaneous contractile movement of differentiated cardiomyoblast was observed 1-2 days after the treatment



Staining of anti-cardiac muscle-specific troponin I
Antibody (FITC; green) and nucleus (PI, red)

マウスにおける膵臓の発生

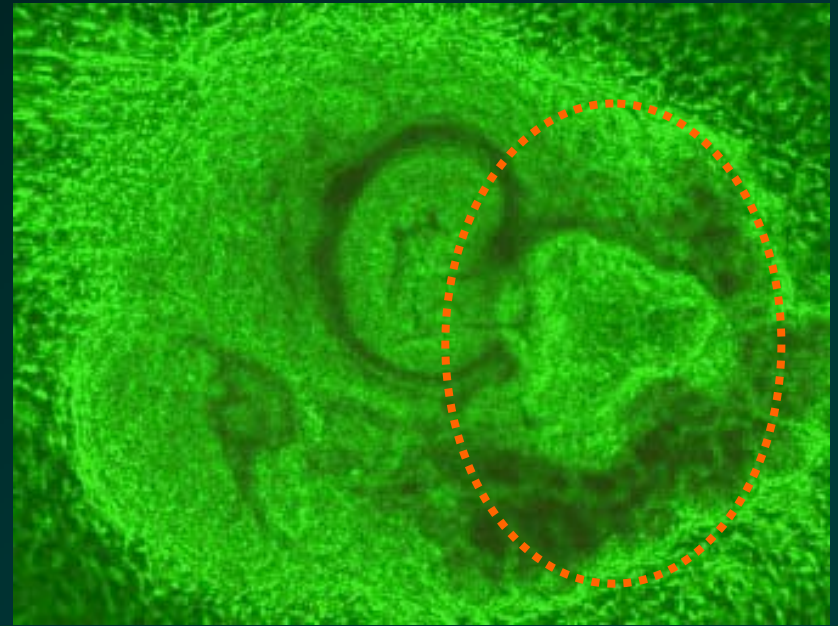
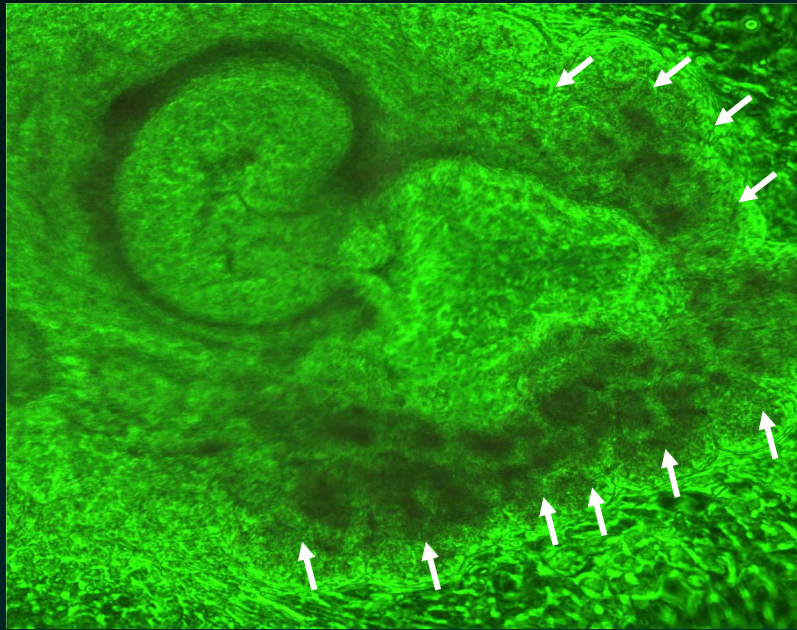
+



Slack JM. et al. Development, vol 121, p1570-Fig1, 1995

膵臓は十二指腸(腸管)に隣接して形成される。

アクチビンとレチノイン酸を用いた マウスES細胞からの膵臓の誘導

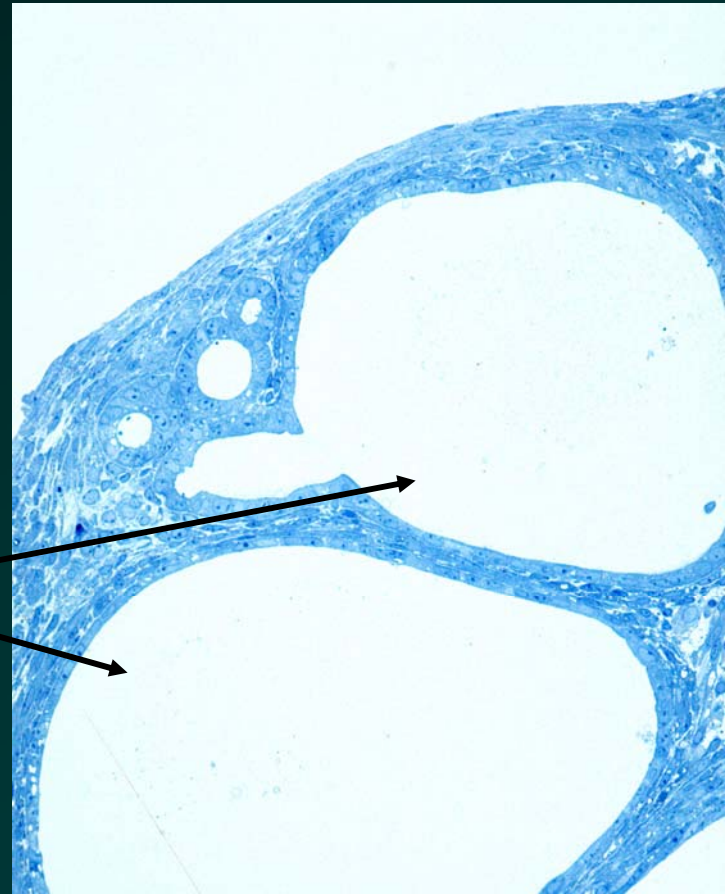
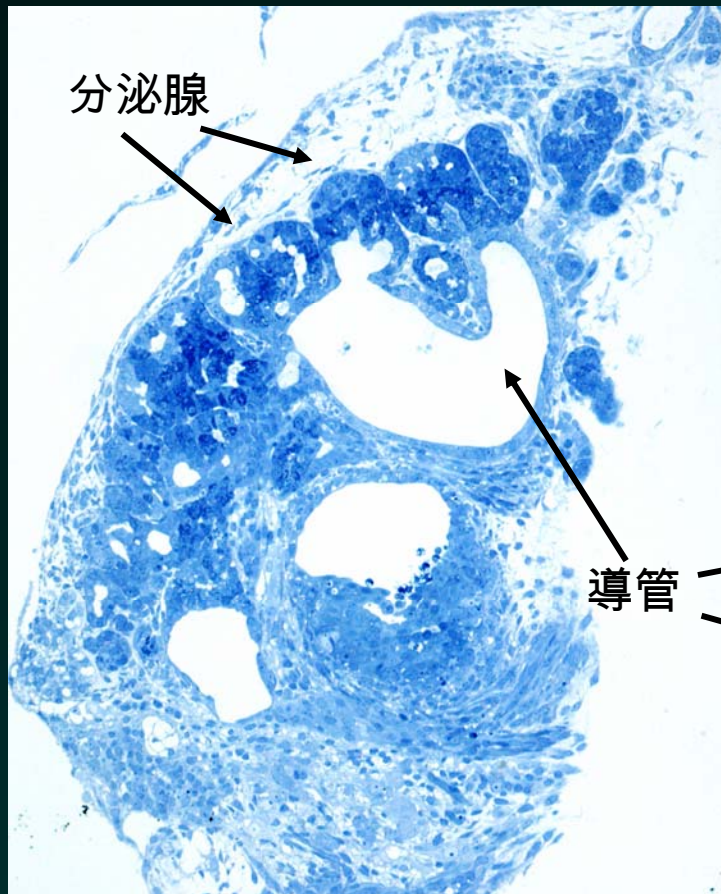


矢印：膵臓の腺構造

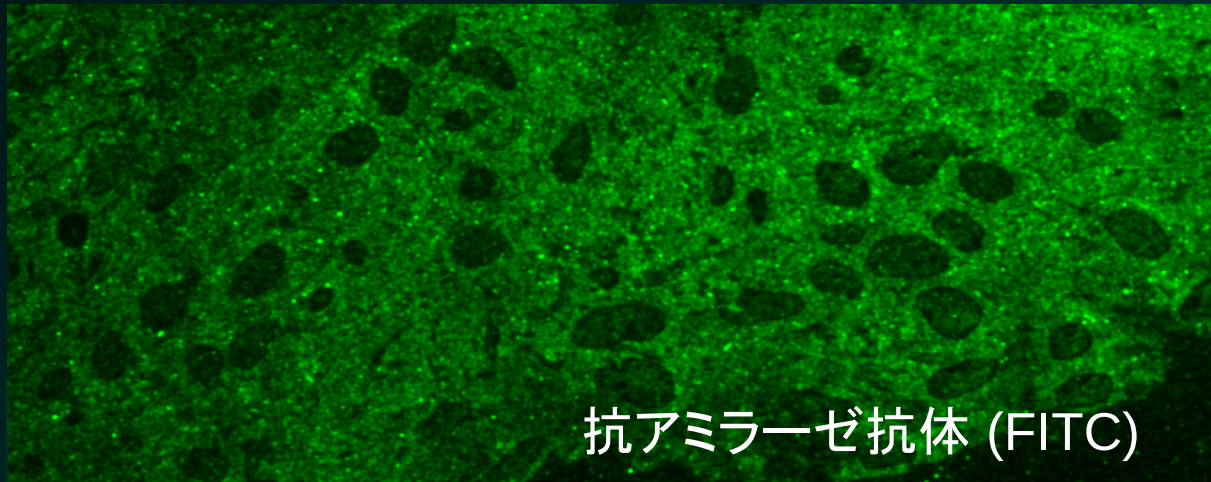
膵臓の腺構造が腸管と同時に誘導された。

→ 正常発生における膵臓形成を再現していると考えられる。

マウスES細胞から誘導した膵臓の組織像

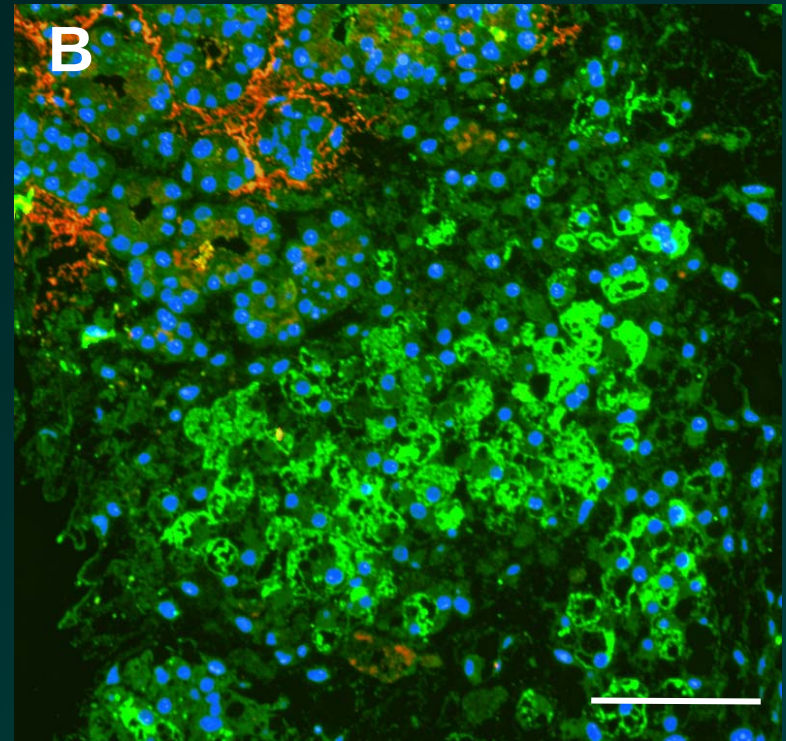
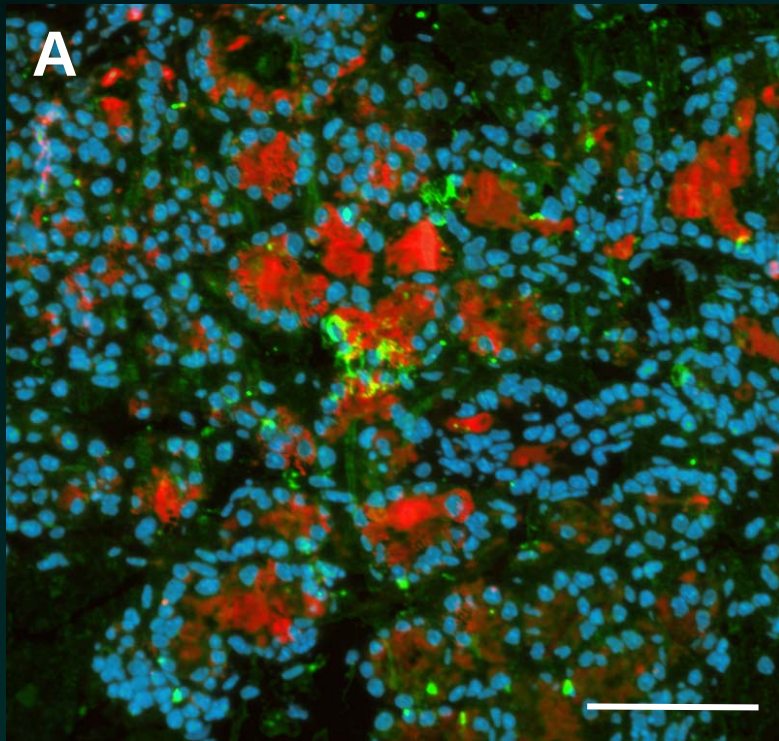


マウスES細胞から誘導した膵臓の免疫染色像



膵臓内分泌腺に特異的なインスリンの合成が確認された。

アクチビンとレチノイン酸の濃度調節による 膵臓組織誘導への影響



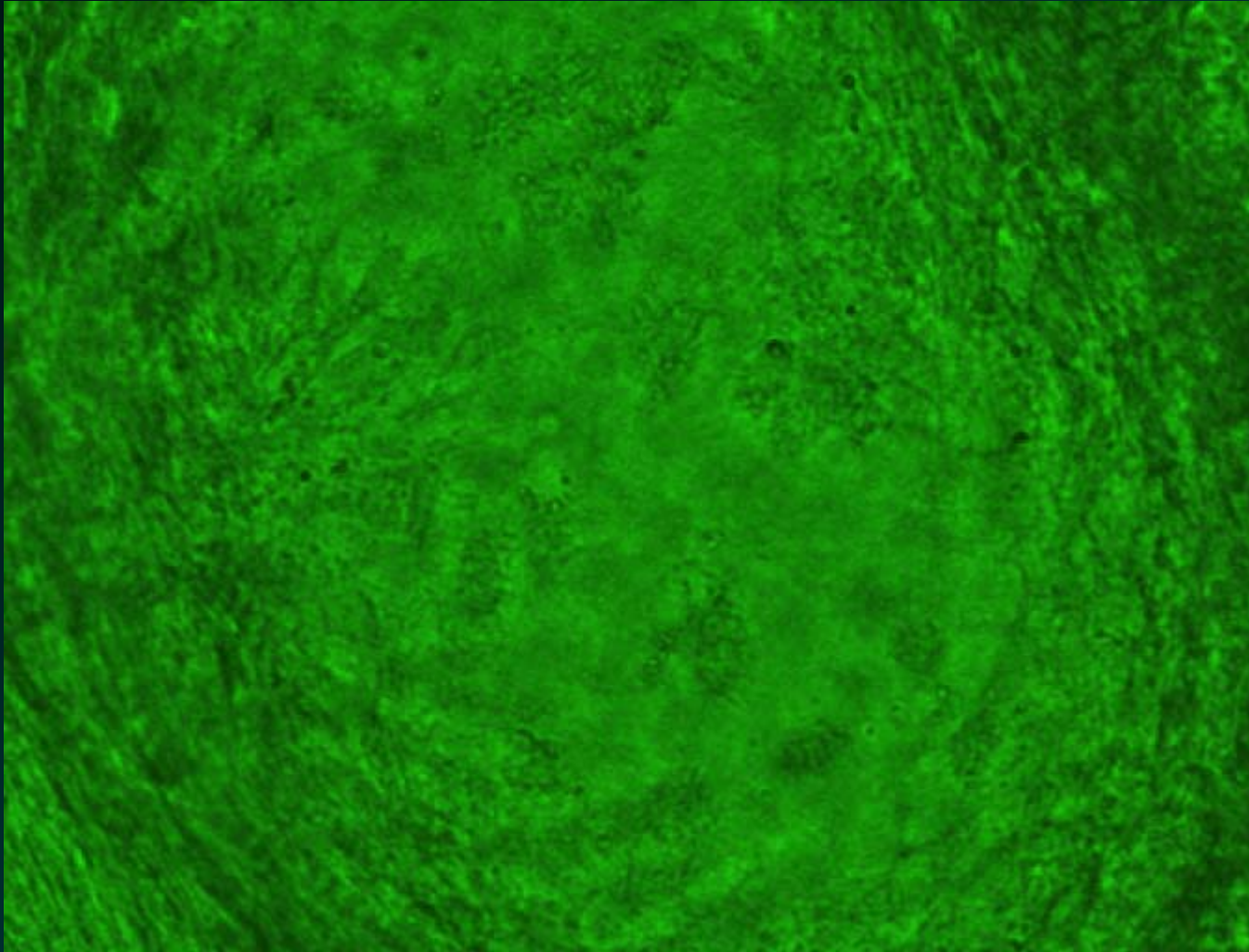
内分泌細胞

外分泌細胞

(bar = 50 mm)

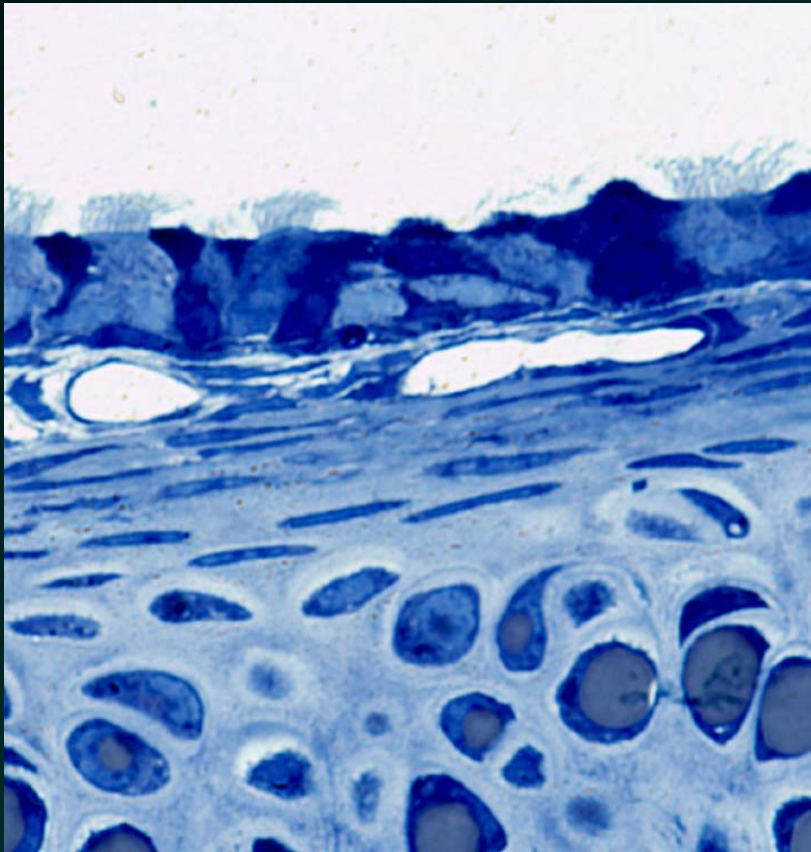
細胞核 / インスリン / アミラーゼ

マウスES細胞から誘導した繊毛細胞

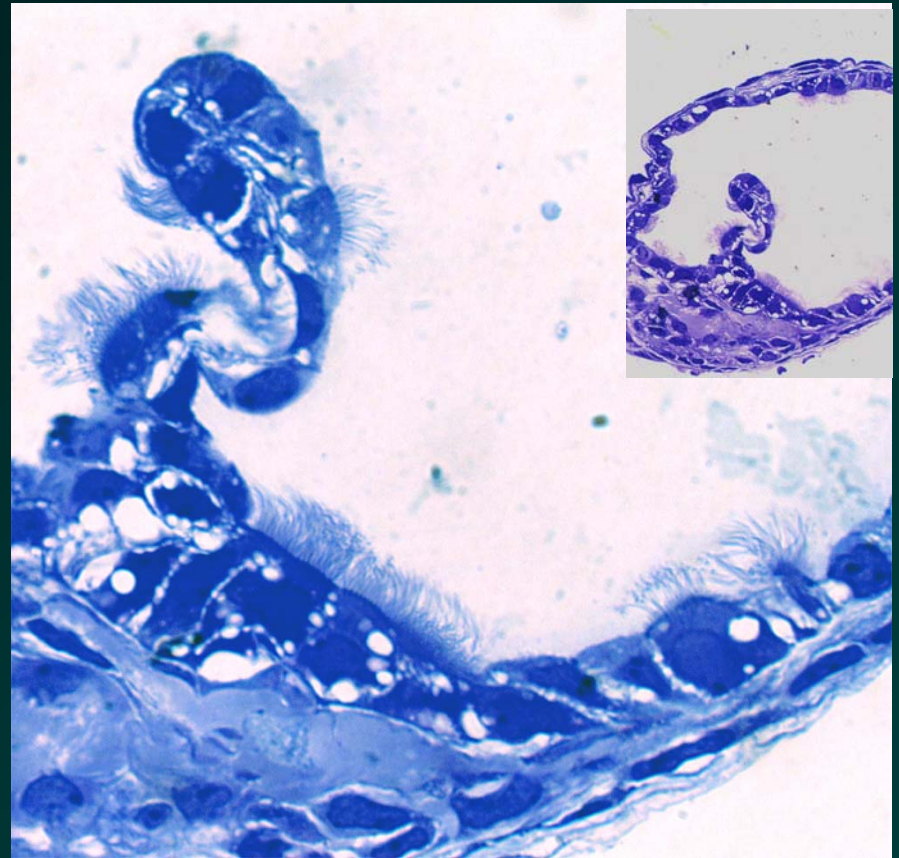


繊毛細胞は気管, 卵管, 脳室などの繊毛上皮で機能している。

マウスES細胞から誘導した気管上皮様構造

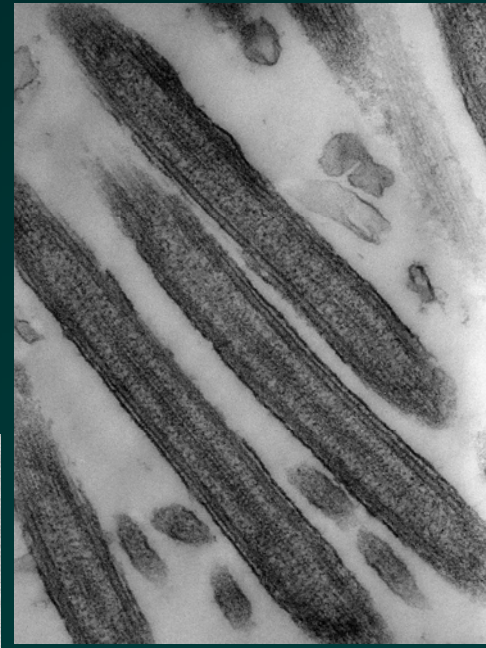
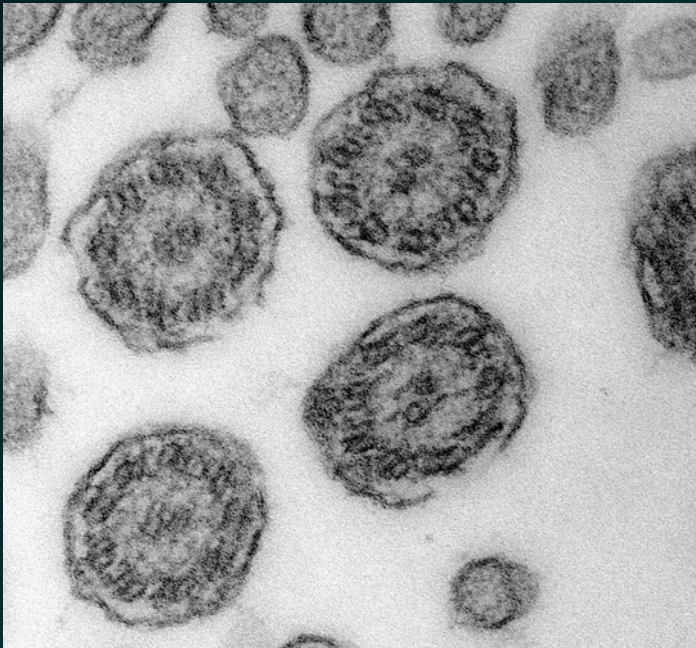
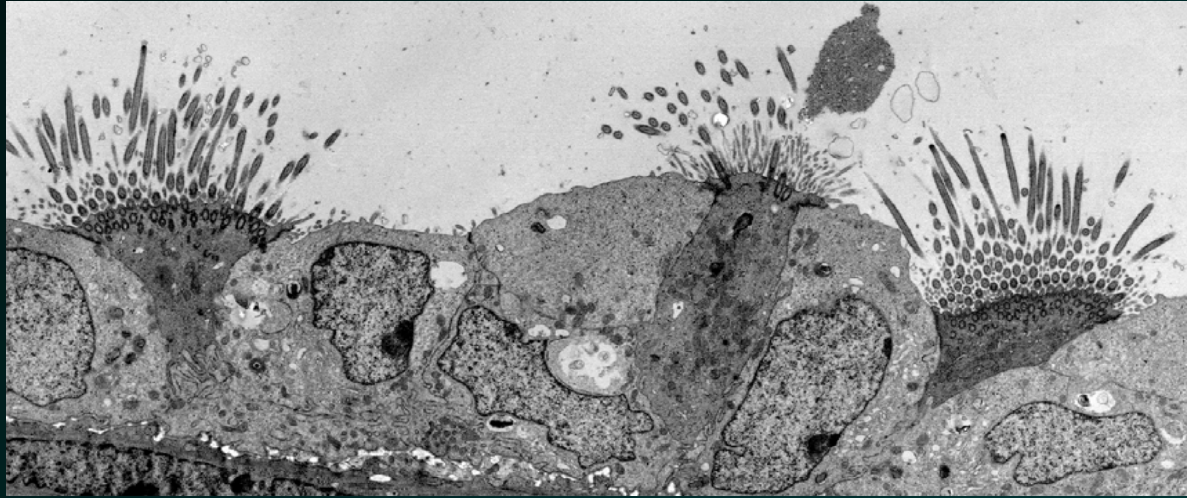


成体マウスの気管上皮



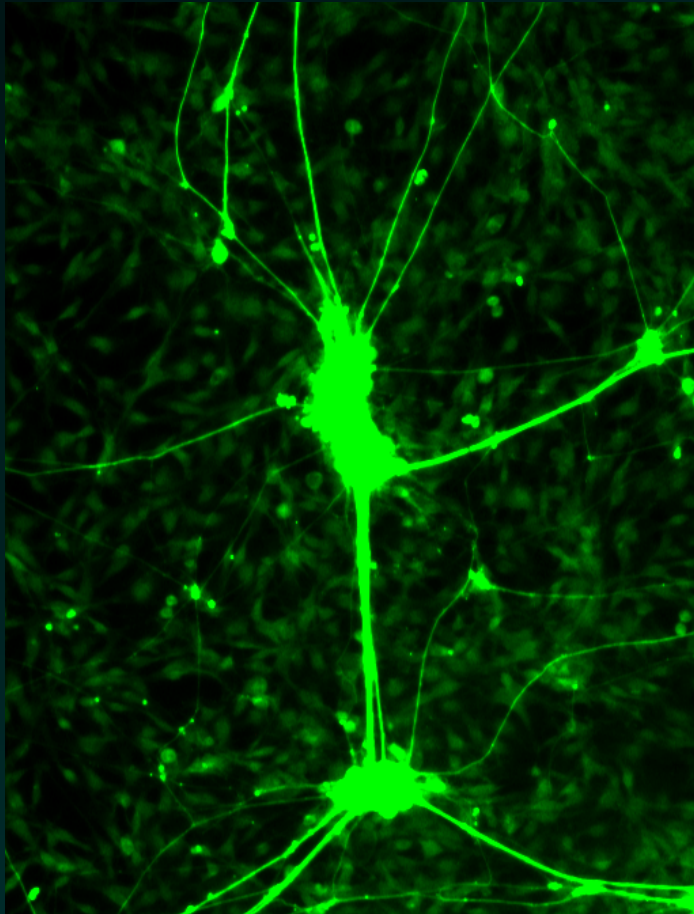
ES細胞から誘導した気管上皮様構造

マウスES細胞から誘導した繊毛細胞

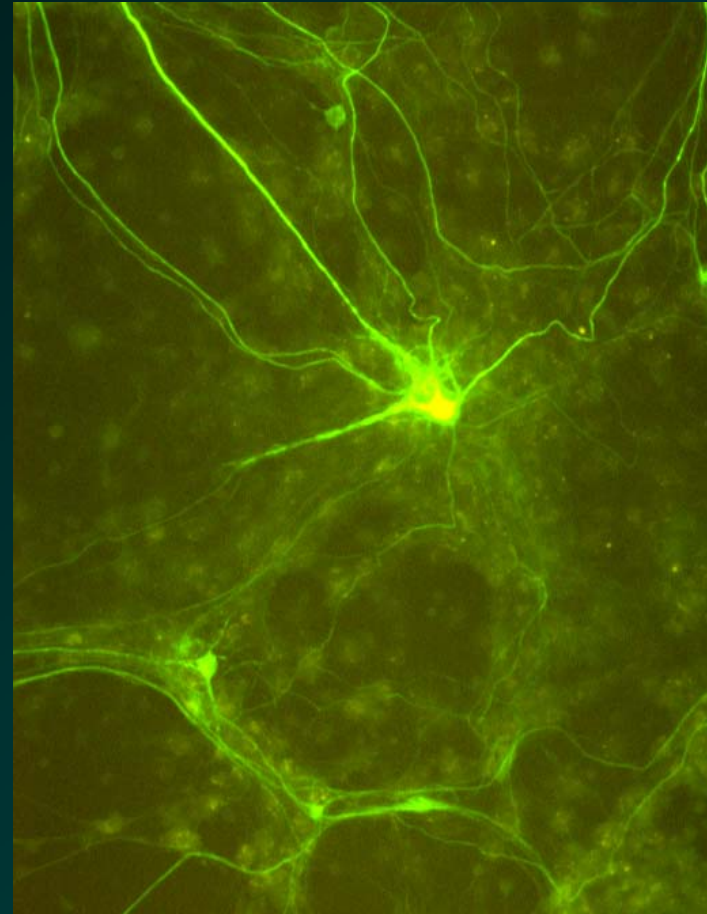


9+2 の構造をもつ繊毛である。

マウスES細胞から誘導した神経細胞



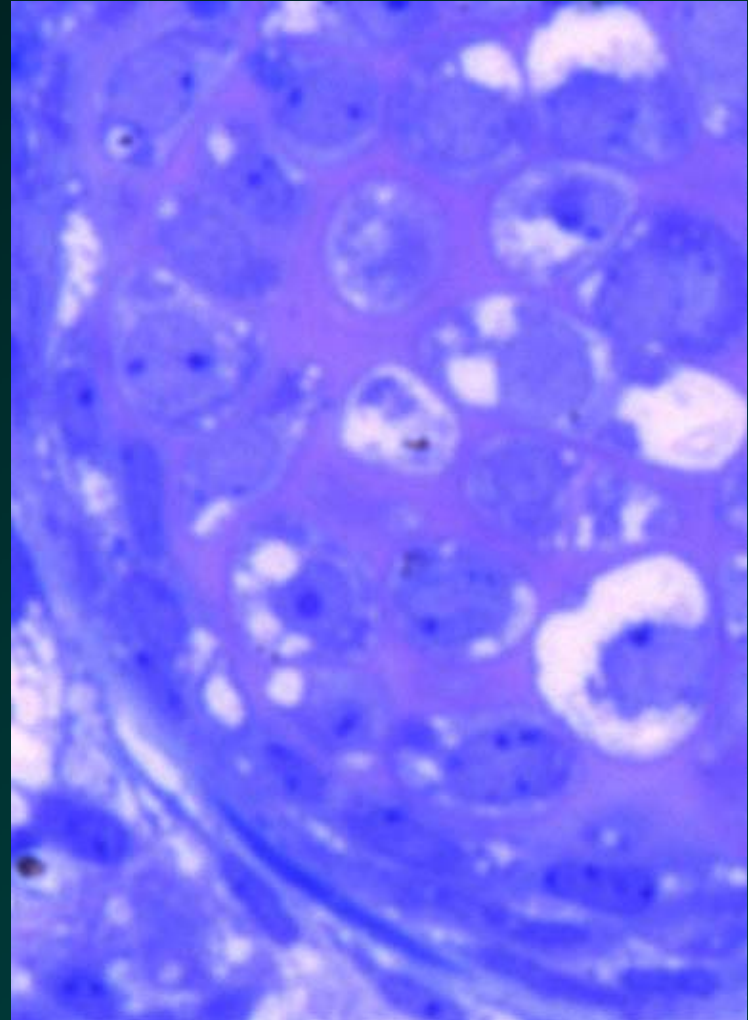
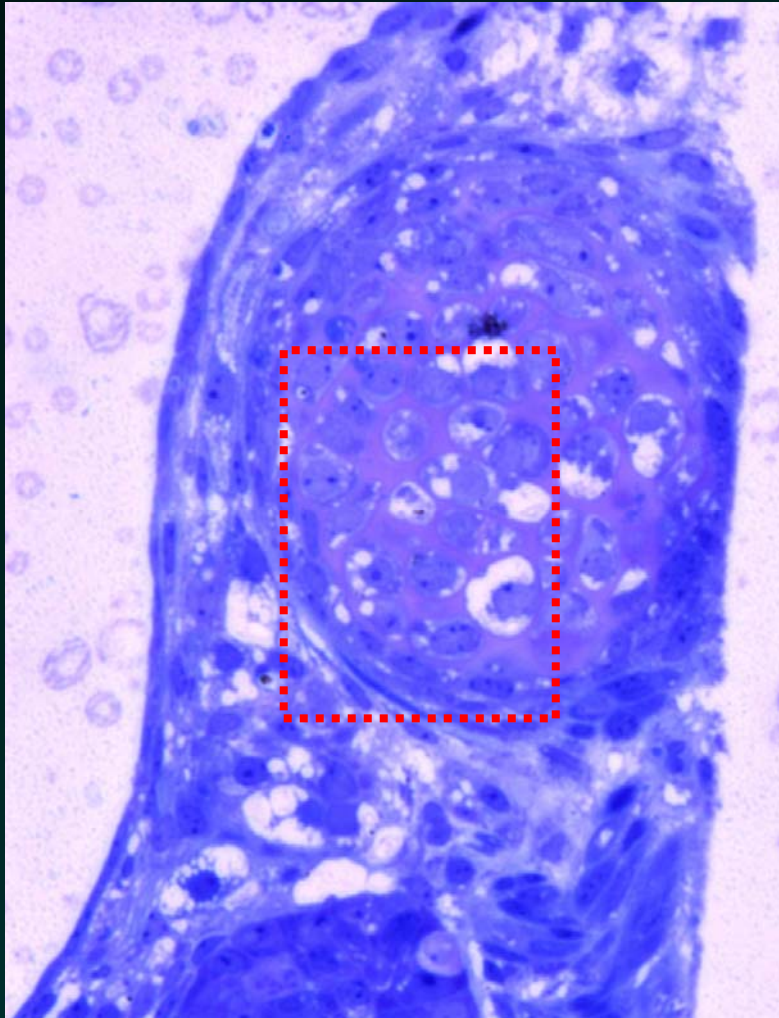
Anti-L-NF antibody (FITC)



Anti-H-NF antibody (FITC)

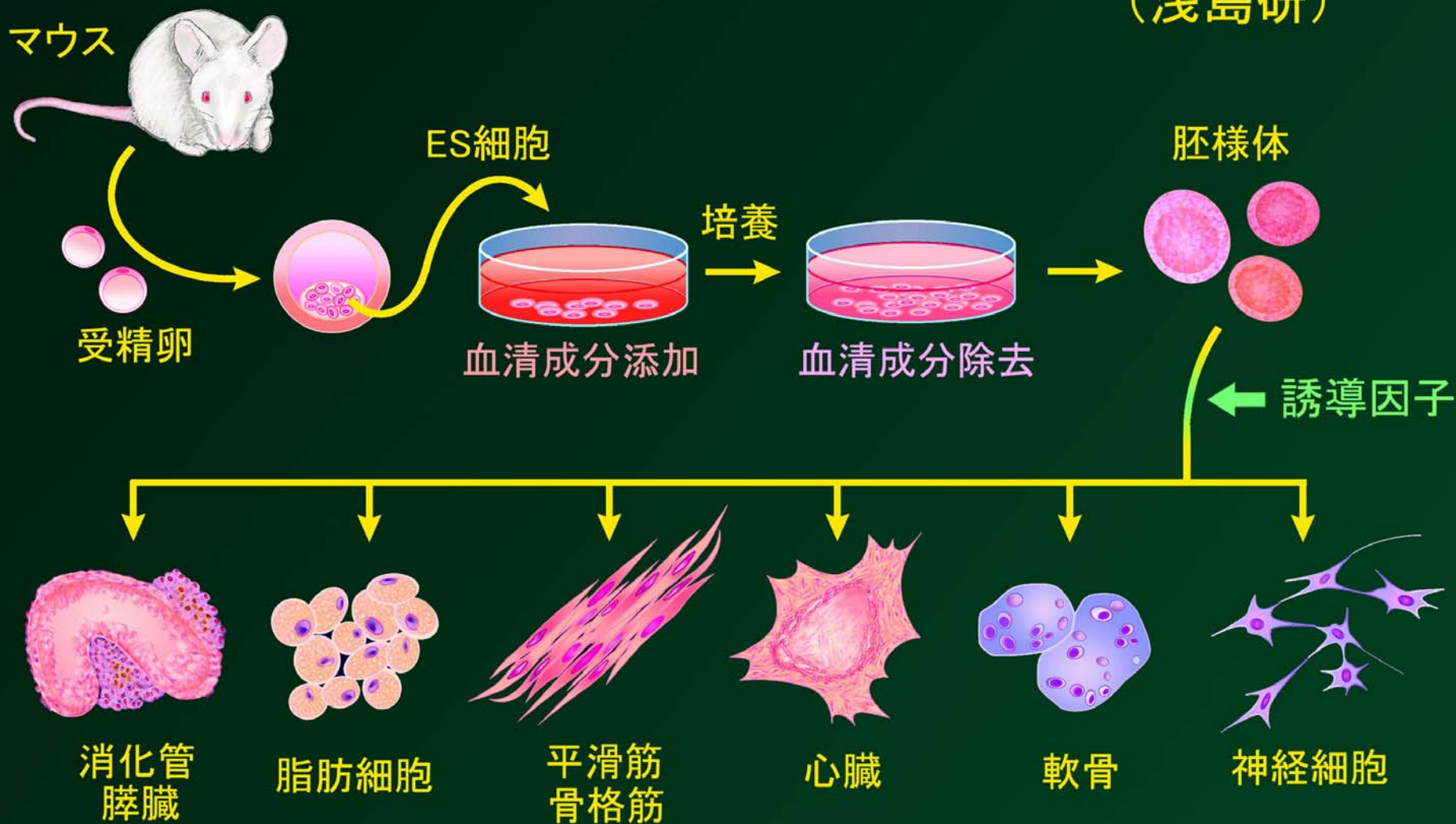
レチノイン酸と FGF2で処理することによって神経細胞が誘導できる。

マウスES細胞から誘導した軟骨細胞



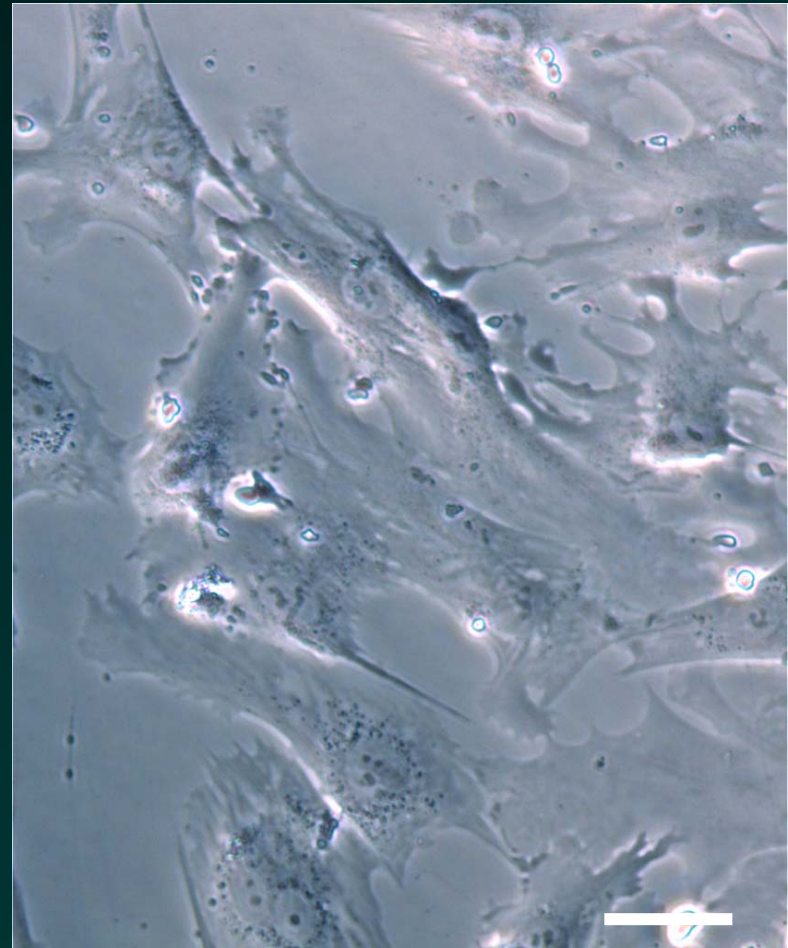
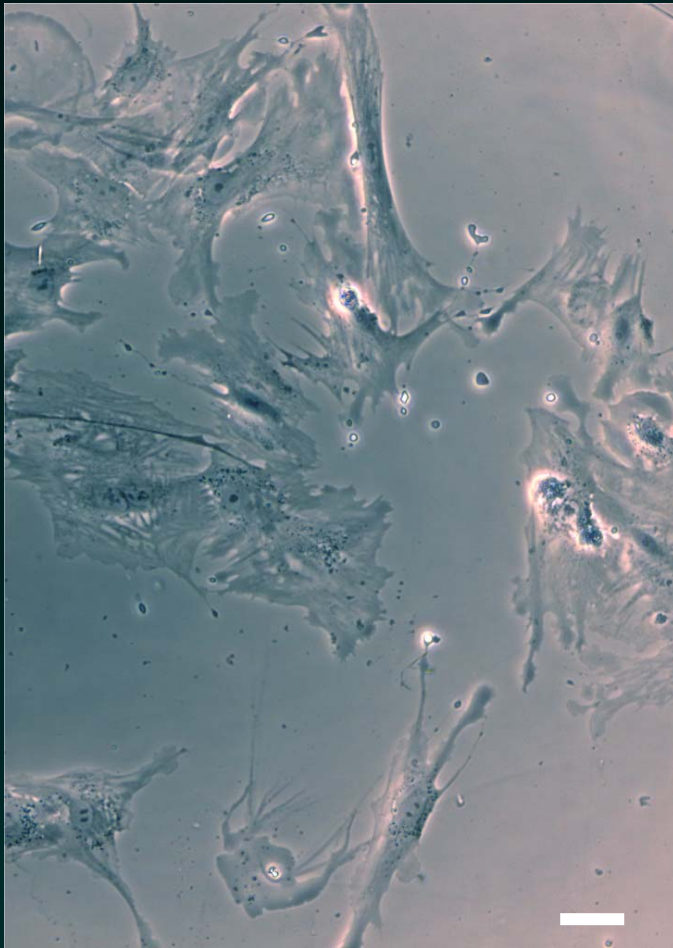
マウスES細胞からの器官誘導

(浅島研)



組織幹細胞を用いた研究の例

ヒトの組織幹細胞

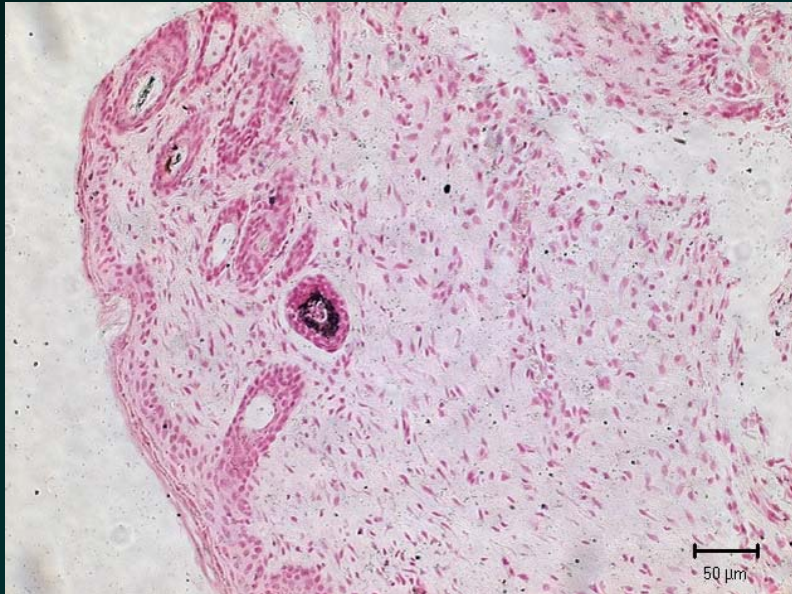


ES細胞での知見はヒト組織幹細胞でも有効だろうか？
→ 今後精力的に進められるべき研究である。

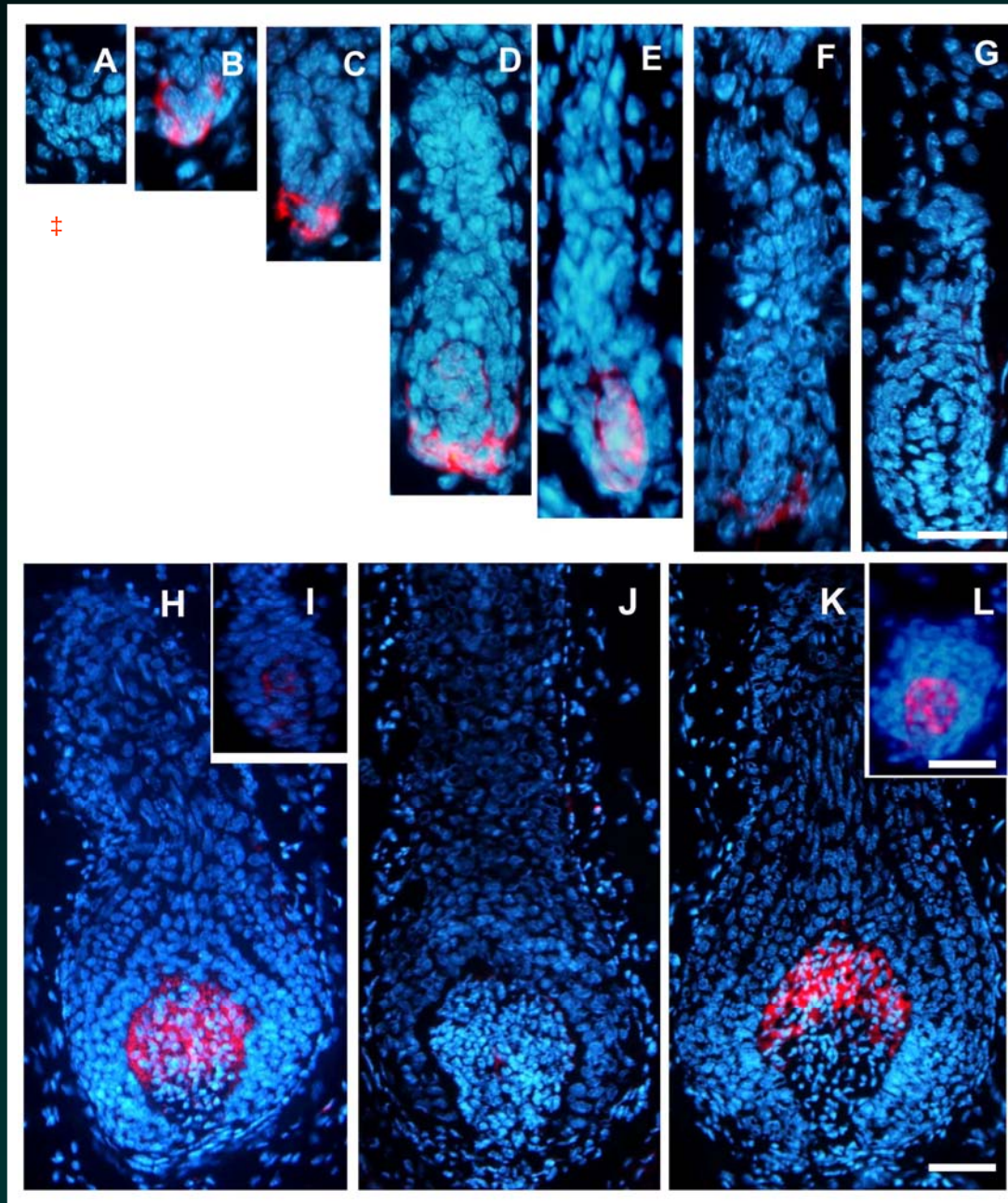
マウスES細胞及び間葉系細胞からの皮膚の毛の形成



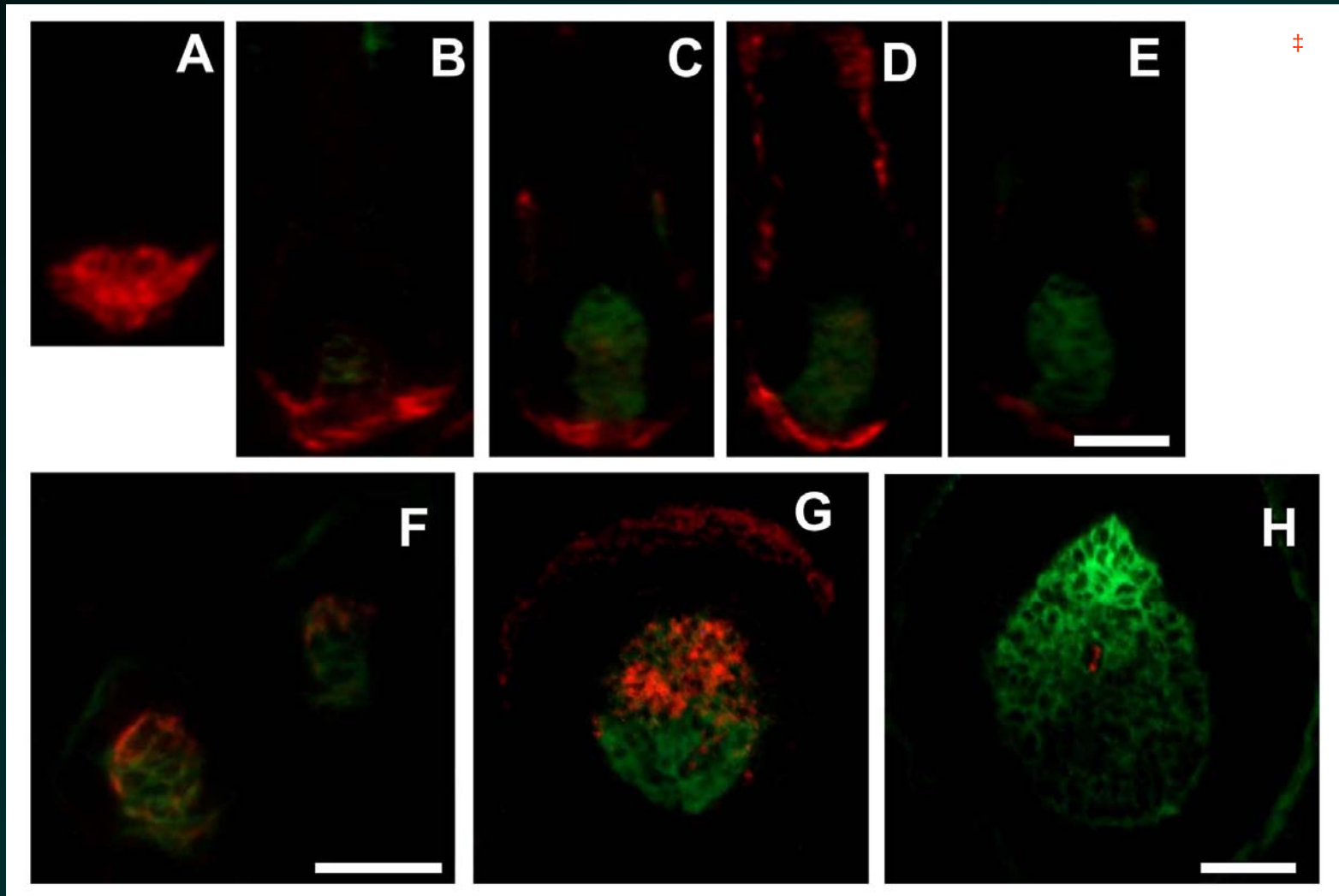
マウスES細胞及び間葉系細胞からの皮膚の毛の形成



マウス皮膚における毛嚢の形成と未分化細胞の局在



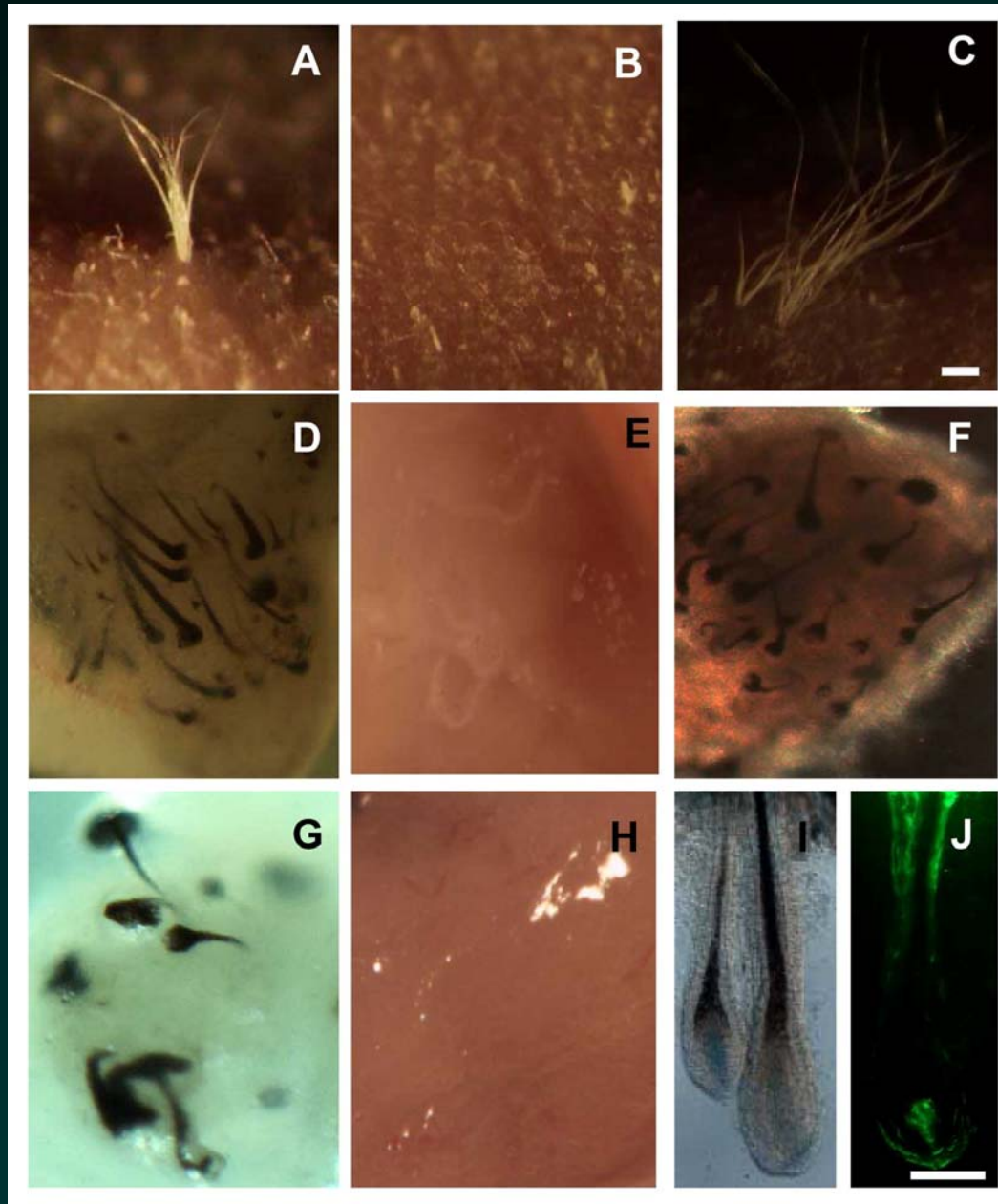
マウス皮膚における抜毛後の毛囊の変化



Ito Y. et al., J Invest Dermatol. 2006 Dec 21; [Epub ahead of print], p3-Fig.2(a-h)

マウス皮膚への毛嚢未分化細胞の移植後の変化

+



現在までに行われているヒトの再生医療の具体例

(1) 皮膚移植

(2) 軟骨、骨の再生

— スキャフォールド等を使っている

(3) 角膜移植 (一部)

(4) 血管再生 (HGF, VEGF など)

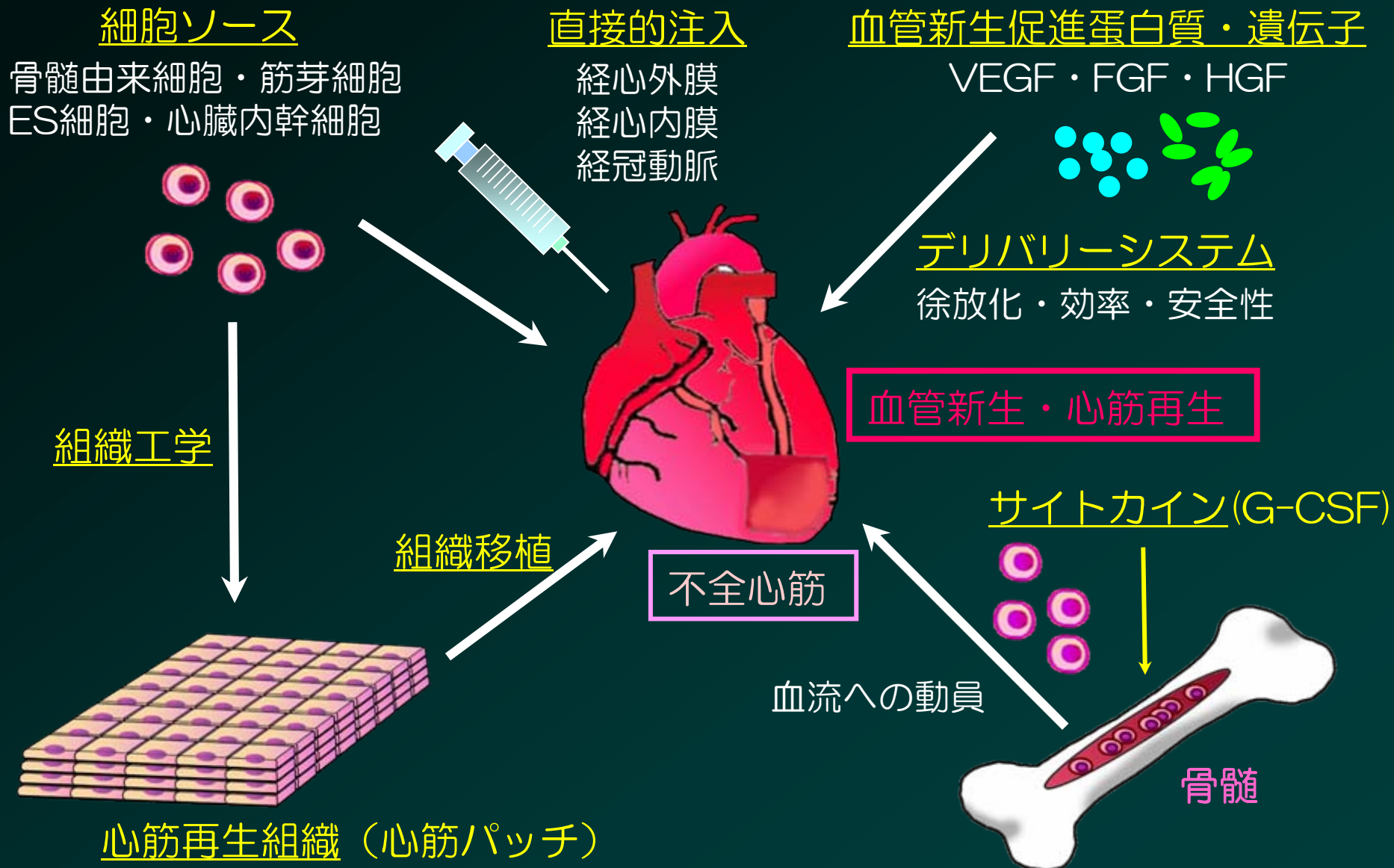
(5) 歯芽再生

など

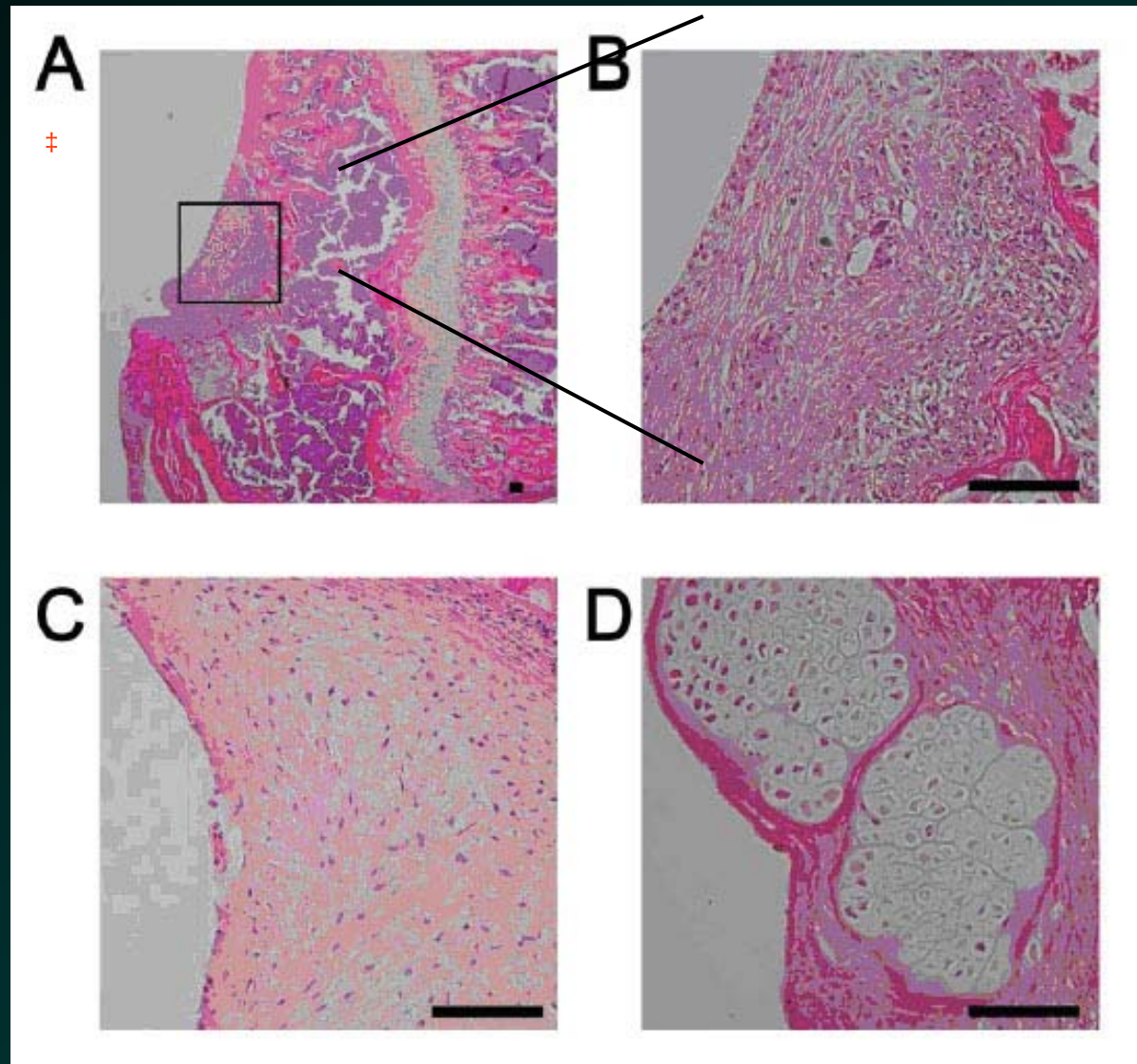
人工皮膚

著作権処理の都合で、
この場所に挿入されていた
“人工皮膚の写真”を
省略させていただきます。

心臓における再生医療の概念図



ヒト間葉系幹細胞 (hMSC) 移植による軟骨の再生



A, B
無処理の軟骨欠損部位
(Control)

C, D
hMSCの移植された
軟骨欠損部位

今後の研究方向

