

東京大学大学院総合文化研究科

最終講義

動物の発生の仕組みを探し続けて  
40年



東京大学大学院総合文化研究科

浅島 誠

2007年3月3日 於：駒場キャンパス900番教室

※: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。



私の生物学は朱鷺から始まった

# 自然と生き物に学ぶことから生物学は始まる



生き物の現場を見、観察することによって  
新しい感動が生まれる



百聞は一見にしかず。

(約40年間同じ場所で採集している)

# 採集と保護の共存



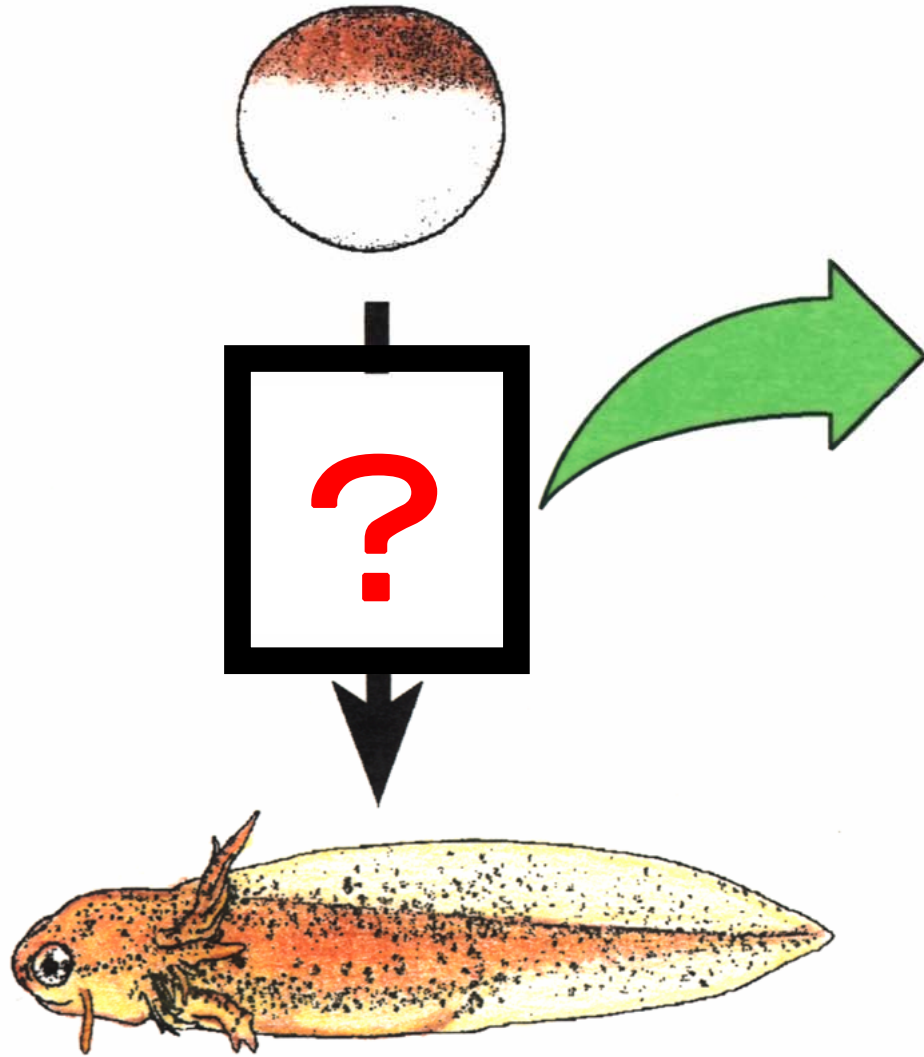
新潟県の北部で40年間、両生類などの採集と調査を行っているが、その数はほとんど変化せず、最近ではむしろ増えている。同じ場所で採集し、同じ場所に戻すことは苦勞を伴うが、これによって学生たちも新しいことを学ぶ。

# イモリ採集から学んだ例の一部

- 1・イモリの癌は冬眠している間に治癒する。→癌の低温療法
- 2・イモリの求愛行動。→相思相愛で成立。
- 3・イモリの腹の模様は遺伝する。→模様で地域がわかる。
- 4・イモリは厳冬の川の中にいる時はイモリ玉（約500～1500匹の集合体）を作って動き回っている。
- 5・イモリの手足や目やレンズは切除してもまた生えてくる。  
→再生能力の強さ。
6. イモリには地震予知能力があるか？

⇒ これらはすべて自然の中で見られることで、これによって生物の美しさ・面白さ・不思議さが感じられる。

# 卵からオタマジャクシへの形づくり



胚誘導  
細胞分化  
形態形成

・  
・  
・  
など

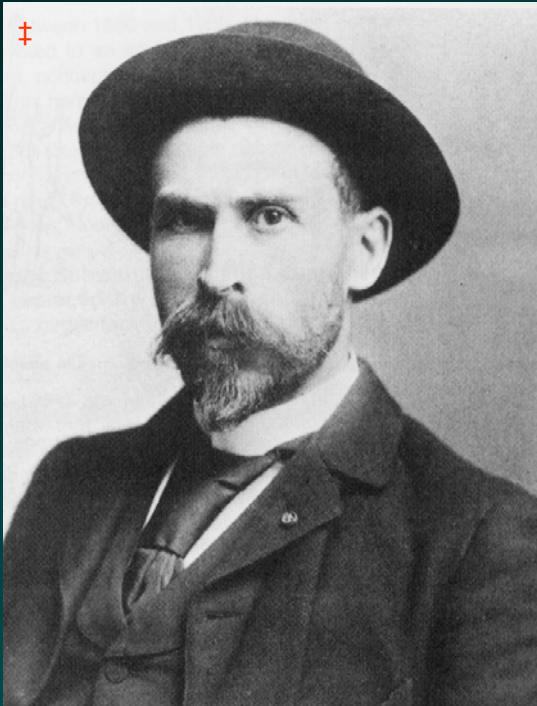
# 実験発生学の祖 ルー

動物胚（卵）に人手を加え、実証主義的な実験発生学を創始。

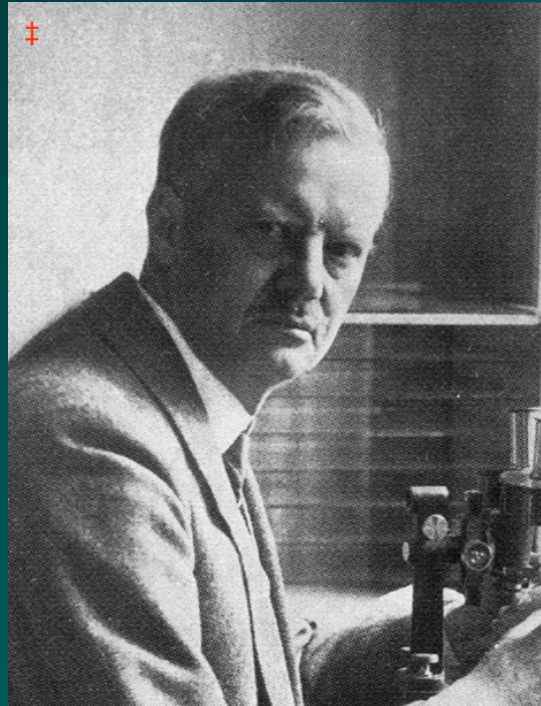
## 胚誘導の発見者 シュペーマン と マンゴールド

形づくりのセンター（形成体；オーガナイザー）を発見し、胚発生における「誘導」の存在を最初に確認。

→現代発生生物学の流れを作り出した。



**Wilhelm Roux (1850-1924)**



**Hans Spemann (1869-1941)**



**Hilde Mangold (1898-1924)**

# Über Induktion von Embryonalanlagen durch Implantation artfremder Organisatoren

Von

H.Spemann und Hilde Mangold

Mit 25 Textabbildungen

Sonderdruck aus

**dem Archiv für**

Mikroskopische Anatomie

Und

**Entwicklungsmechanik**

Herausgegeben von

**Wilhelm Roux**

unter Mitwirkung von **H.Braus** und **H. Spemann**

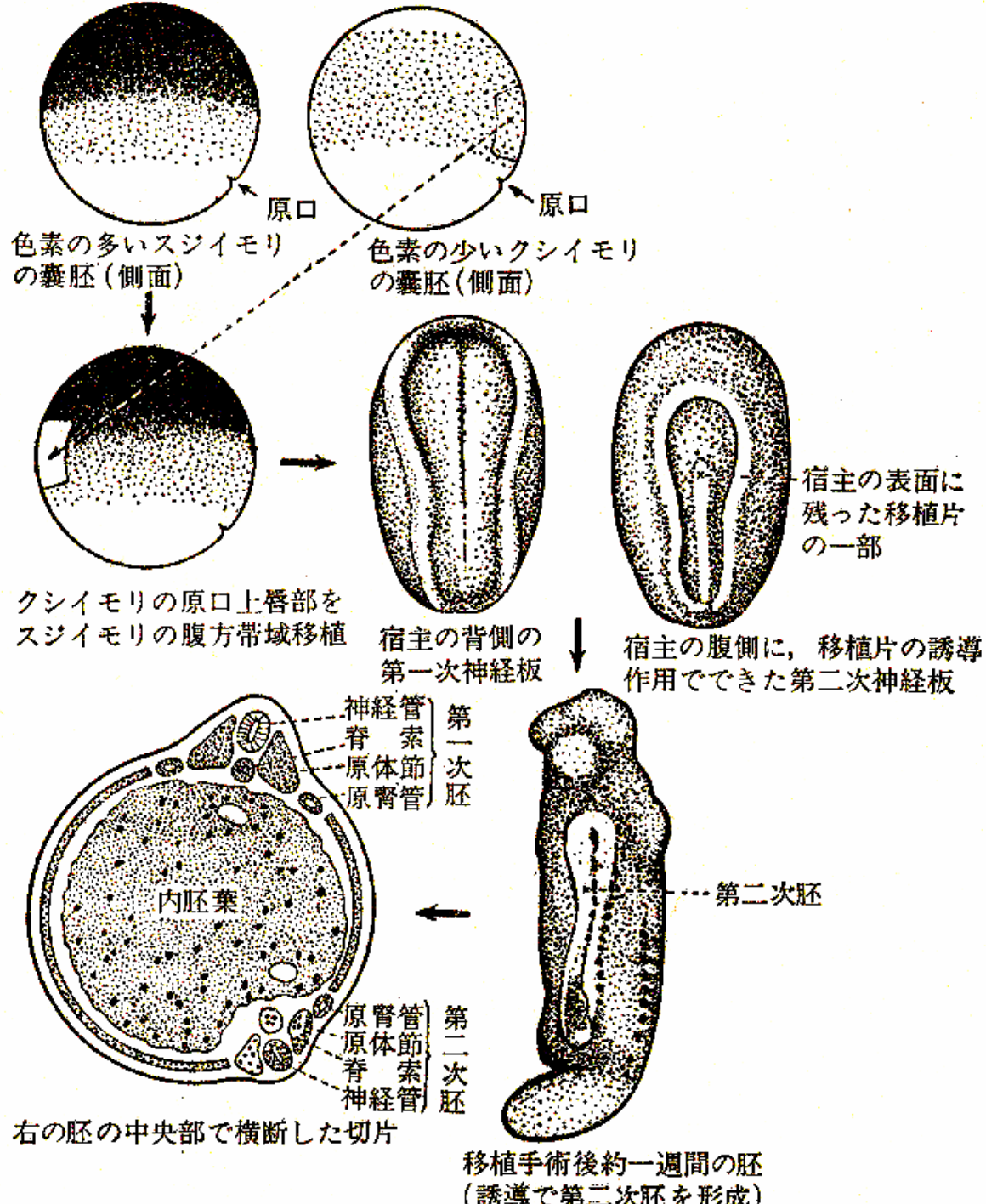
**100.Band 3./4. Heft**

**Berlin**

**Julius Springer**

**1924**

+



水野丈夫・浅島誠  
 共編「理解しやすい生物IB・II改訂版」p161-図45,  
 2001 文英堂

著作権処理の都合で、  
この場所に挿入されていた  
“スーパーマンの写真”を  
省略させていただきます。

著作権処理の都合で、  
この場所に挿入されていた  
“スーパーマンのノーベル賞の写真”を  
省略させていただきます。

**1935年ノーベル生理医学賞受賞**

カエル  
イモリ

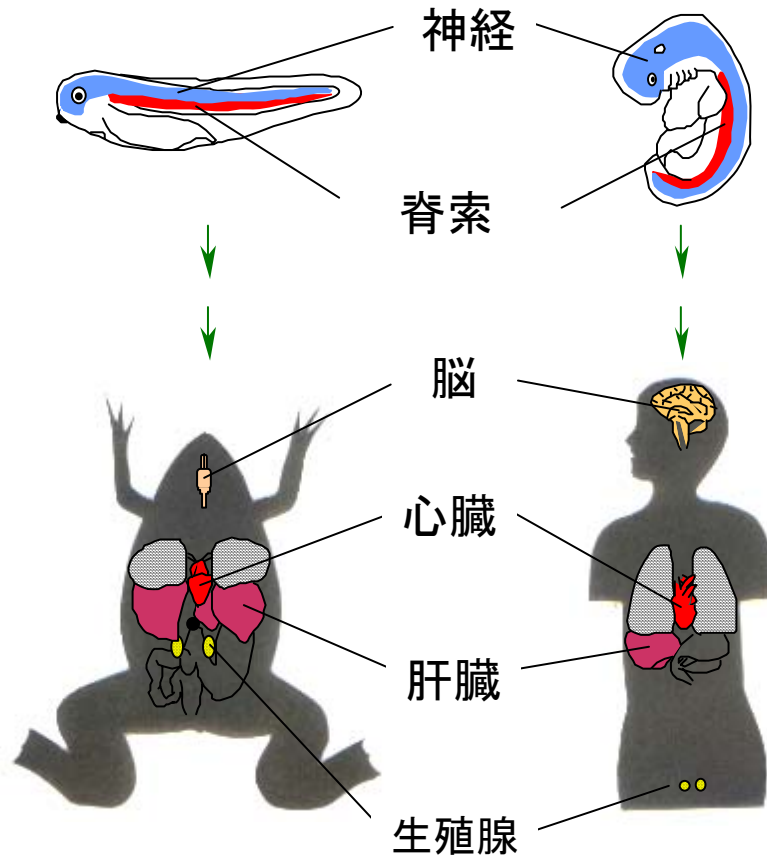


ヒト  
マウス



受精卵

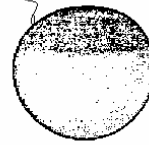
# 共通のシステム



# 共通の臓器

# 両生類の初期発生と胚誘導

受精



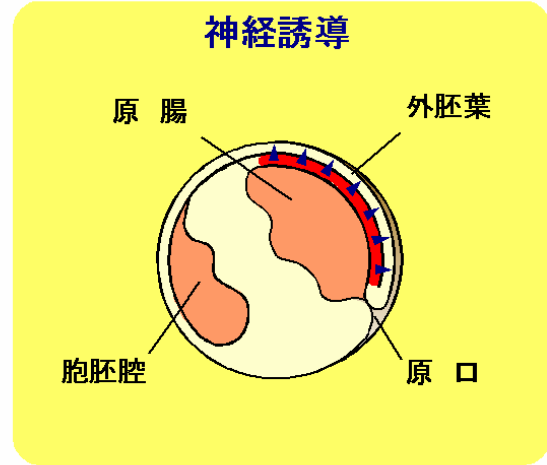
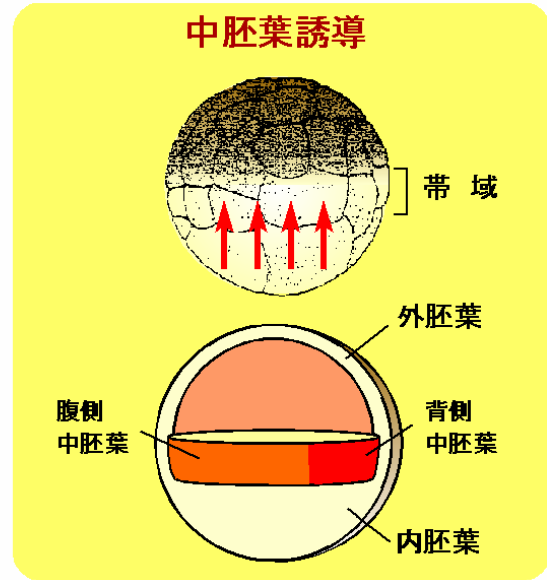
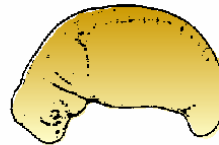
卵割



原腸形成

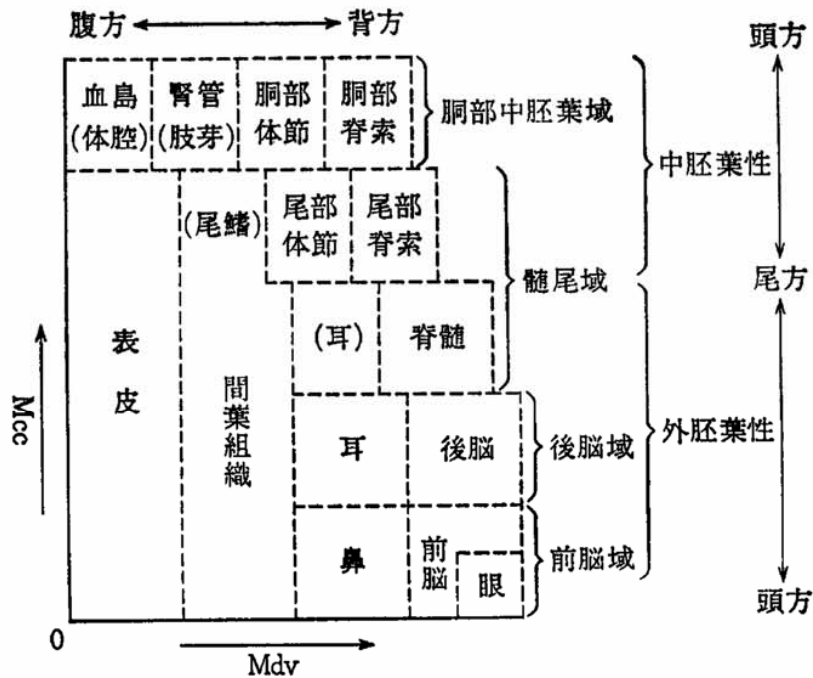


神経形成



# 動物の形づくりにおける誘導因子の濃度勾配説

## 「重複ポテンシャル理論」

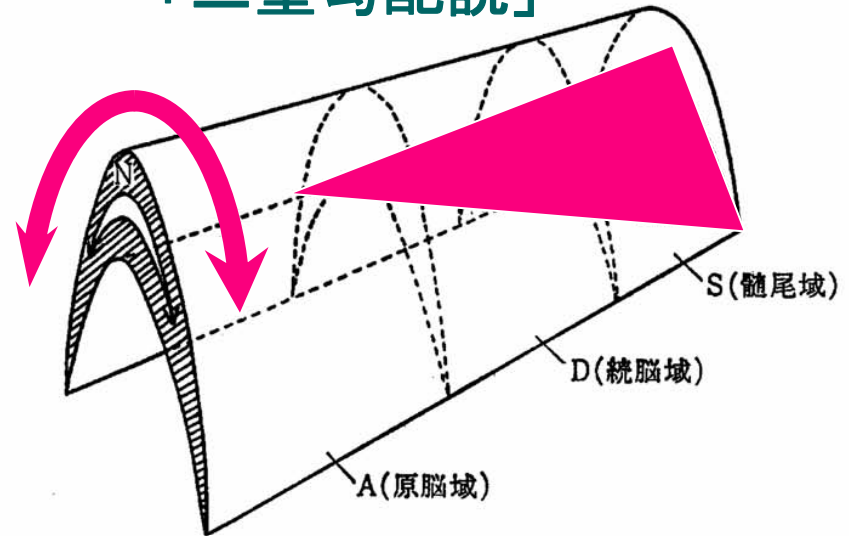


重複ポテンシャル論による Mdv, Mcc が予定外胚葉に働いた際に生ずる各種分化過程の模式図。  
(Yamada 1956, a. b.)

Mdv=背腹規定能

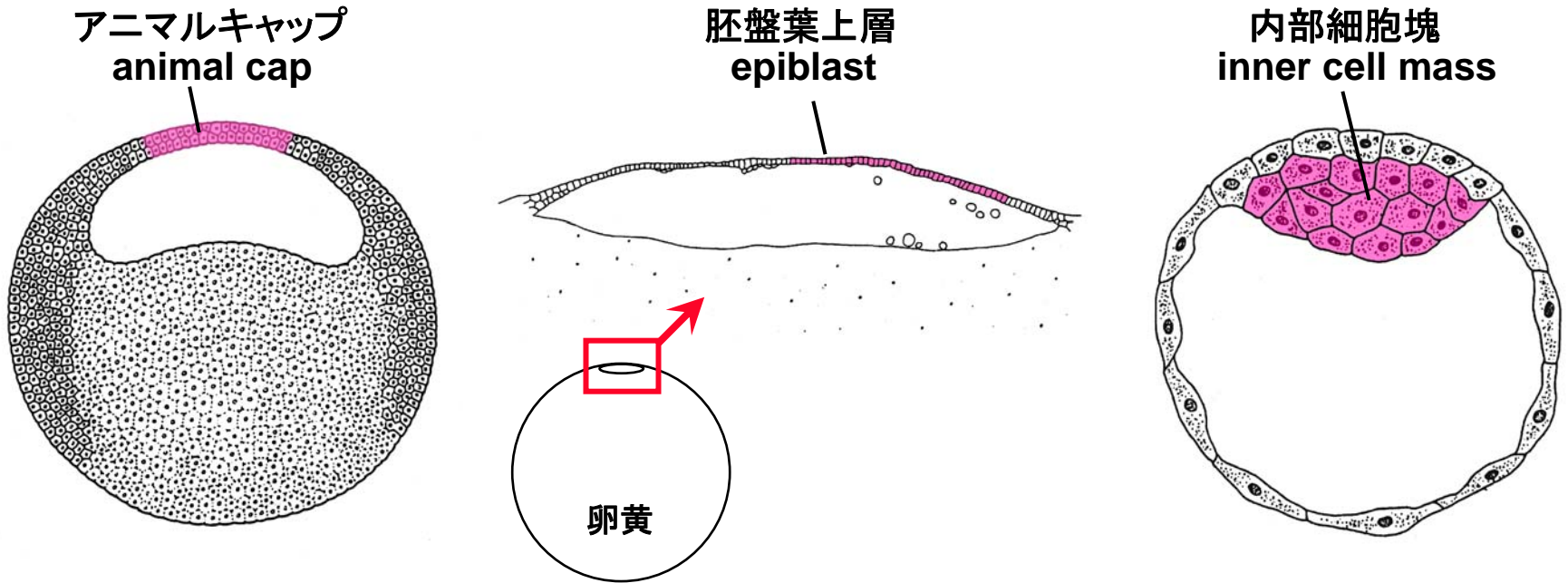
Mcc=頭尾規定能

## 「二重勾配説」



二勾配説の模式図。M, 中胚葉化活性; N, 神経化活性; A, 頭端部誘導; D, 統脳部誘導; S, 髓尾部誘導。  
(Toivonen & Saxén, 1955 より)

# 脊椎動物胚における多能性幹細胞

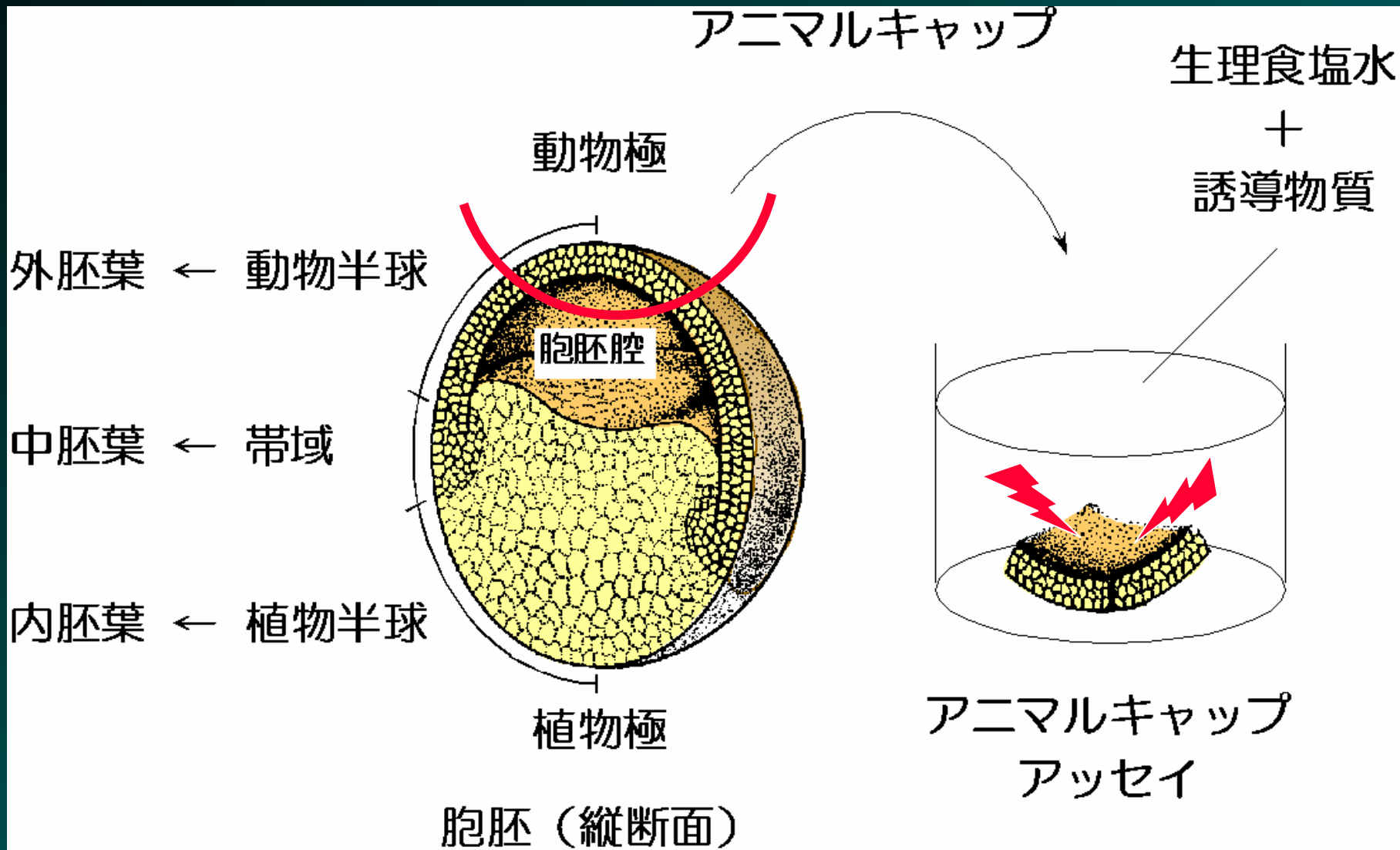


アフリカツメガエル  
イモリ  
(両生類)

ニワトリ  
(鳥類)

ハツカネズミ  
ヒト  
(哺乳類)

# アニマルキャップ・アッセイ



1950年頃までは発生の研究と言えば、その約半数は誘導に関するものであったといっても過言ではない。それが、たとえば1981年に開催された「国際発生生物学会議」において直接に誘導を取り扱った講演題数はわずか2題となっている(この少なさはいささか異常の感はある)。ともかくも、誘導研究の衰退はおおい隠すべきもない。テーマとしての重要性は、今もって自明であるにかかわらず、何故、研究者の関心はかくも速やかにこの問題から離れていったのだろうか？

岡田節人著

「からだの設計図」—プラナリアからヒトまで—、岩波新書358 より

形成体と胚誘導の研究の歴史は、大げさにいうと不幸な、汗と努力のドキュメントである。不幸な研究歴史にもかかわらず、発生における形成体の働き、誘導作用の存在の重要性はなんら変わるところはない。・・・

形成体とか胚誘導の問題に真正面から取り組んで研究し、かくかくのやり方で実験すれば理解できた、というような事態はひょっとしたら将来にも期待できないかもしれない。まったく別の側面で、かつ別の概念によって研究を進めていくうちに、形成体の働きとは、ああじつはこういうことだったんだなあ、ということになってこの問題の決着がなんとなくついてしまうのではないだろうか？

岡田節人著

「からだの設計図」ープラナリアからヒトまでー、岩波新書358 より

# ドイツ ベルリン自由大学 分子生物学研究所



# ベルリン自由大学 分子生物学研究所の研究員の頃のイモリ採集



**From International Journal of Developmental Biology  
(Vol. 40, 113-122, 1996)**

著作権処理の都合で、  
この場所に挿入されていた

H.Spemann “Experimentelle Beitrage Zu Einertheorie Der Entwicklung”

中村治・川上泉「オーガナイザー」

O.Nakamura and S.Toivonen “Organizer”

それぞれの表紙を省略させていただきます。

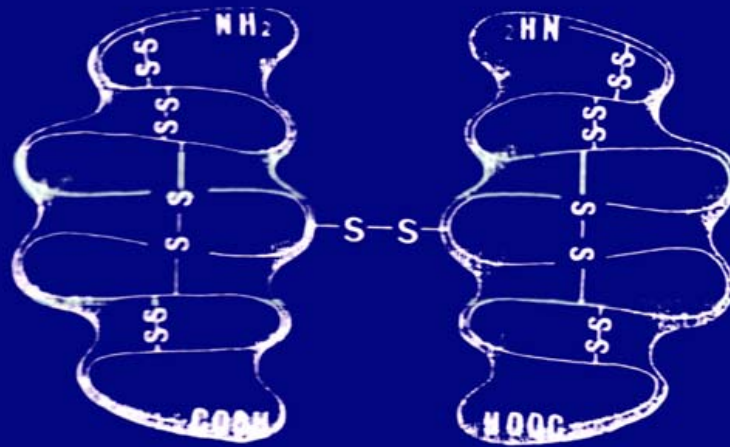
1936年刊

1977年刊

1978年刊

この当時胚誘導の研究は  
どん底の状態にあった。

# アクチビンAの構造の模式図



Molecular weight : 25,000 ( 12,500 X 2 )

homodimer

Amino acids : 232 ( 116 X 2 )

SH = 18

# アクチビンが中胚葉誘導因子であることを発表した論文

1. 1989 Sept. Asashima et al. MI factor (Japan)
2. 1990 Feb. Asashima et al. MI factor (Japan)
3. 1990 June J. C. Smith et al. MIF factor (U.K.)
4. 1990 June A. J. M. Van den Eijnden et al. MIF factor  
(The Netherland)
5. 1990 Aug. D. A. Melton et al. PIF factor (U.S.A.)
6. 1990 Aug. H. Tiedemann, Asashima Vegetalizing factor  
(Germany, Japan)

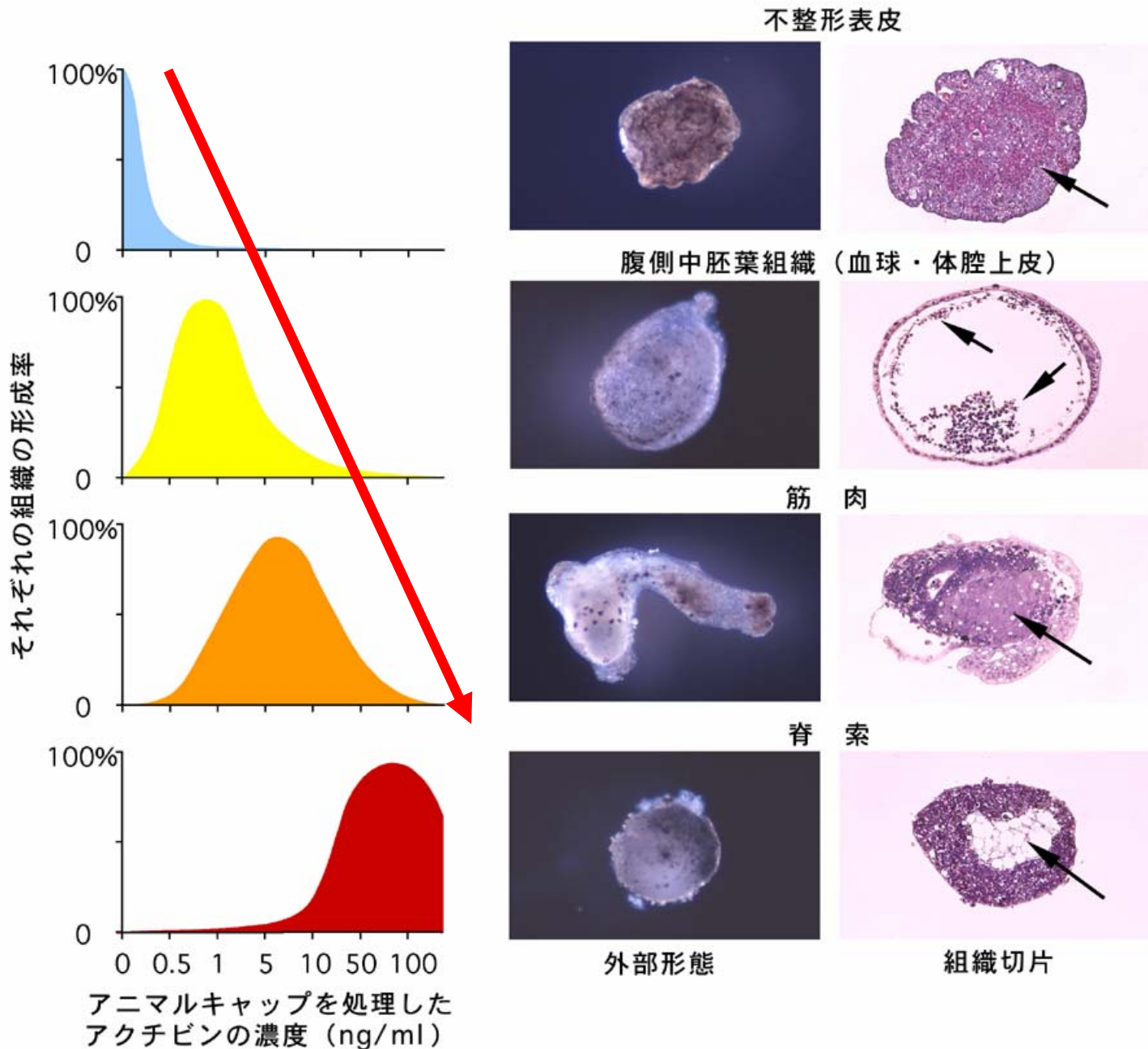
これによって、約75年間世界中で探し続けていた誘導物質が  
アクチビンというタンパク質に集約された。

しかし、この文章に私の書いたシニカルな態度は、全く捨てたものでもないと今も考えている。というのは、昔と変わらず復活された現今の研究でも誘導のための役者(遺伝子である!)はすでに多過ぎるほどリストアップされているのだ。もちろん、中胚葉誘導の方はいわゆる成長因子が、神経誘導(形成体作用)の方はホメオ遺伝子の産物が、役割を担うことはほぼ確からしい。とくに前者でのアクチビンの働きは際立っている。

岡田節人著

「からだの設計図」ープラナリアからヒトまでー、岩波新書358より

# アクチビン処理したアニマルキャップの濃度依存的な中胚葉分化



# アクチビン処理したアニマルキヤップの 伸長運動と筋肉分化



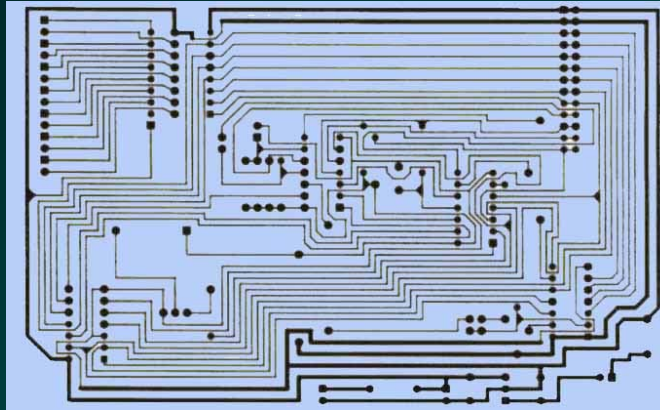
この運動を通して、筋肉が出来るための全ての遺伝子が規則正しく発現してくることが分かってきた。

# 器官形成モデル

正常細胞

因子  
いろいろな

Black Box

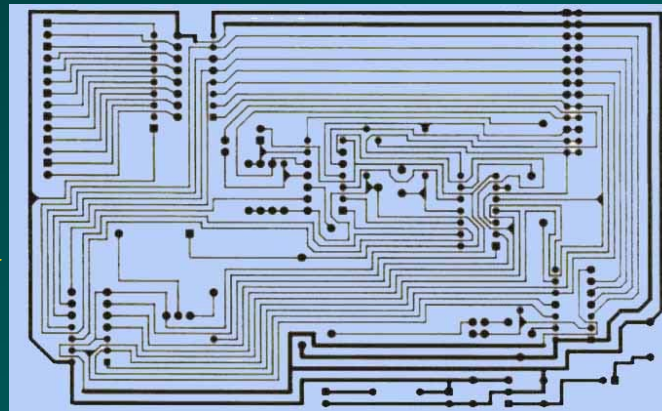


アニマルキャップ、マウス等ES細胞

アクチビン



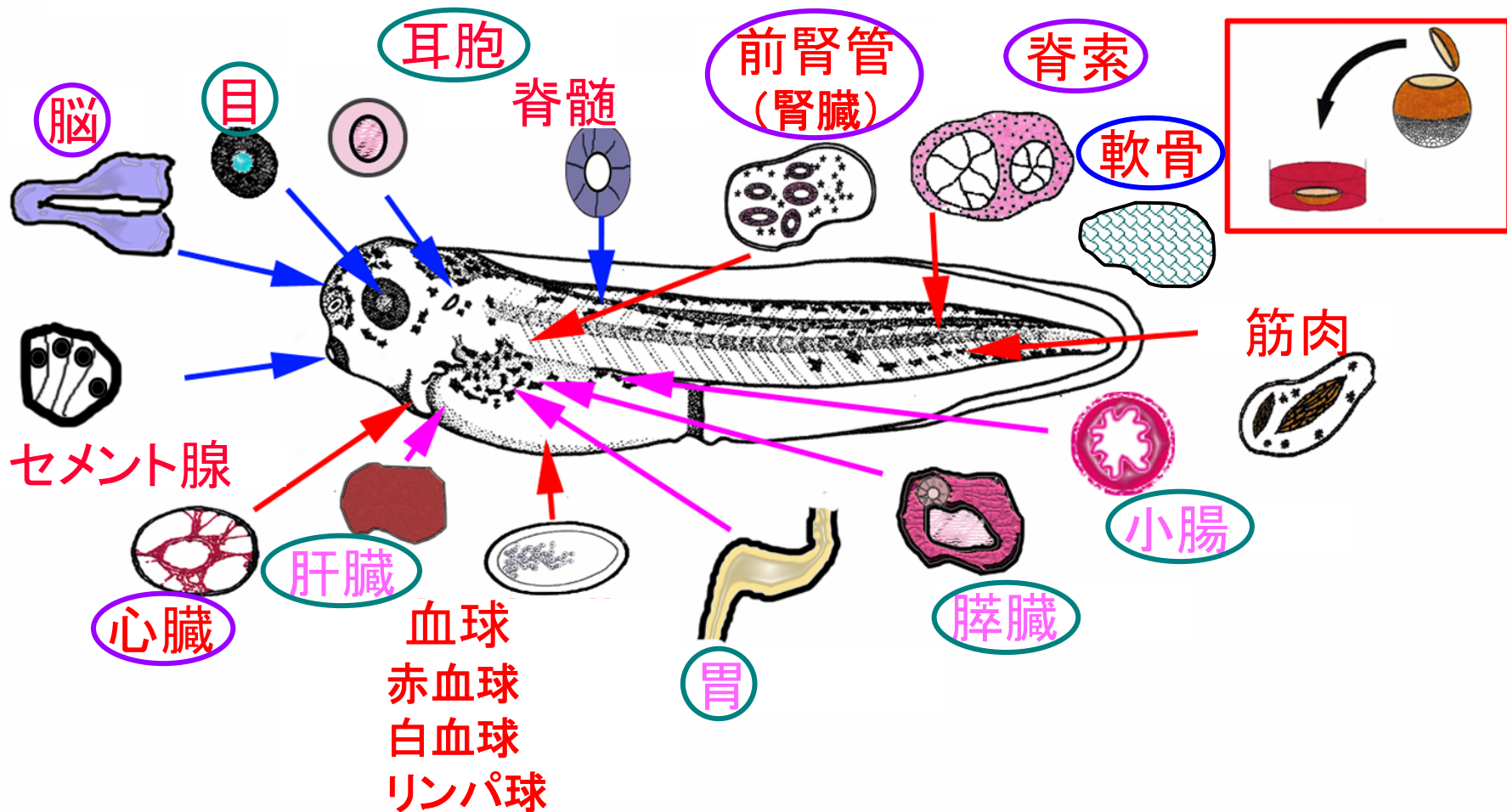
レチノイン酸



同じ筋肉



# ツメガエルの未分化細胞(アニマルキャップ)から試験管内で作った器官や組織(浅島研)

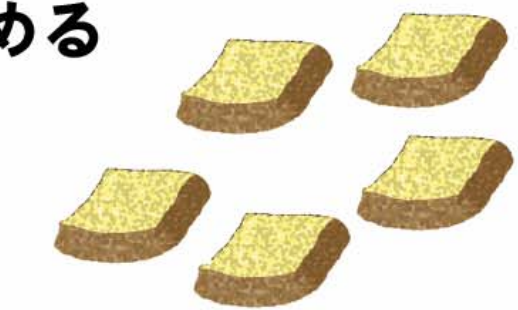


これまでに未分化細胞から22の器官や組織をつくった。

# 両生類の未分化細胞（アニマルキヤップ） からの心臓形成と移植

# ツメガエルのアニマルキャップから心臓をつくる

アニマルキャップを集める

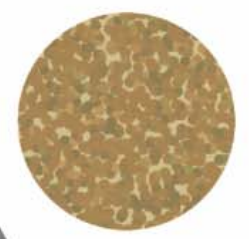


-Ca<sup>2+</sup>



細胞を解離して  
アクチビンで処理する

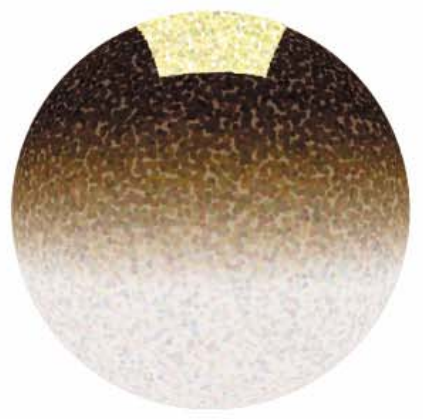
+Ca<sup>2+</sup>



心臓？



細胞を再集合させて  
培養する



# アニマルキップからつくられた心臓の拍動



100 ng/mL のアクチビンで処理してつくった心臓

# 試験管の中で分化誘導した心臓原基の生体移植実験

## ドナー心臓の分化誘導



胞胚(st. 8)から  
アニマルキャップを切除



5時間

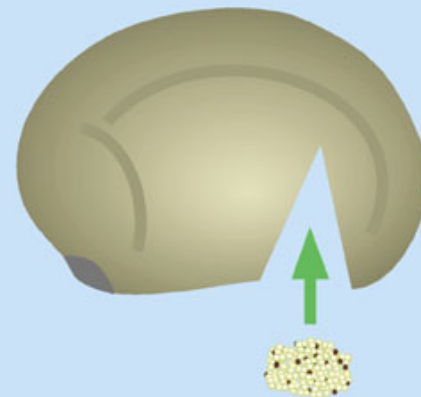
アニマルキャップ細胞の解離と  
100 ng/ml アクチビン処理



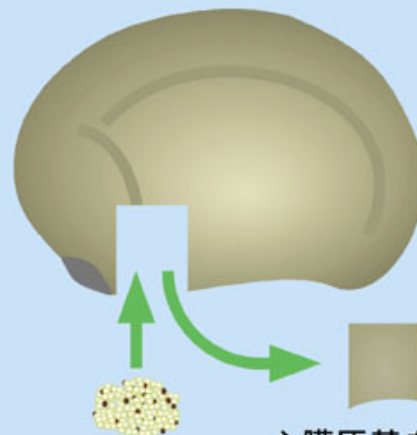
約20時間

生理食塩水の中で培養

## 生体移植



異所性移植



心臓原基を摘出

交換移植

## ホスト胚の発生



胞胚(st. 8)

約24時間



神経胚(st. 20)

# アニマルキップから分化誘導した 拍動組織を移植した胚

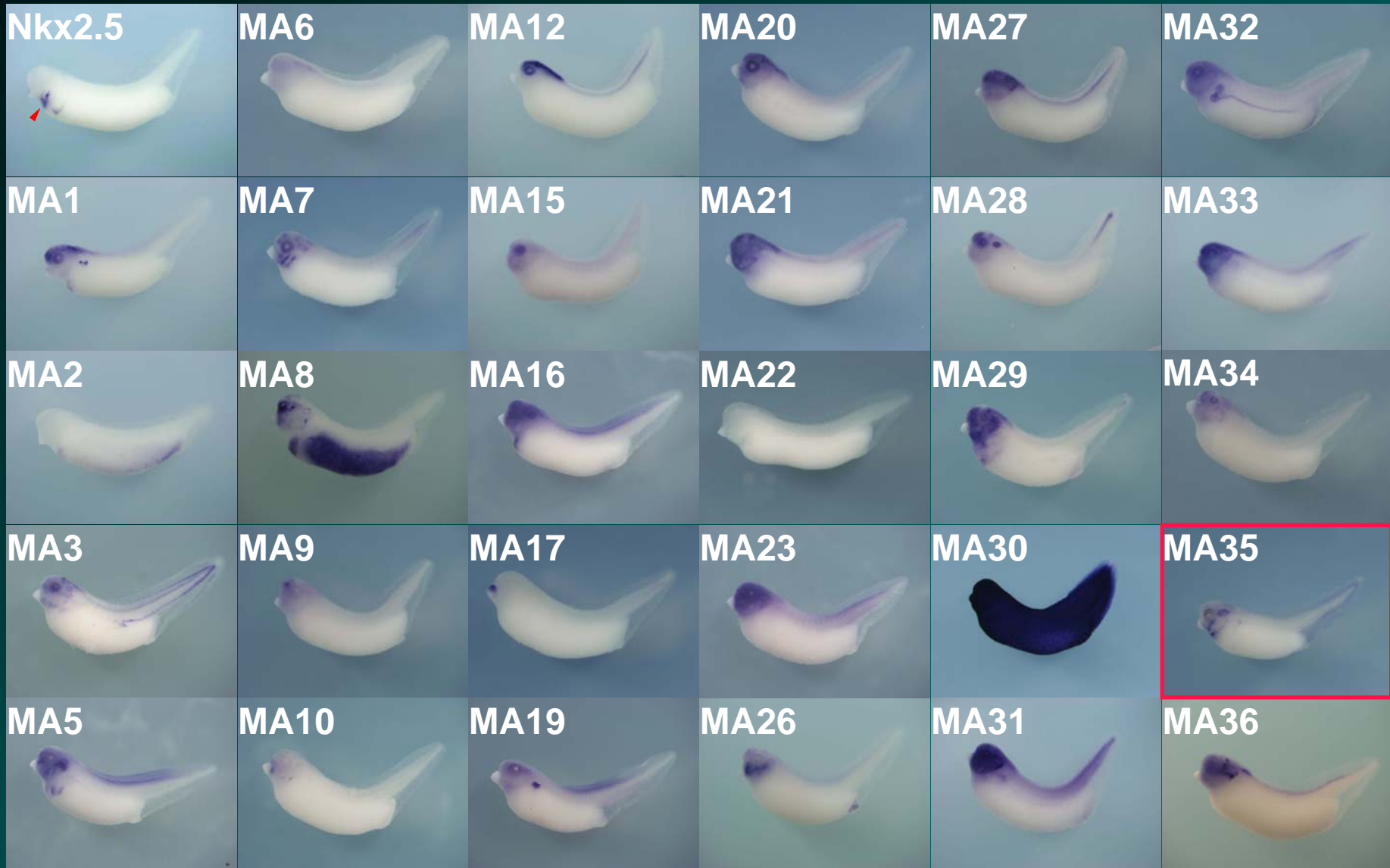


# 異所性の心臓移植幼生

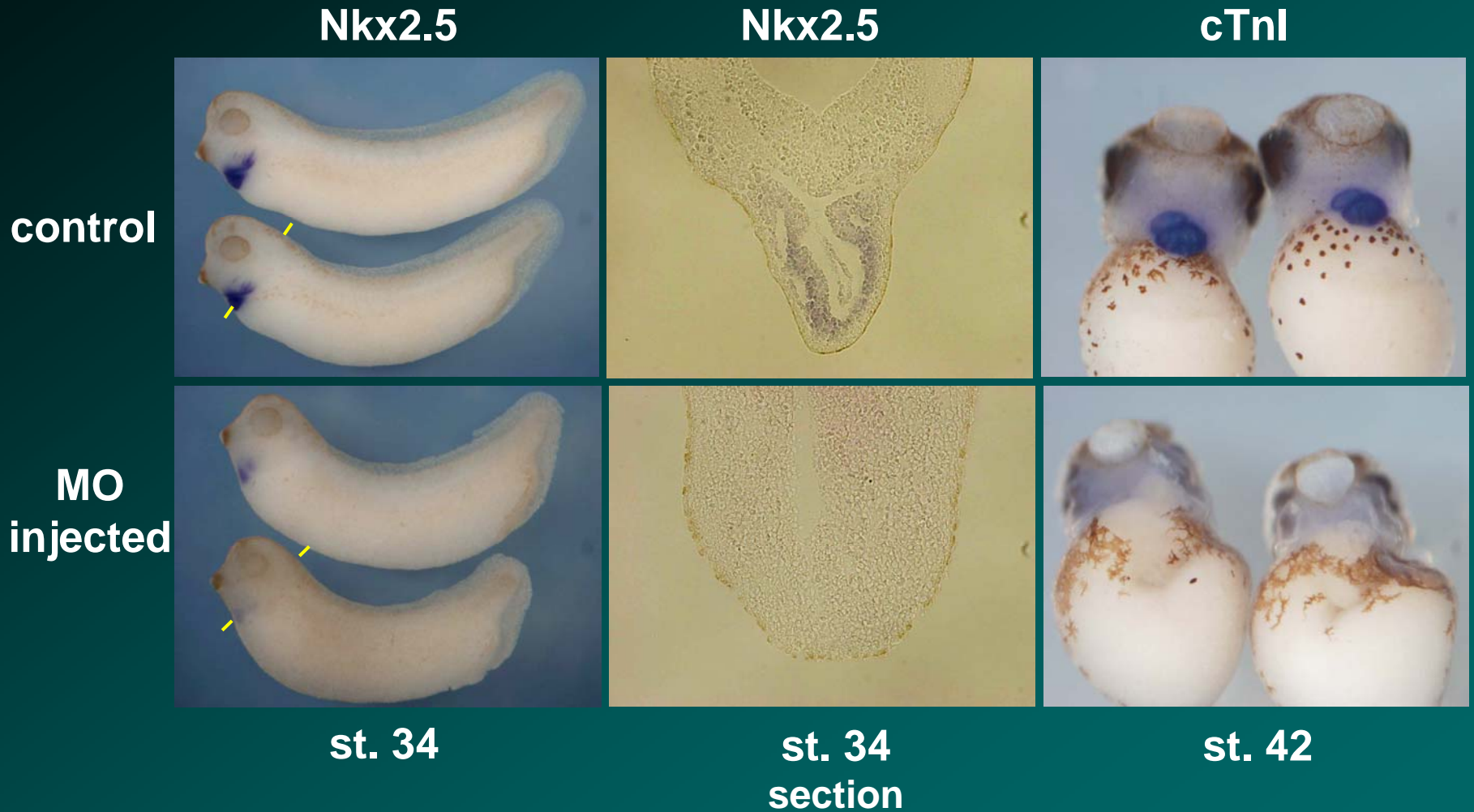




# *in situ* ハイブリダイゼーションによる 心臓関連遺伝子の探索



# MA35遺伝子の機能阻害による心臓形成の不全①



## MA35遺伝子の機能阻害による心臓形成の不全②



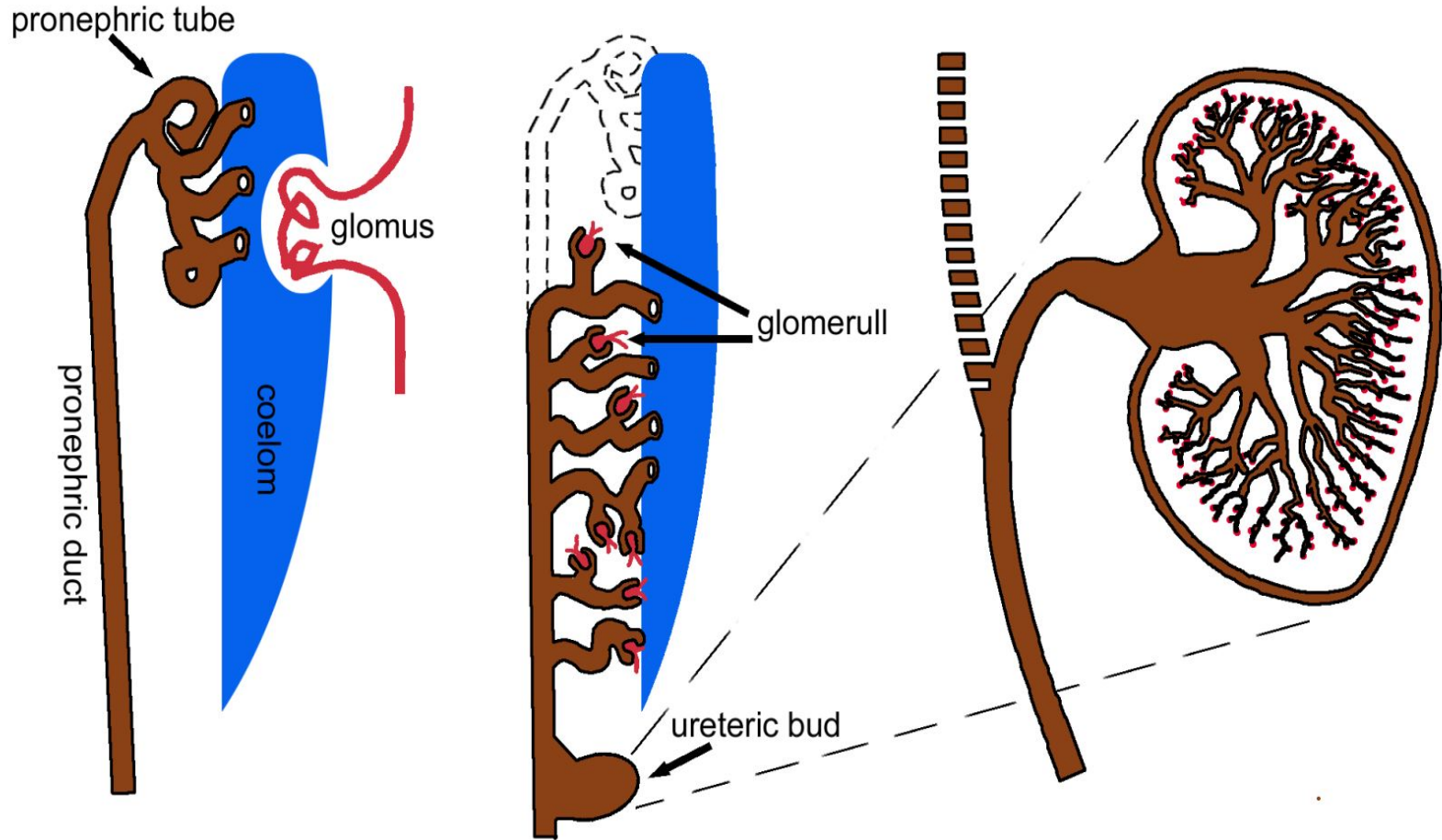
対照(正常胚)



MA35機能阻害胚  
(心臓欠損)

# 両生類の未分化細胞からの 腎臓形成と移植

# 腎臓の発生

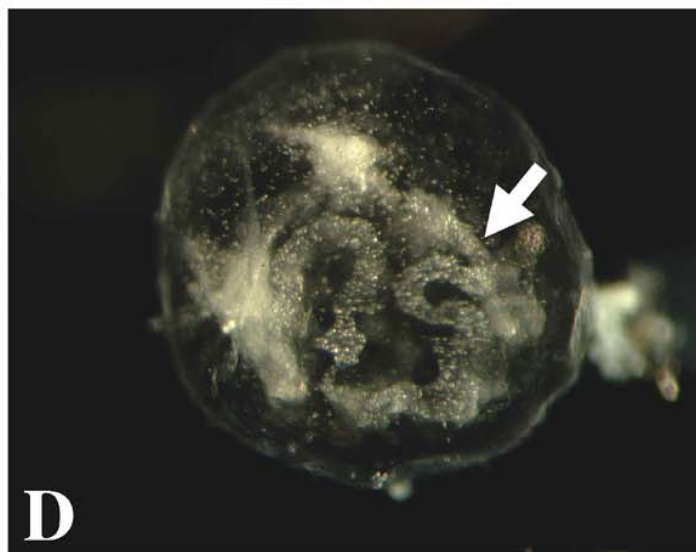
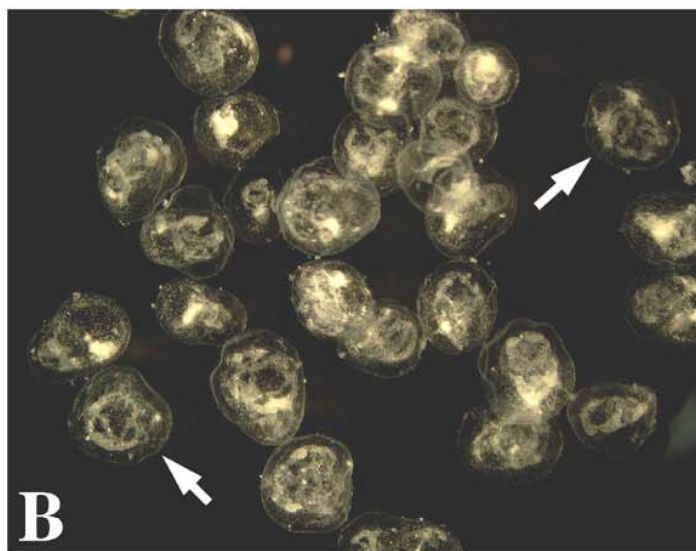
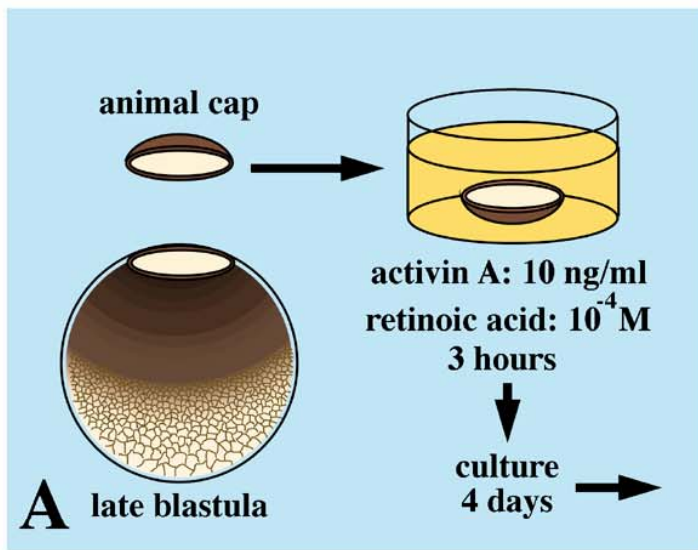


**前腎**  
(ネフロン1個)  
オタマジャクシ

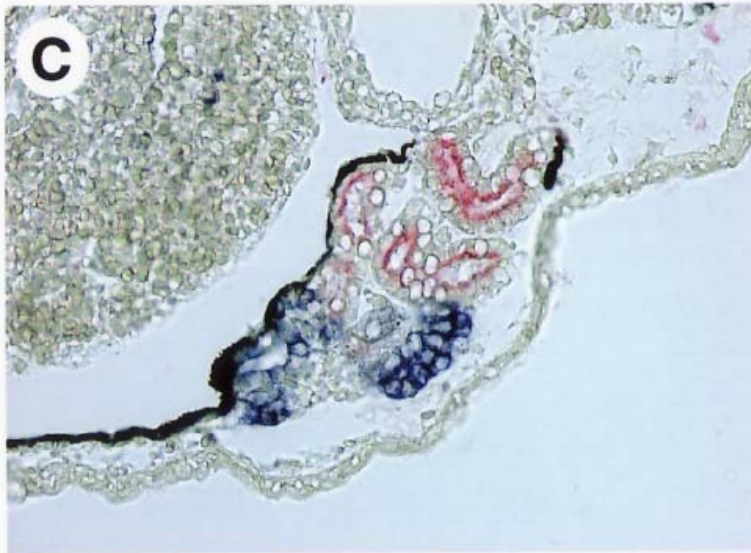
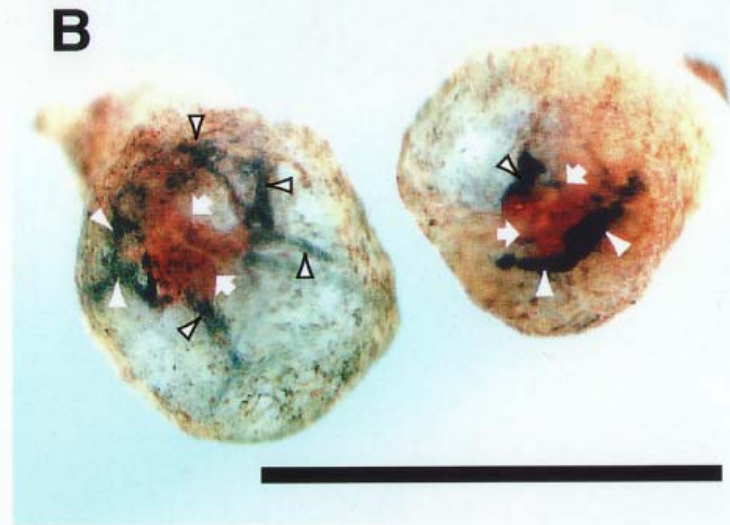
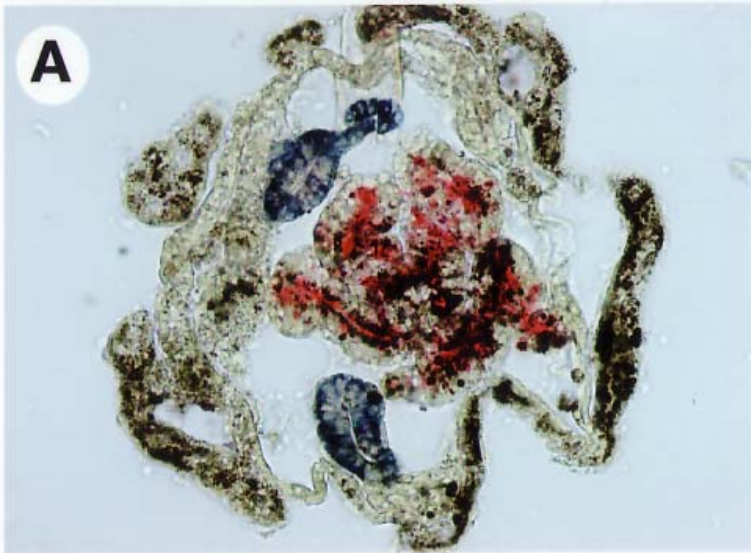
**中腎**  
(ネフロン約30個)  
成体のカエル

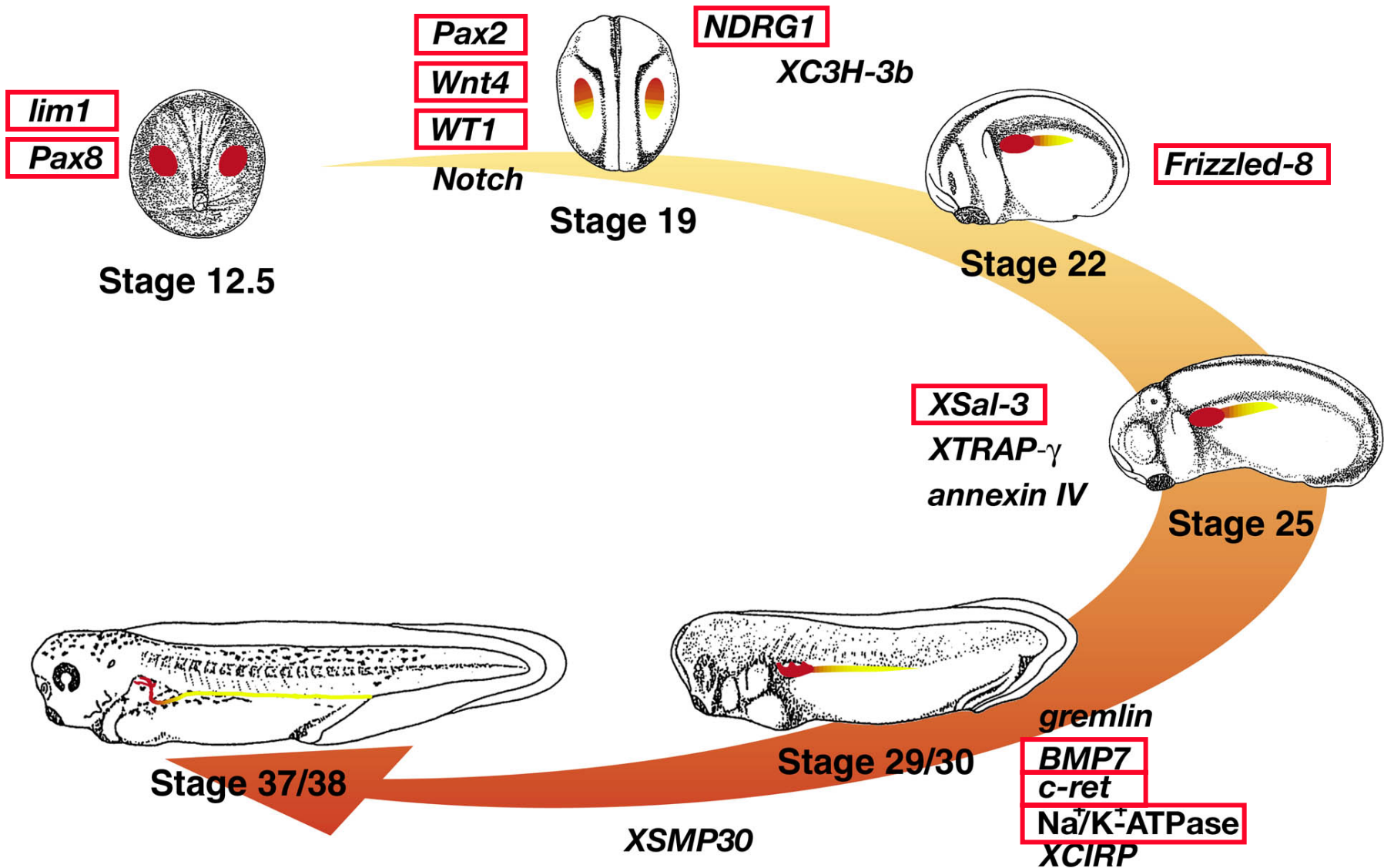
**後腎**  
(ネフロン約100万個)  
ヒトなど

# アニマルキャップからの試験管内での前腎形成

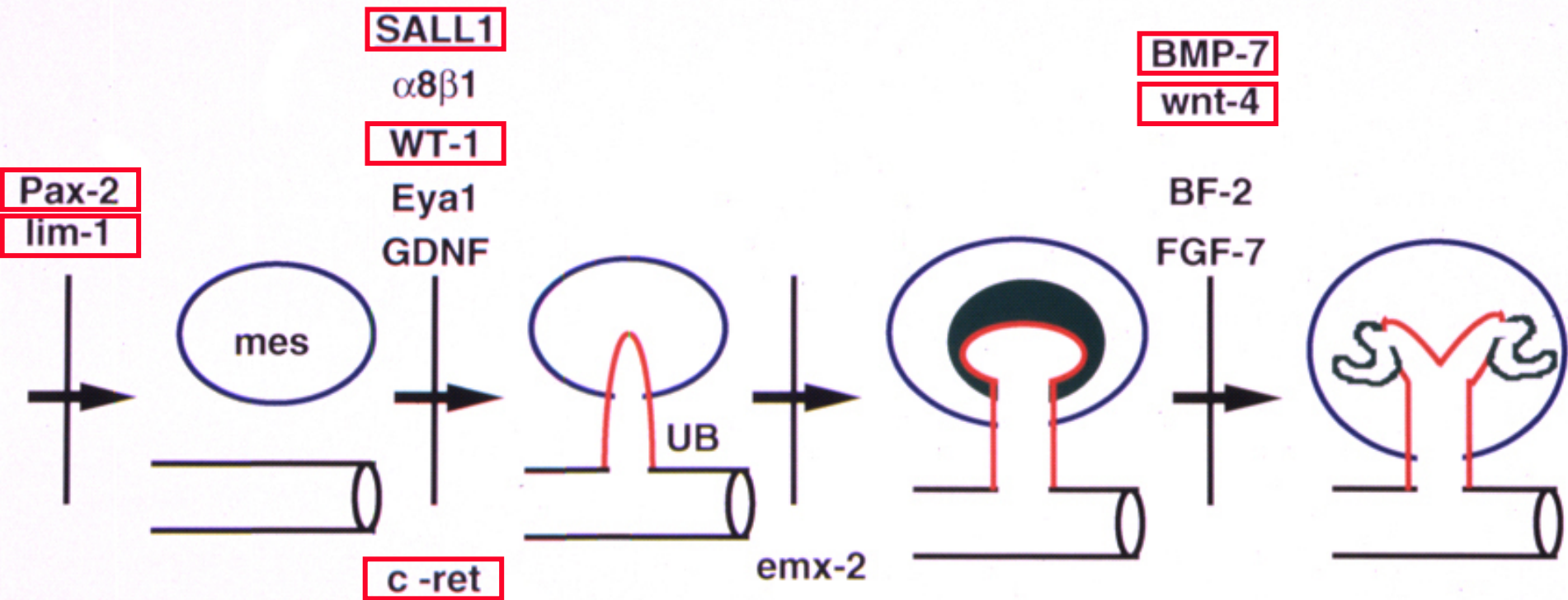


# 前腎構造の試験管内 (A+B) と正常胚 (C+D) での形成





両生類（カエル）の腎臓発生と遺伝子発現

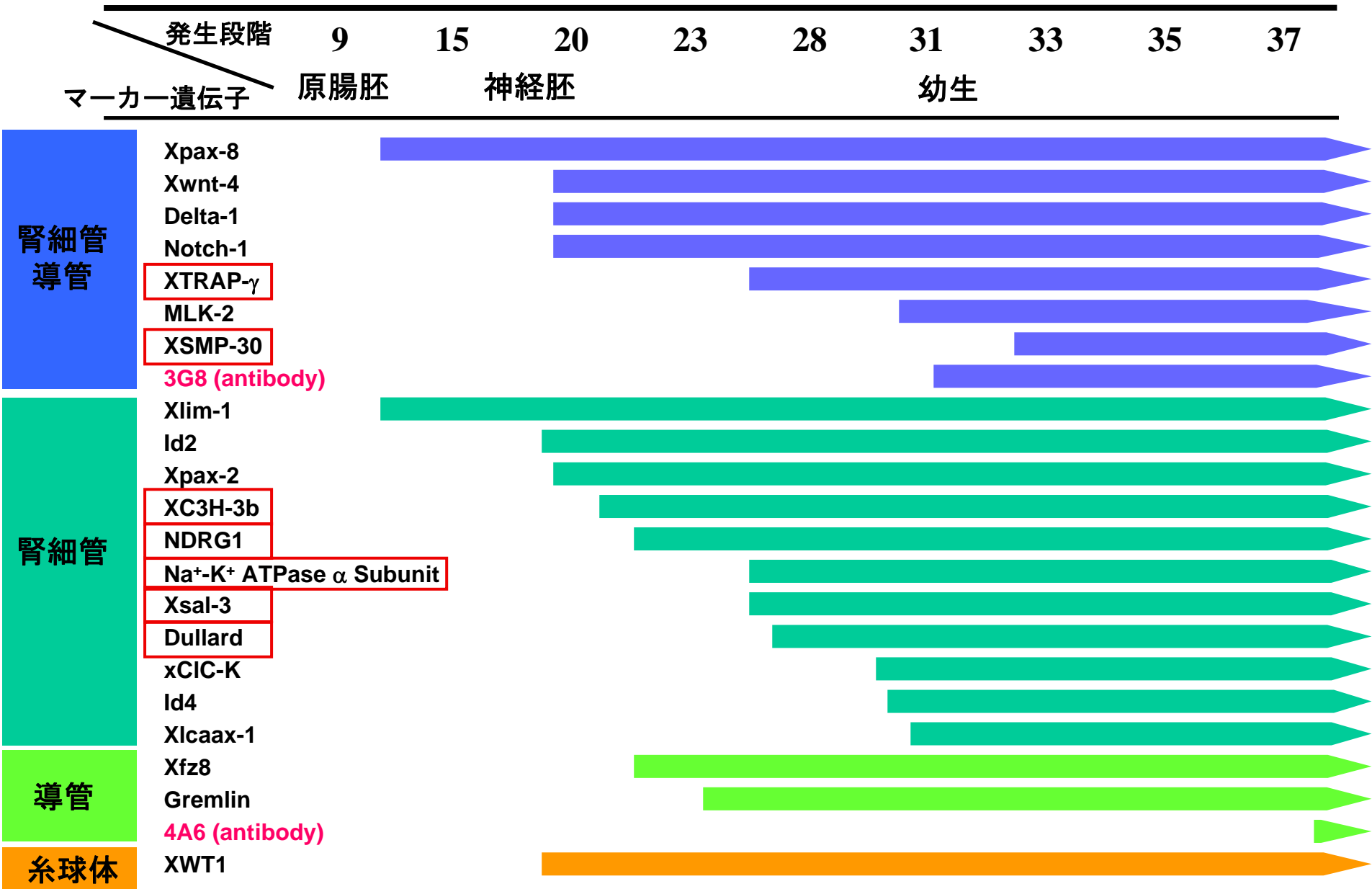


哺乳類（ヒト・マウス）の腎臓発生と遺伝子発現

著作権処理の都合で、  
この場所に挿入されていた  
朝日新聞夕刊の記事  
を省略させていただきます。

朝日新聞夕刊  
2007.2.14

# 腎臓形成過程で発現する遺伝子群

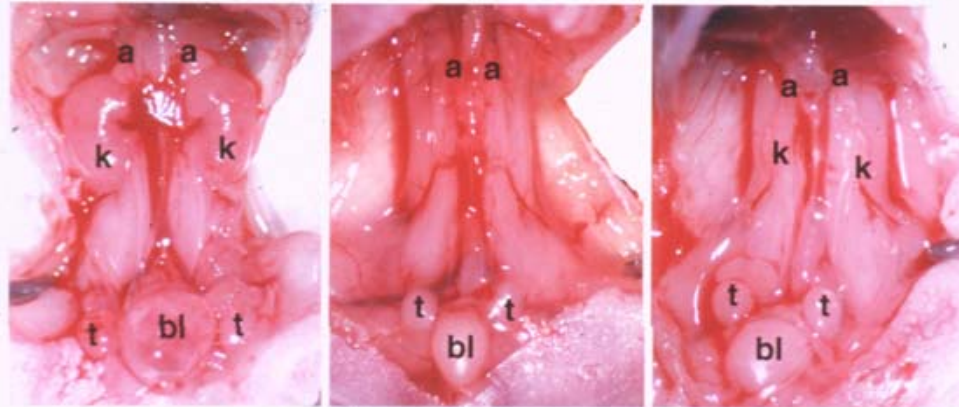


# † マウス胎児の腎臓

正常(+/+)

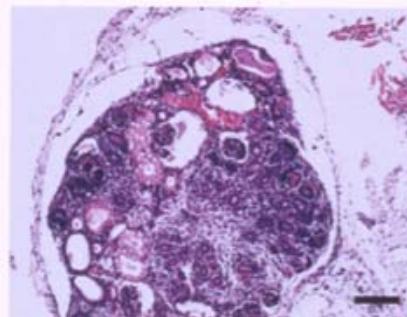
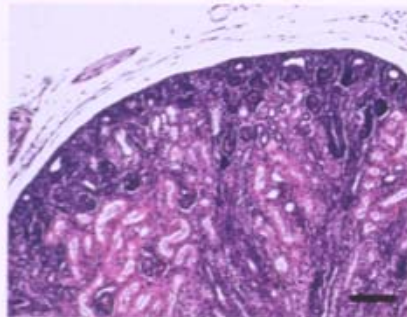
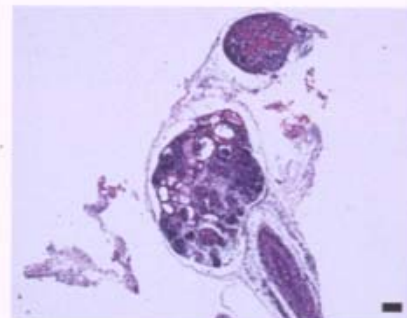
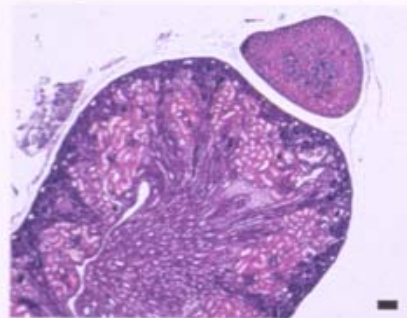
ノックアウト(-/-)

ノックアウト(-/-)

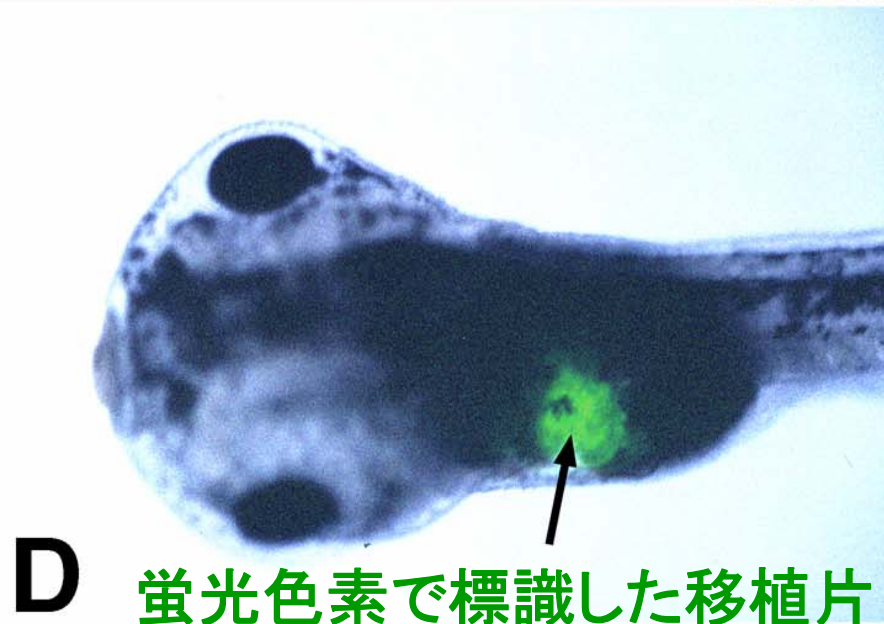
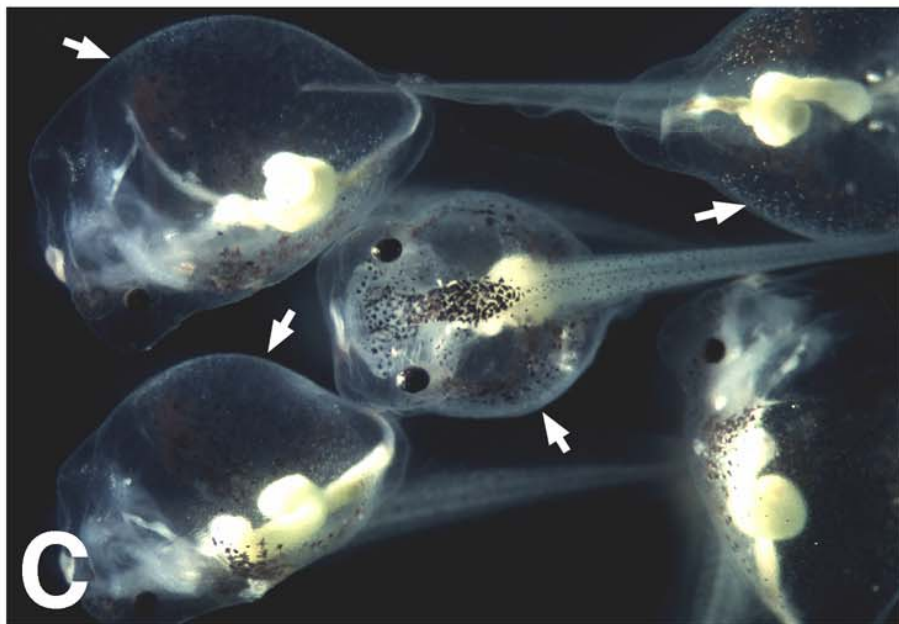
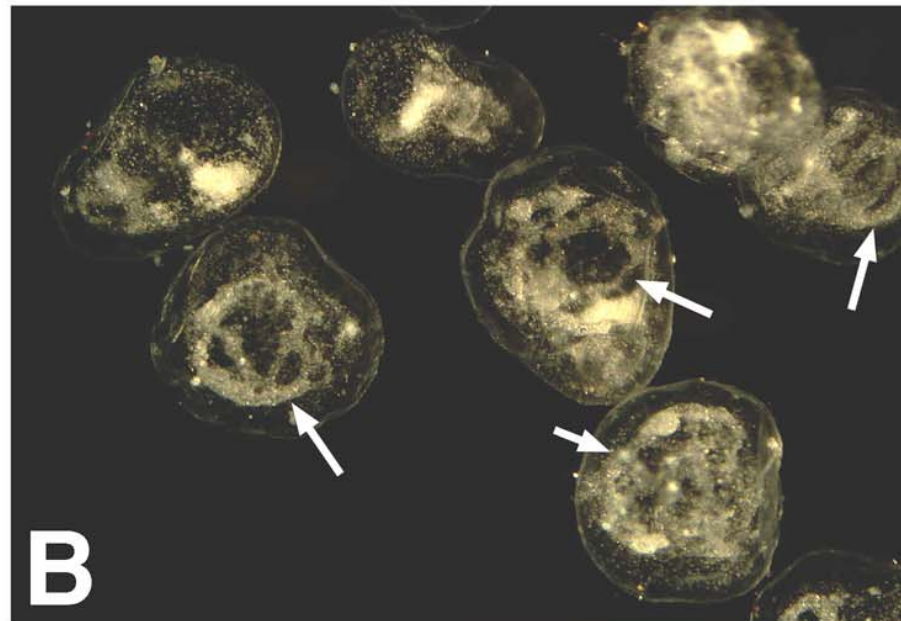
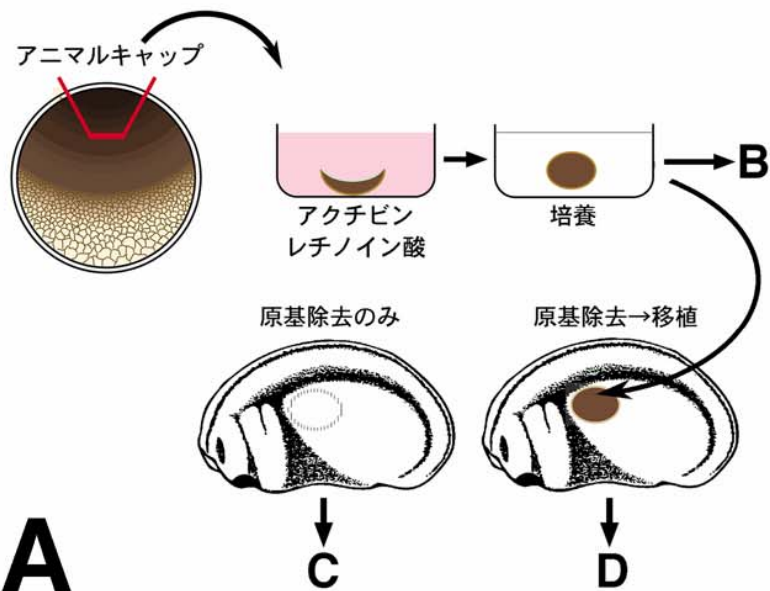


+/+

-/-



# 試験管内でつくった腎臓の移植実験



# 両生類の未分化細胞からの 眼球形成と移植

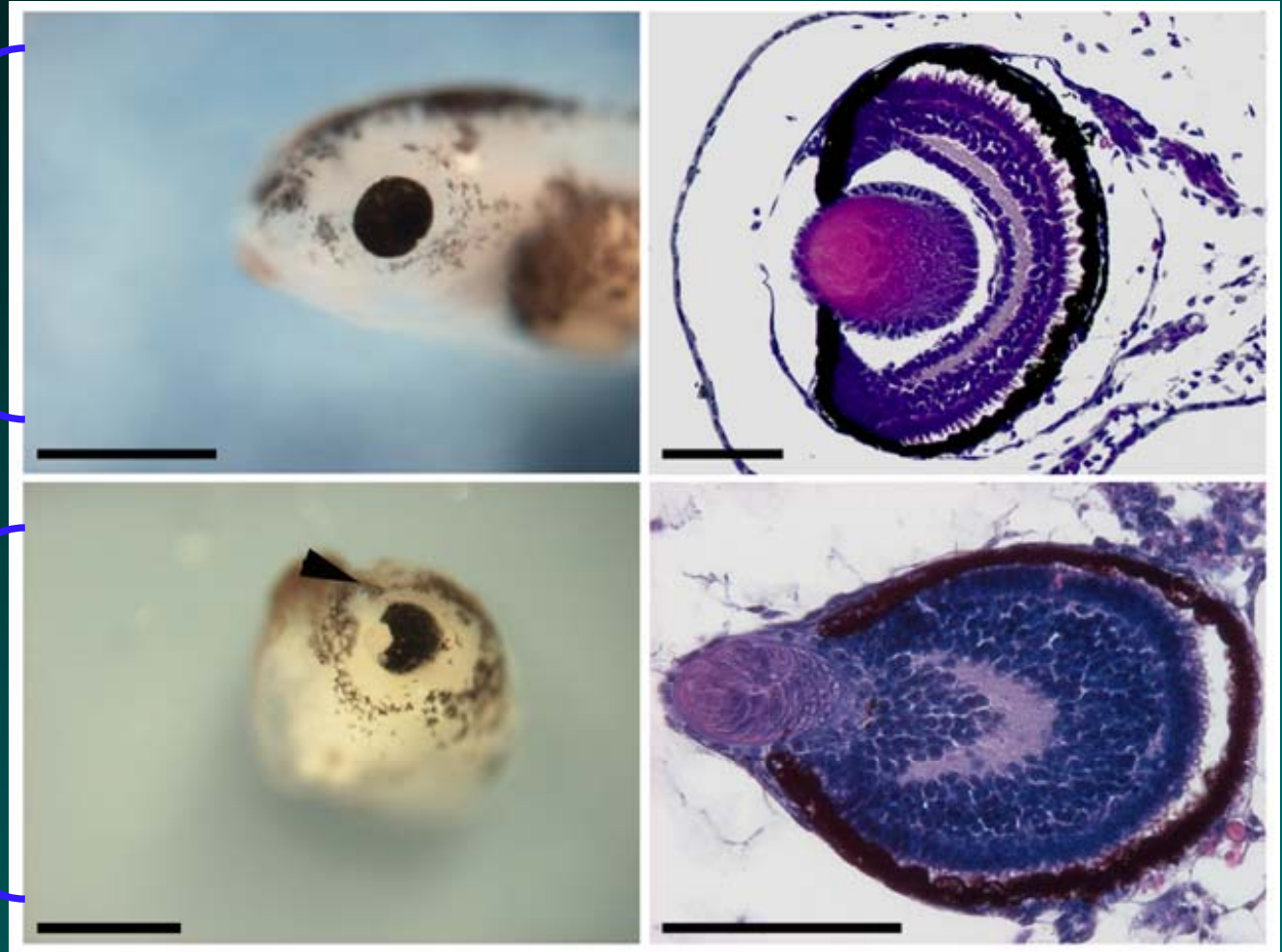
# ツメガエル未分化細胞から誘導した眼球：組織切片の観察

外形

切片

HE染色

ステージ42  
幼生

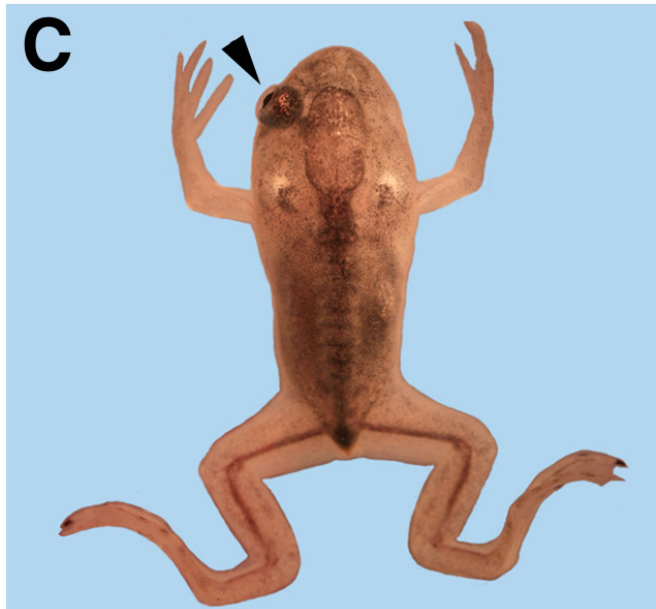
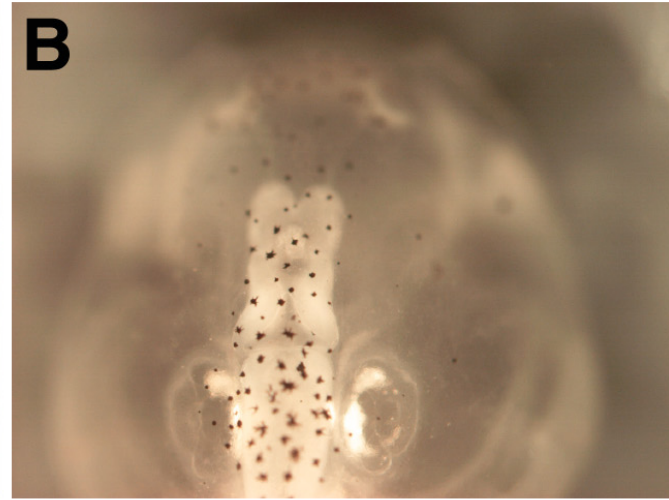
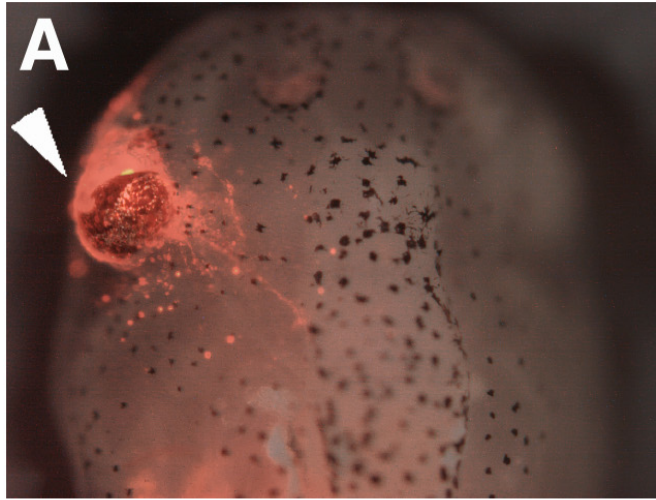


試験管内で  
作った眼

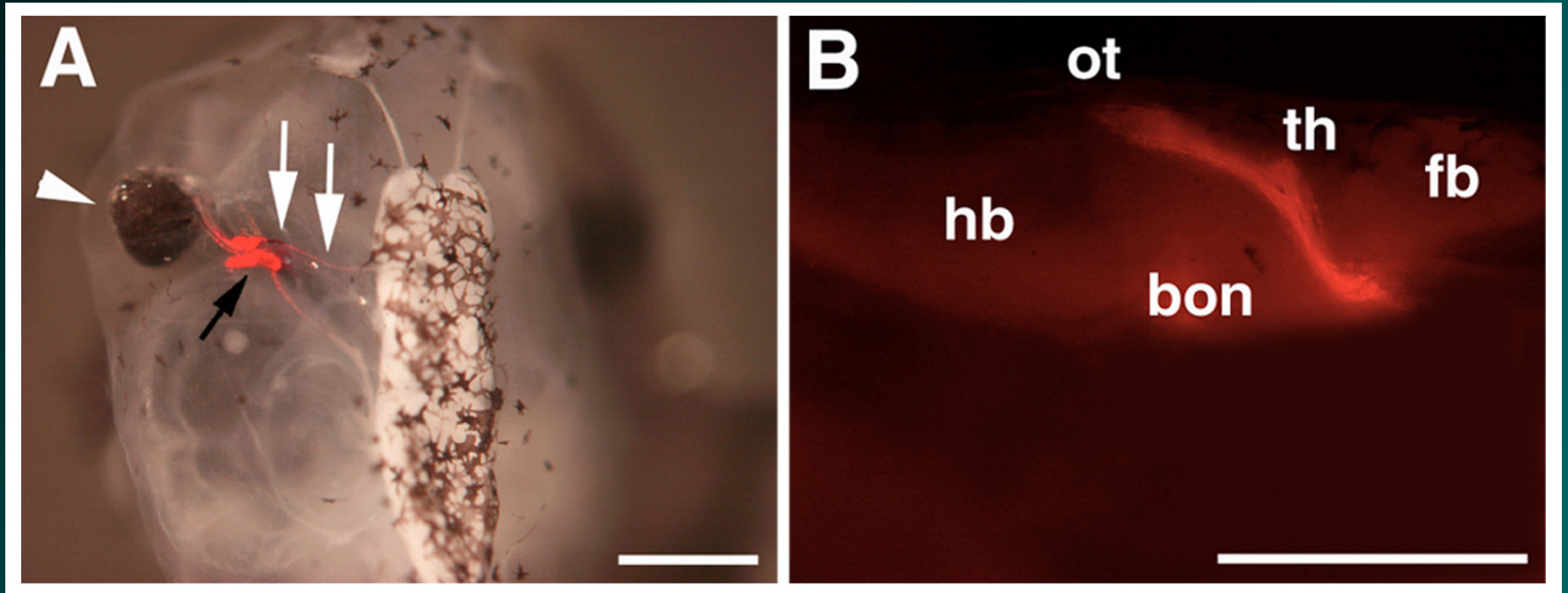
試験管内で作った眼は正常な眼と同じ構造をしている

# 試験管内でつくった 眼球を移植

# 両眼を切除



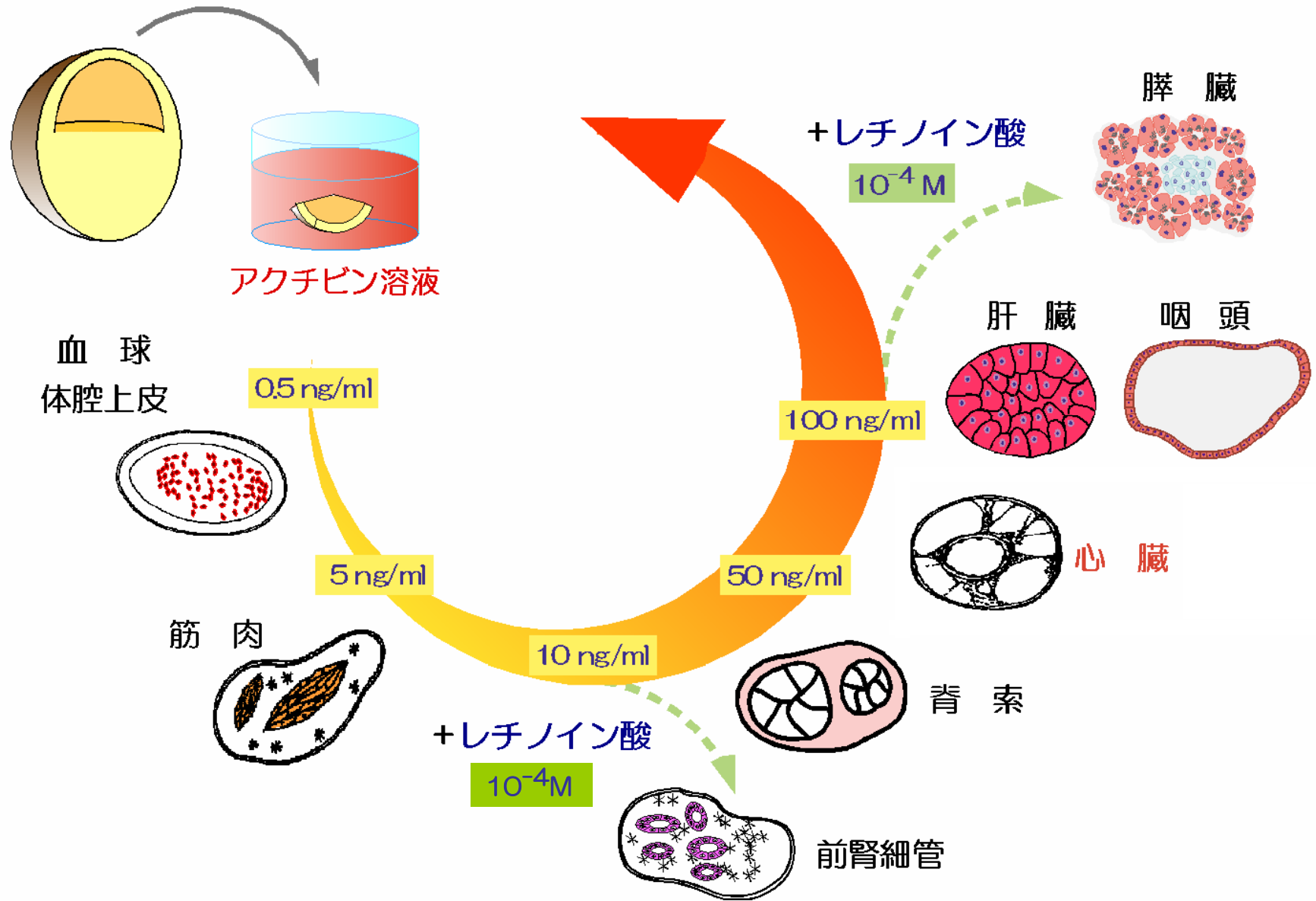
# 移植した眼球と脳の視蓋との神経の接続



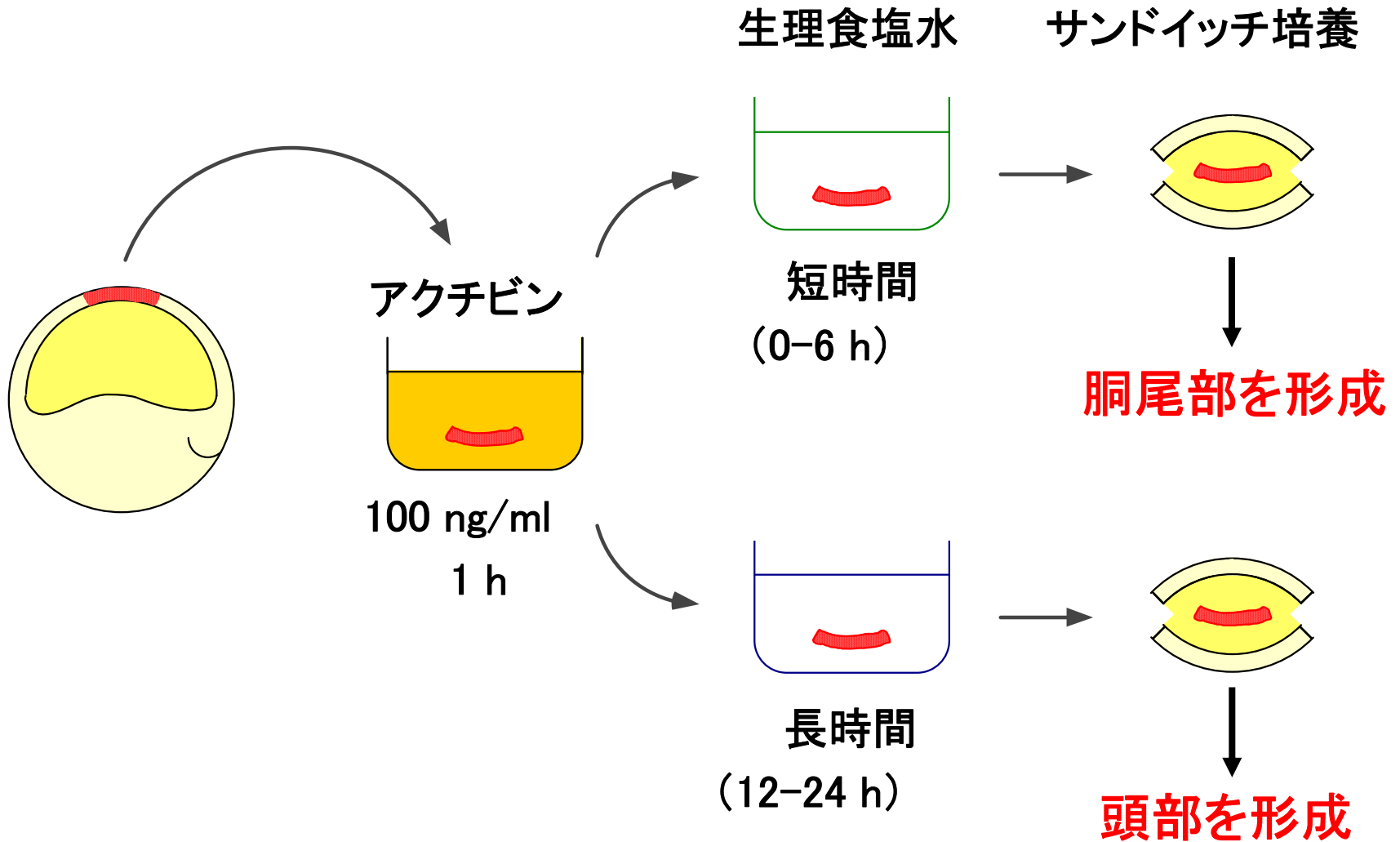
真上からの像

真横からの像

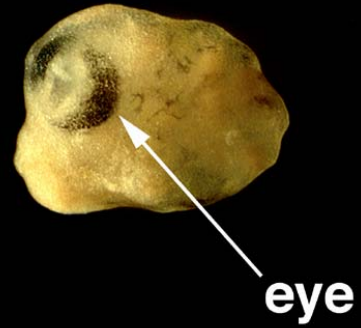
# アクチビン処理したアニマルキャップから生じるおもな組織と器官



# 試験管内で幼生の頭部と胴尾部をつくり分ける実験系



Head: 12 h-preculture



頭部構造

Trunk-and-tail: 0 h-preculture



胴尾部構造

1 mm

# 組織切片図

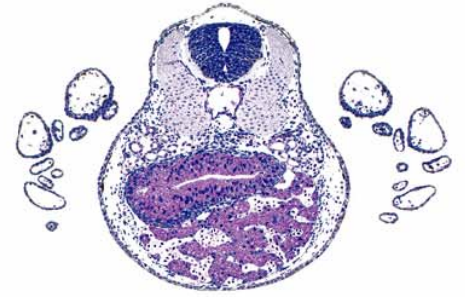
正常胚



頭部

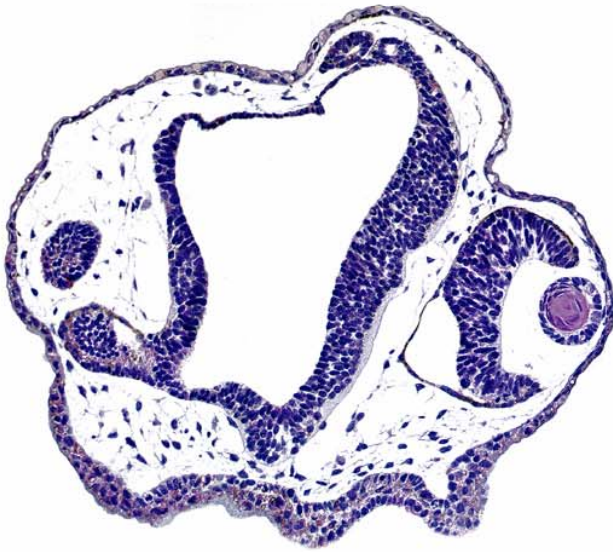


胴部

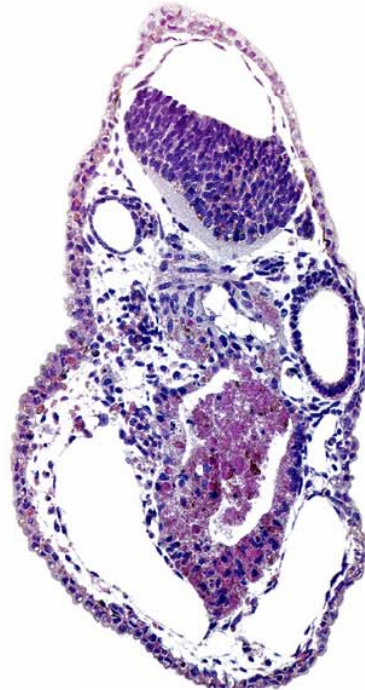


尾部

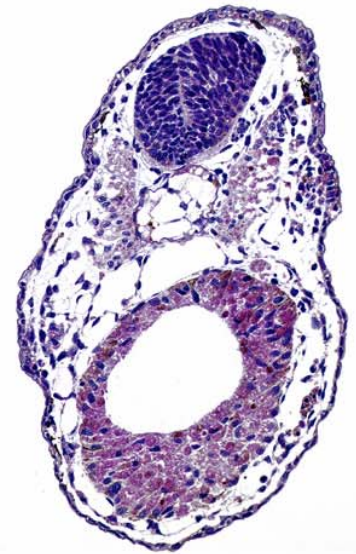
サンドウィッチ外植体



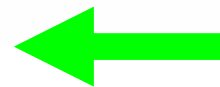
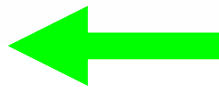
頭部

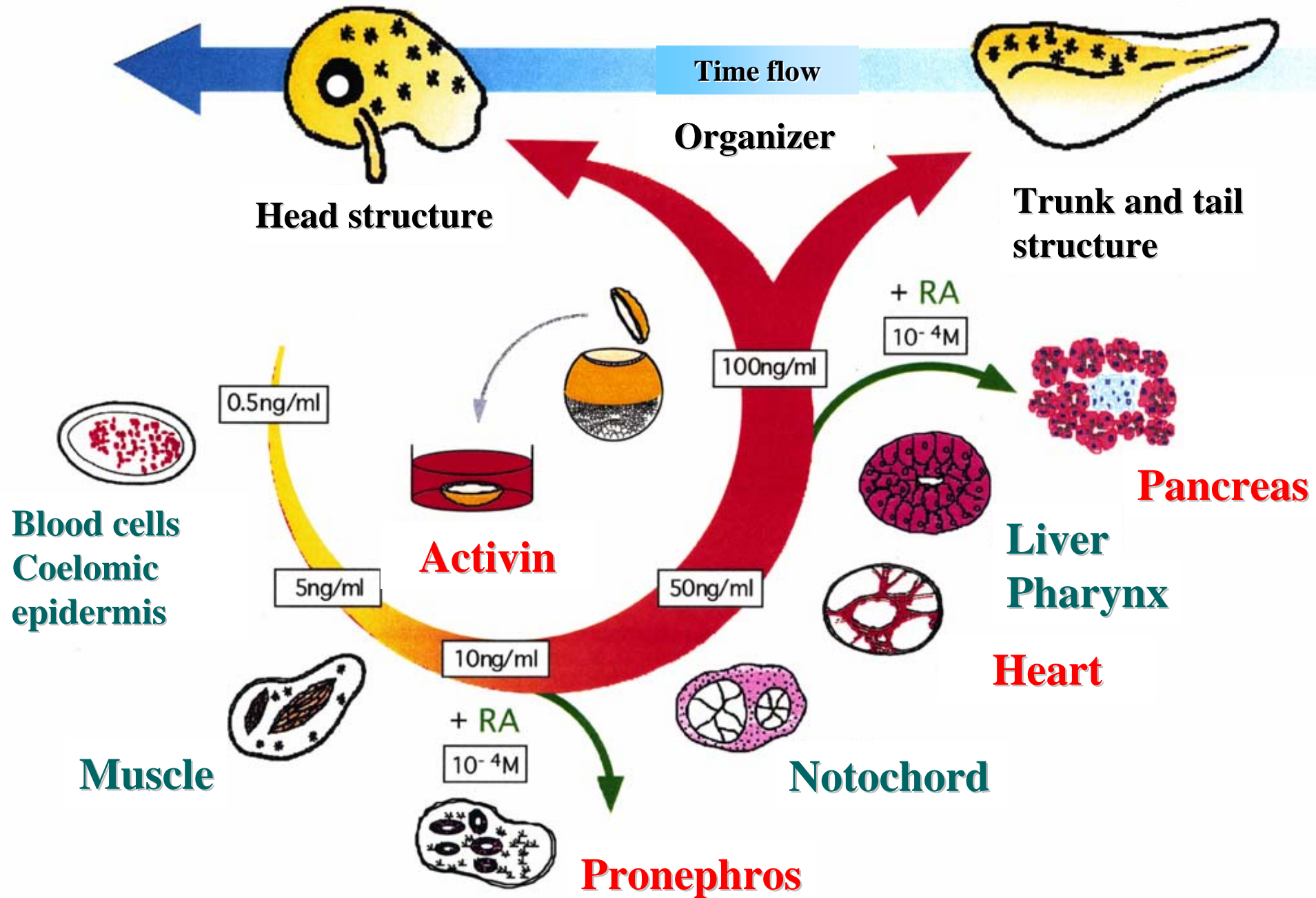


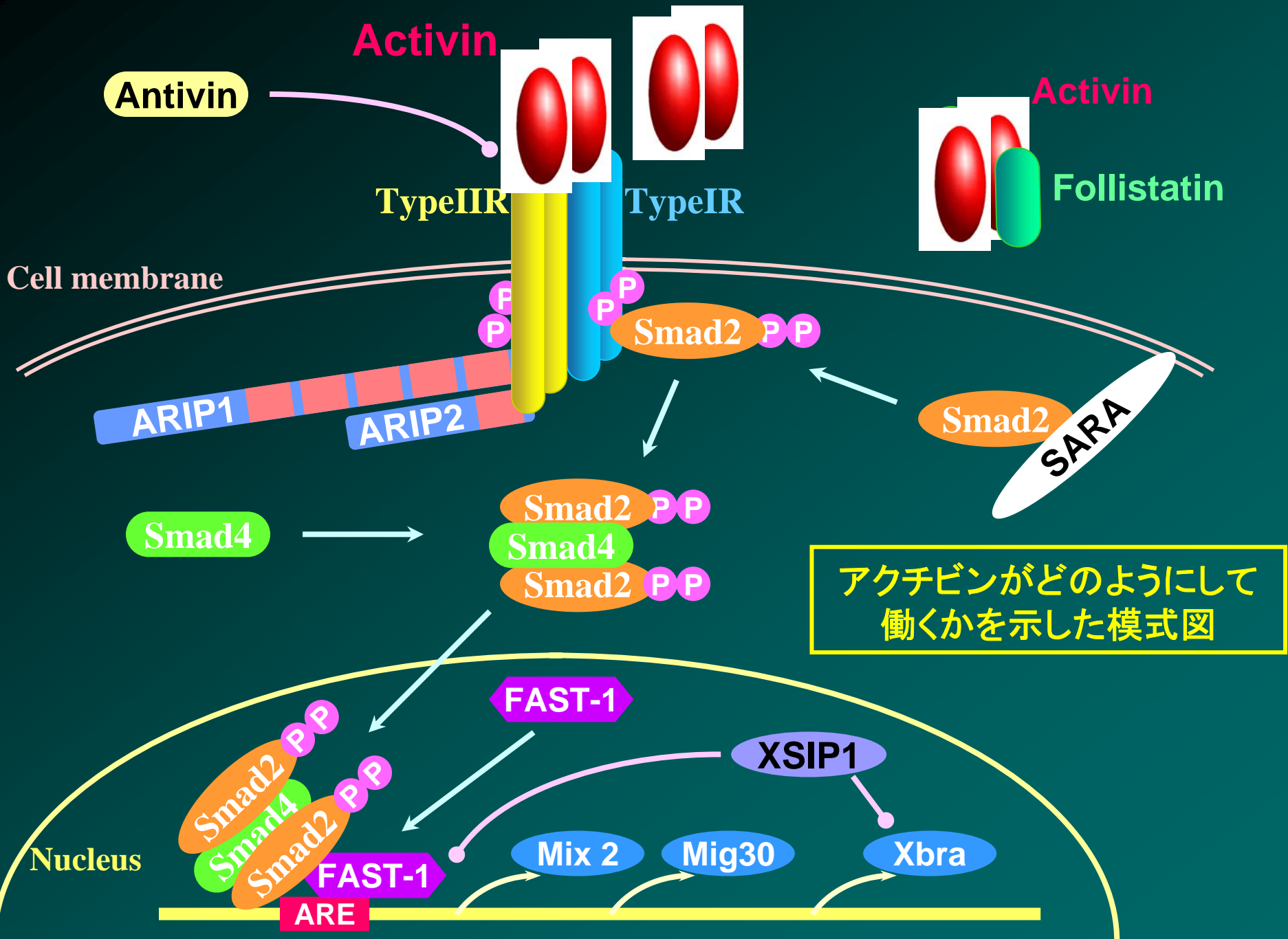
胴部



尾部



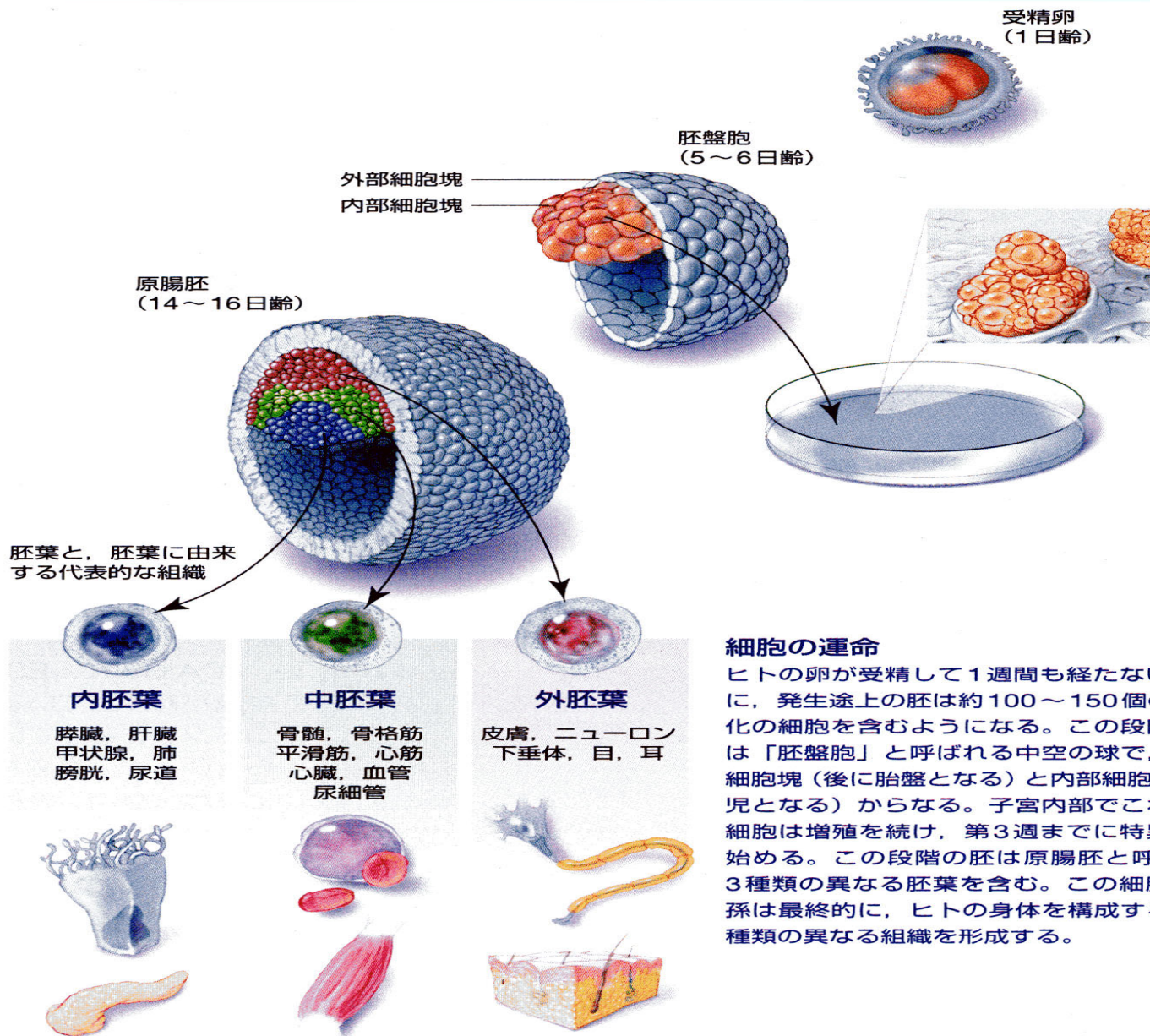




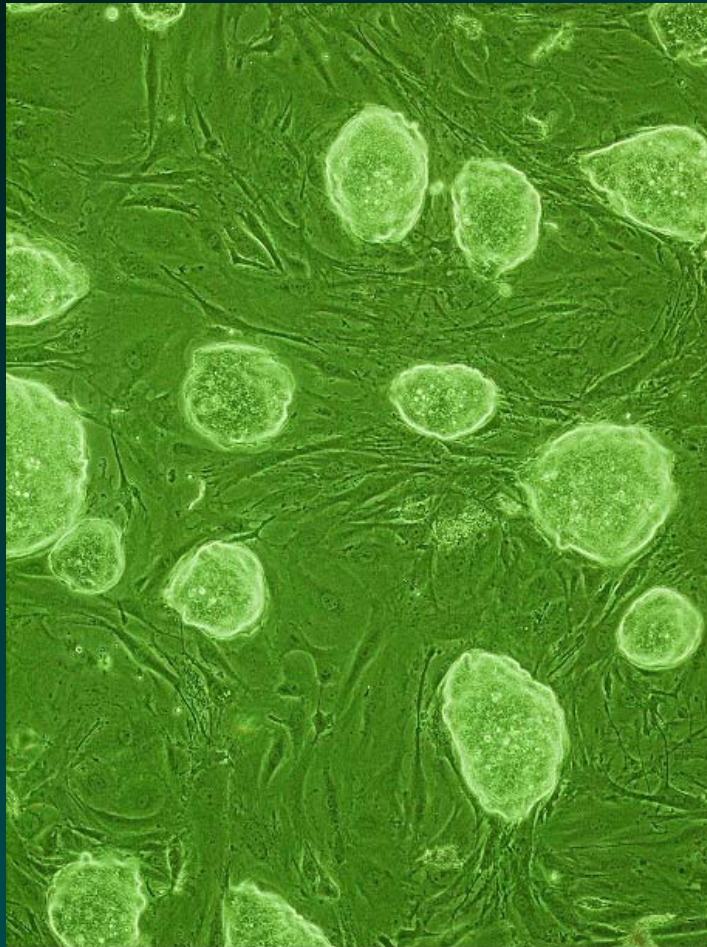
アクチビンがどのようにして働くかを示した模式図

# マウスの未分化細胞（ES細胞） からの器官形成

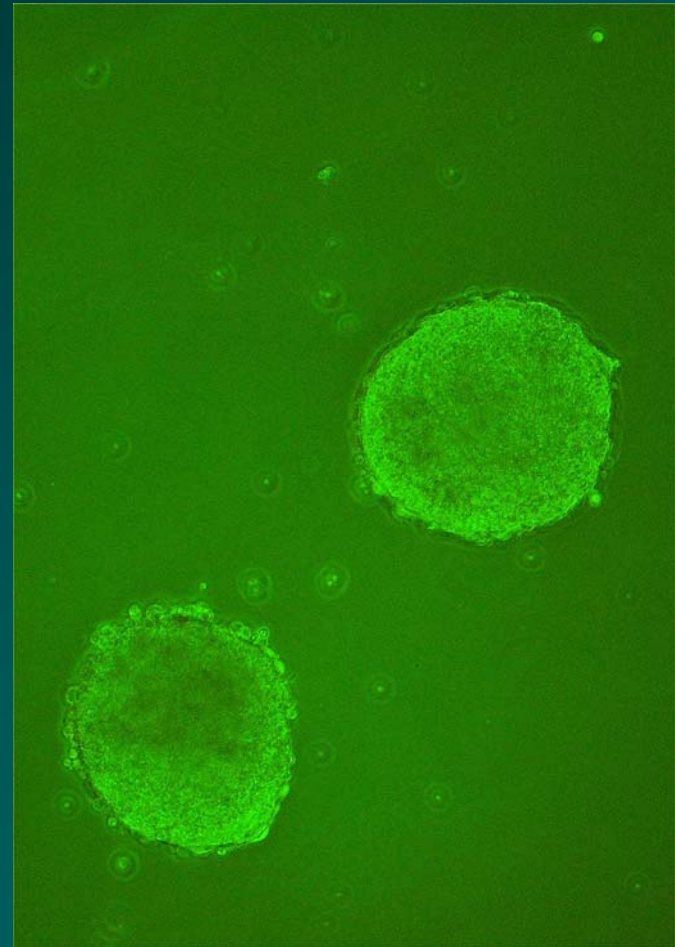
# 胚性幹細胞 (ES細胞) の由来



# マウスES細胞と胚様体

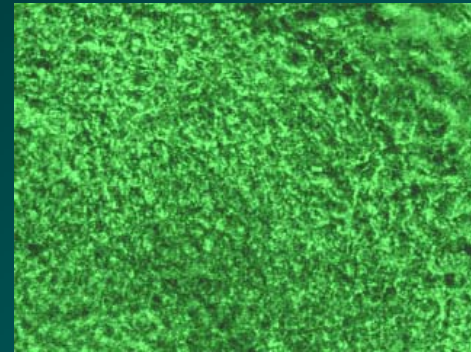
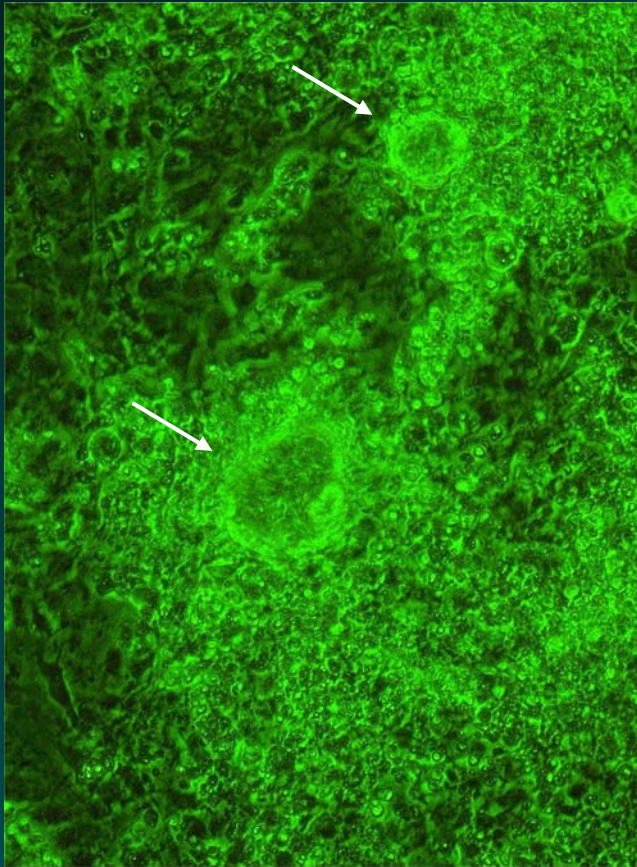


(15% FCS, +LIF)  
血清とLIFが入っている

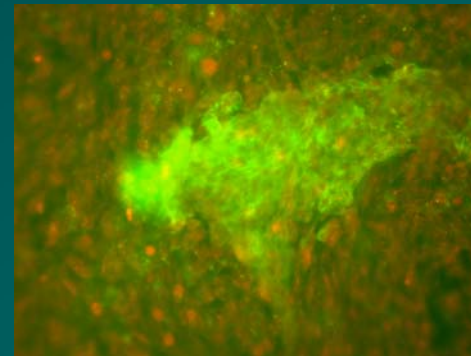


(15% KSR, -LIF)  
無血清でLIFがない

# マウスES細胞からの心筋形成

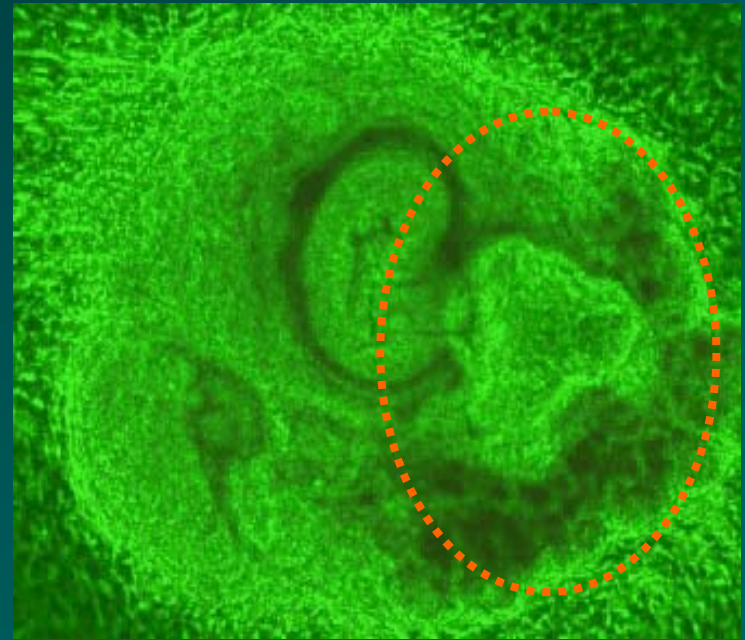
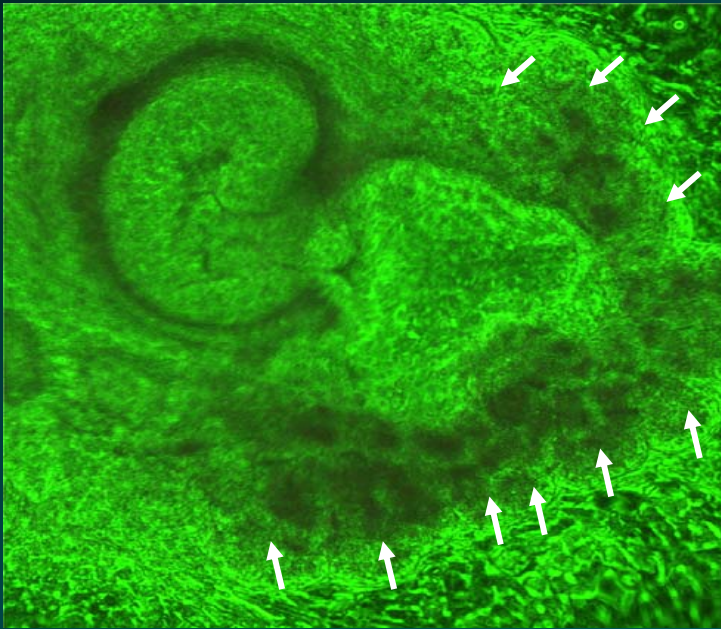


RA024処理による心筋細胞の誘導（1-2 日間の培養）

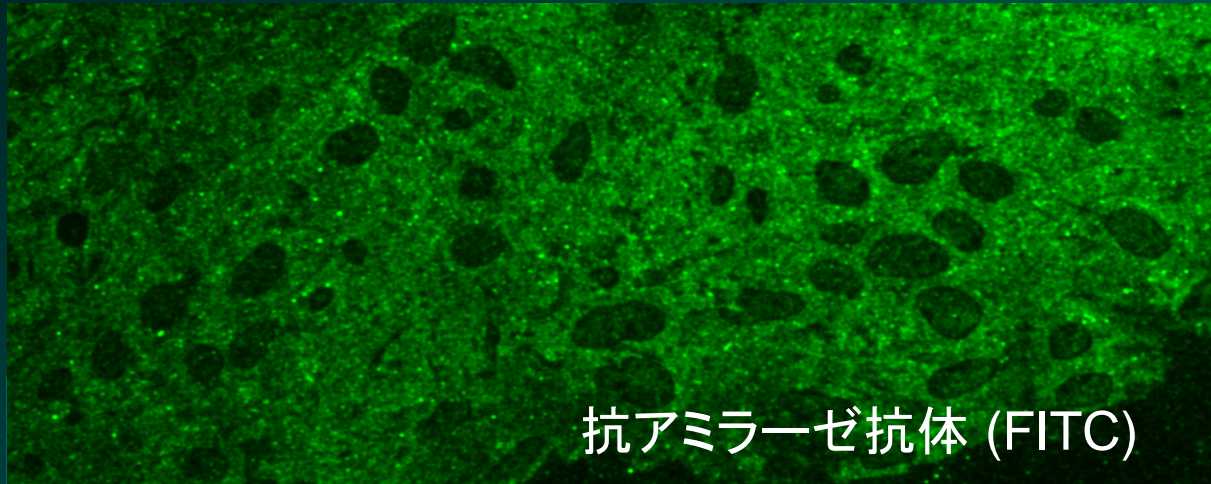


心筋特異的なマーカーであるトロポニンIの抗体による染色

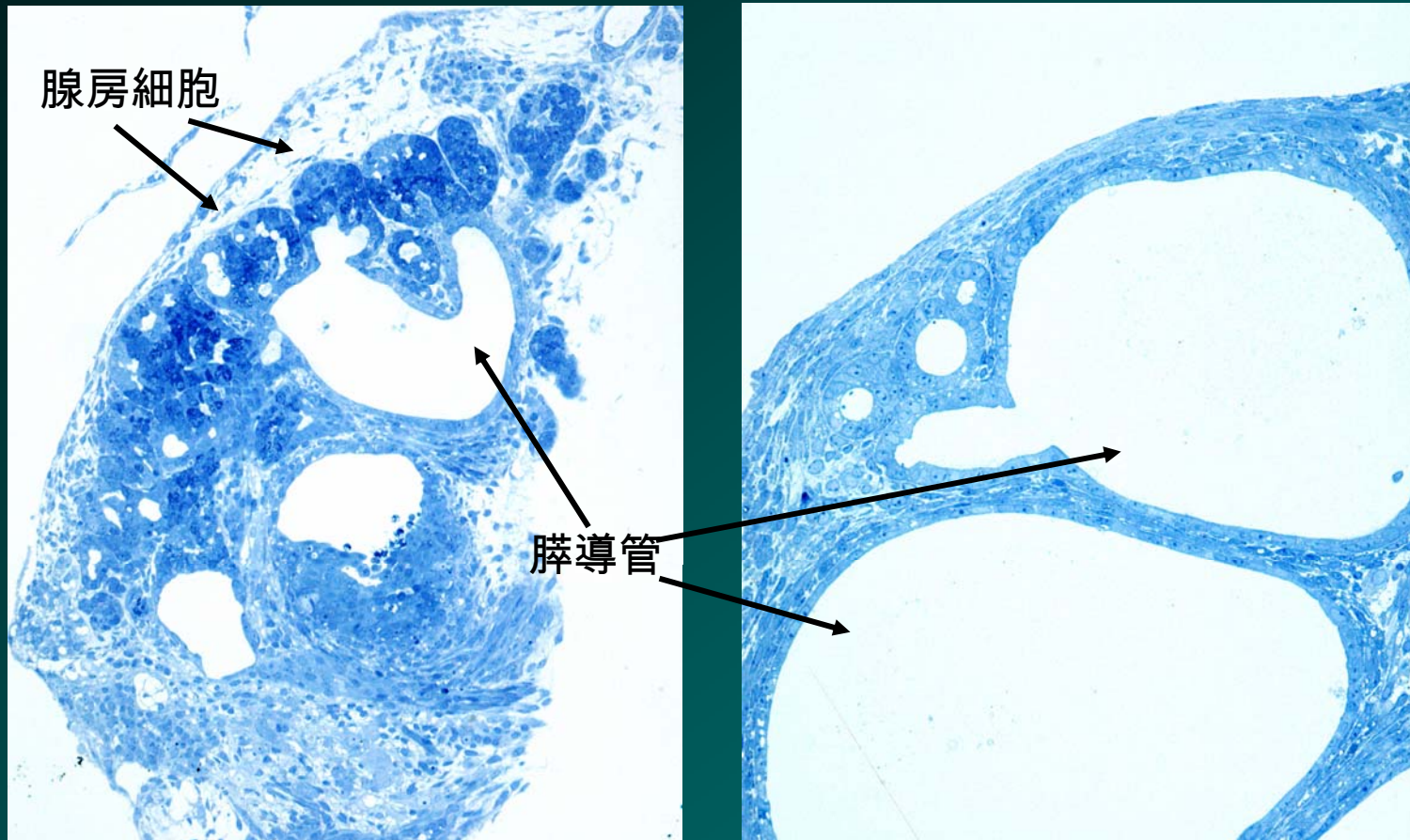
# マウスES細胞からの膵臓形成



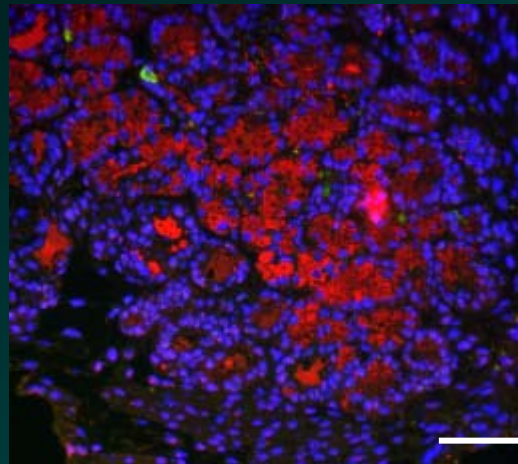
# マウスES細胞から形成された膵臓からの インスリンやアミラーゼの分泌



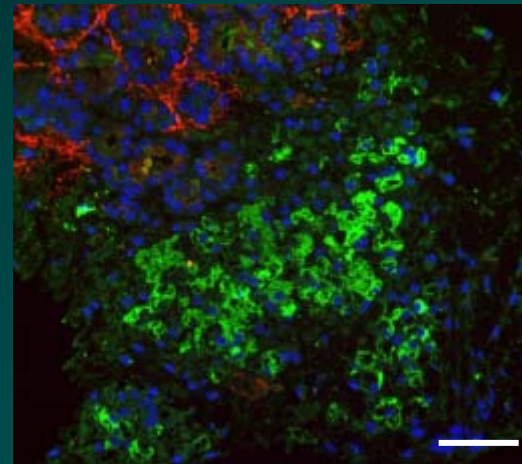
# 胚性幹細胞からの膵臓の形成の組織切片



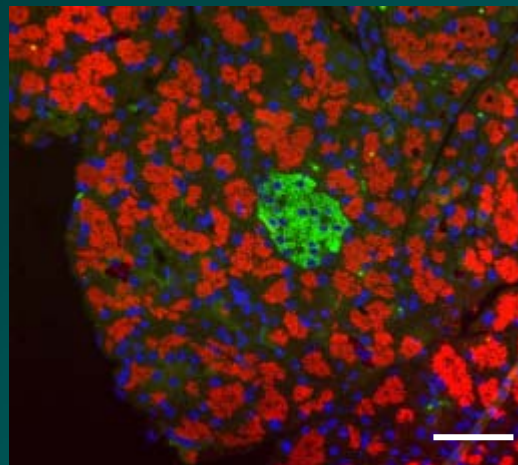
# インスリンとアミラーゼの二重抗体染色



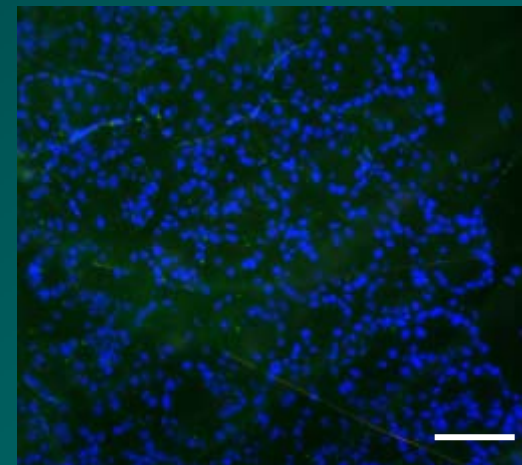
0.1  $\mu$ M RA +  
10 ng/ml activin



0.1  $\mu$ M RA +  
25 ng/ml activin



マウスの膵臓

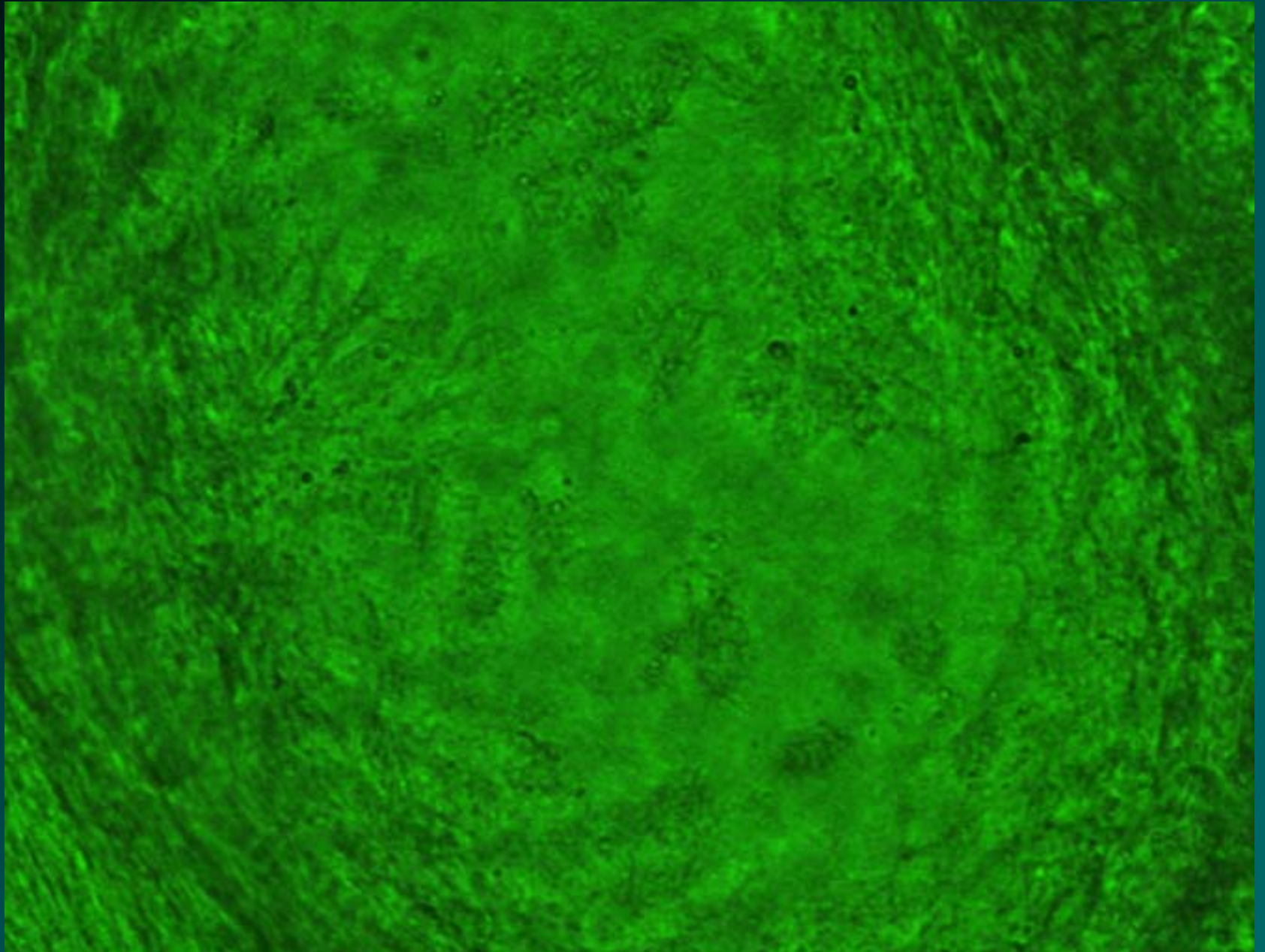


対照(コントロール)

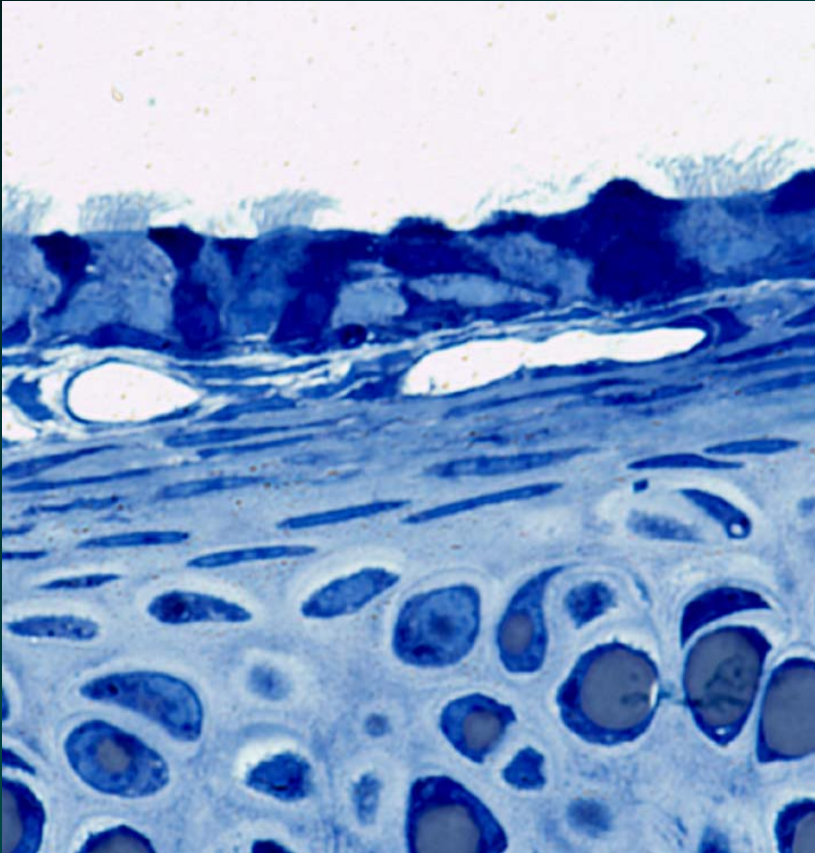
アミラーゼ /  
インスリンCペプチド /  
DAPI

(bar = 50  $\mu$ m)

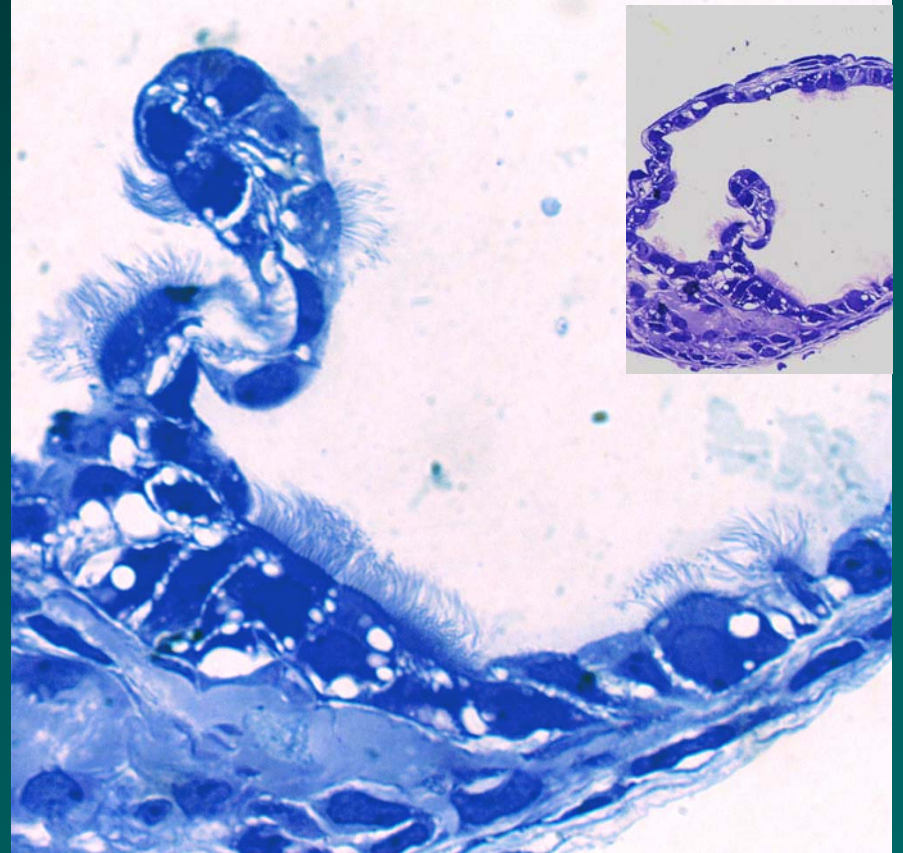
# マウスES細胞からの気管の形成



# マウスES細胞からの気管構造と 正常な気管の比較

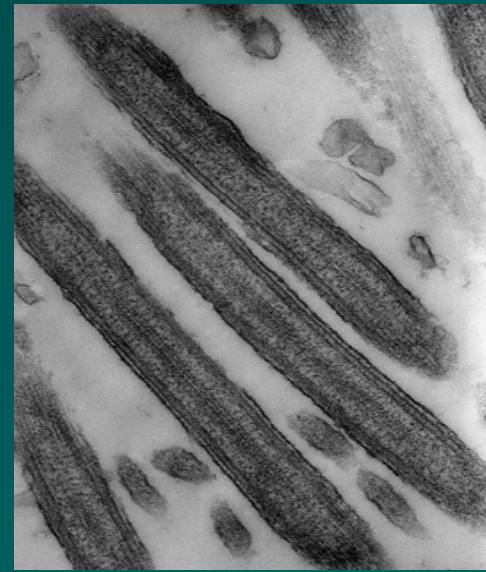
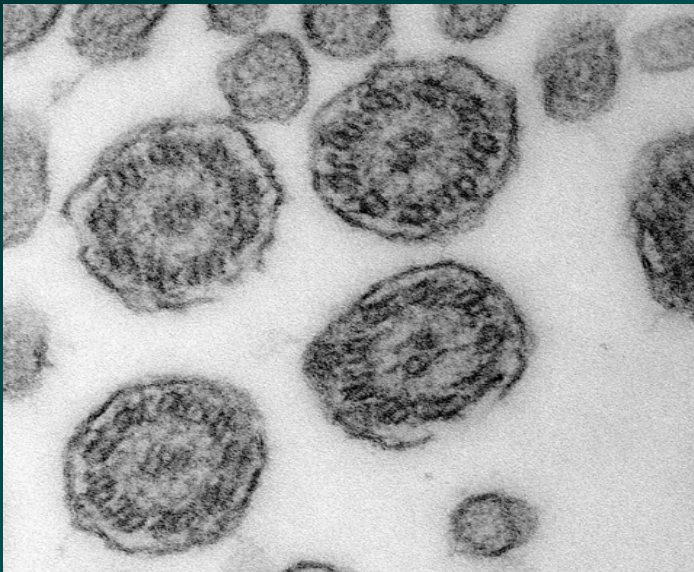
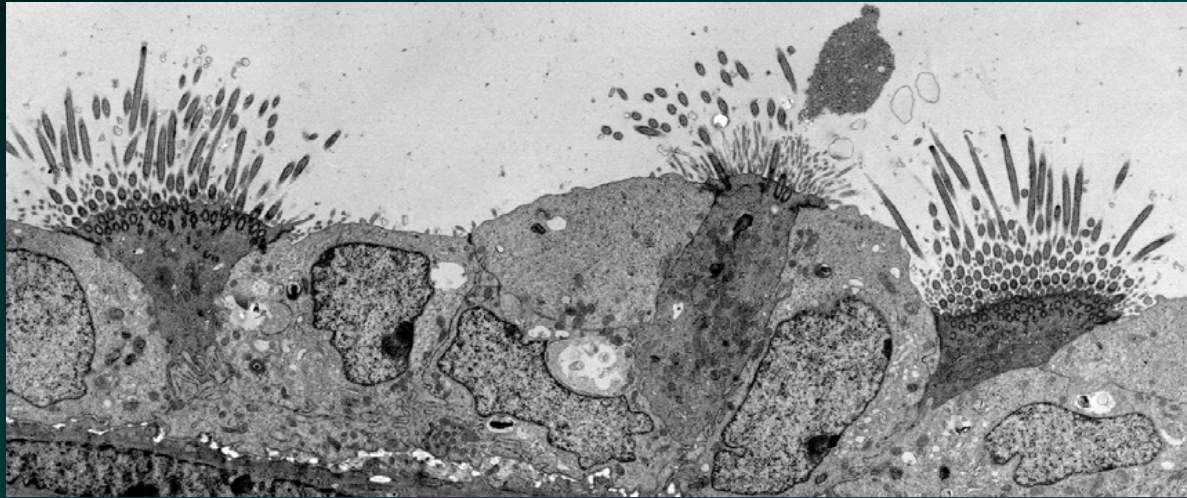


正常なマウスの気管



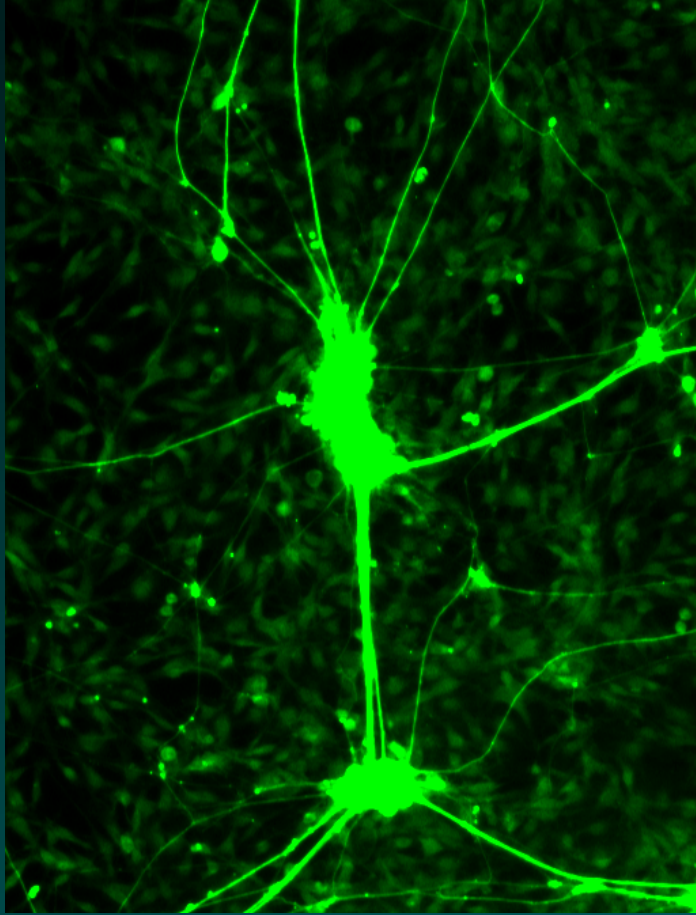
ES細胞からつくった気管

# マウスES細胞からの繊毛の形成

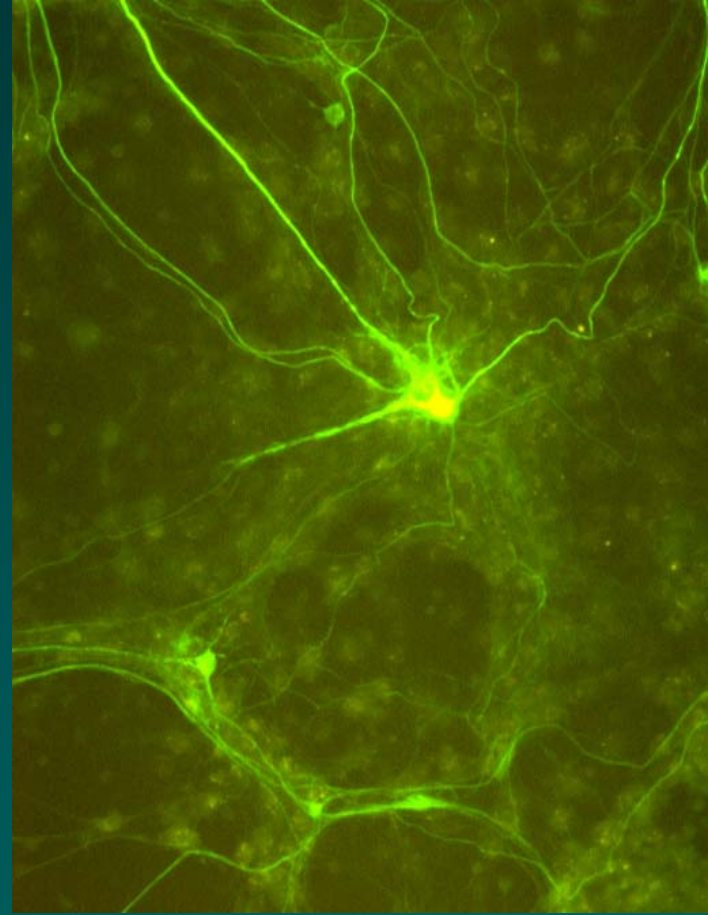


繊毛細胞に特徴的な9+2構造がみられる

# マウスES細胞からの神経細胞の形成



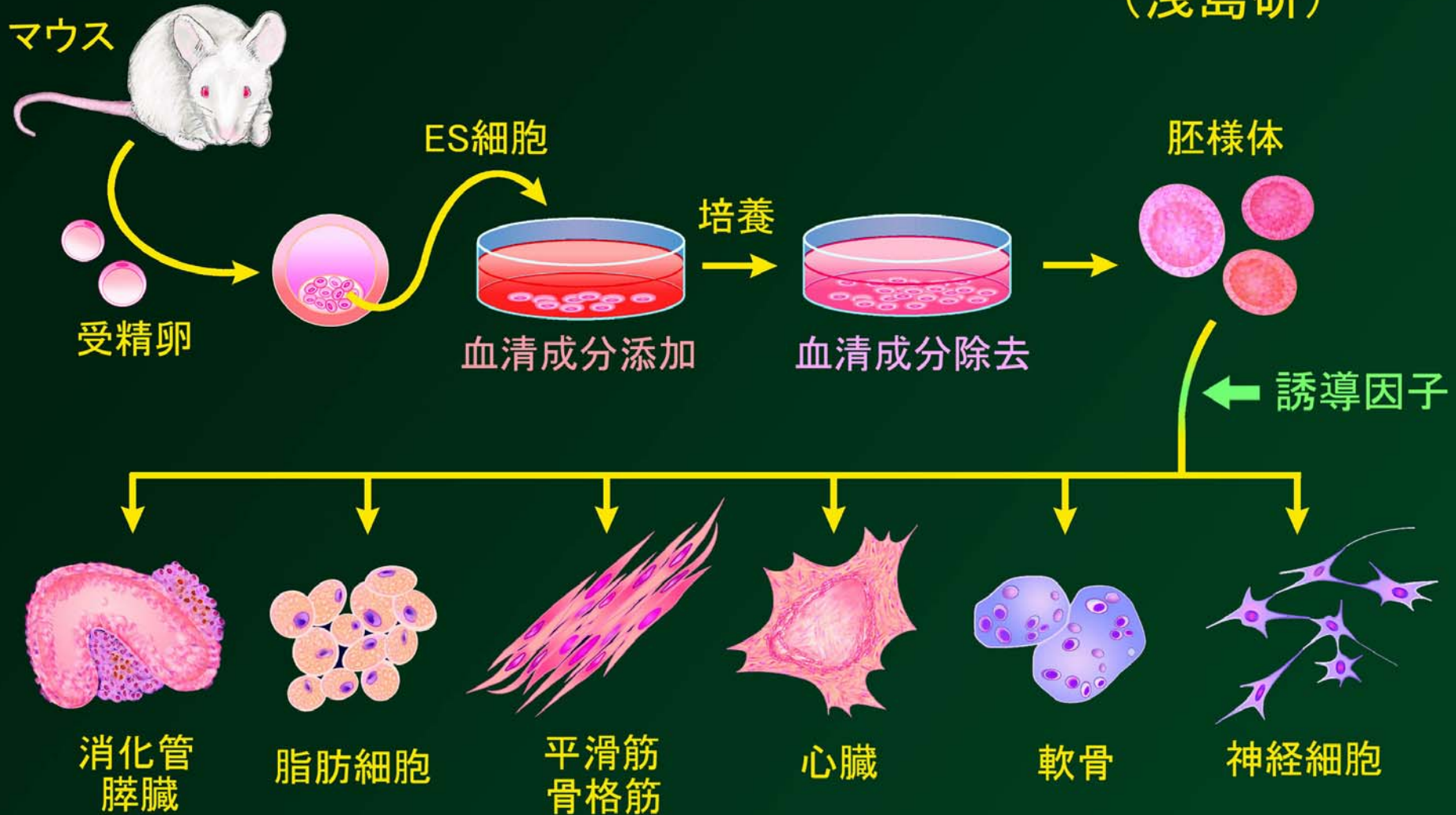
抗-L-NF抗体 (FITC)



抗-H-NF抗体 (FITC)

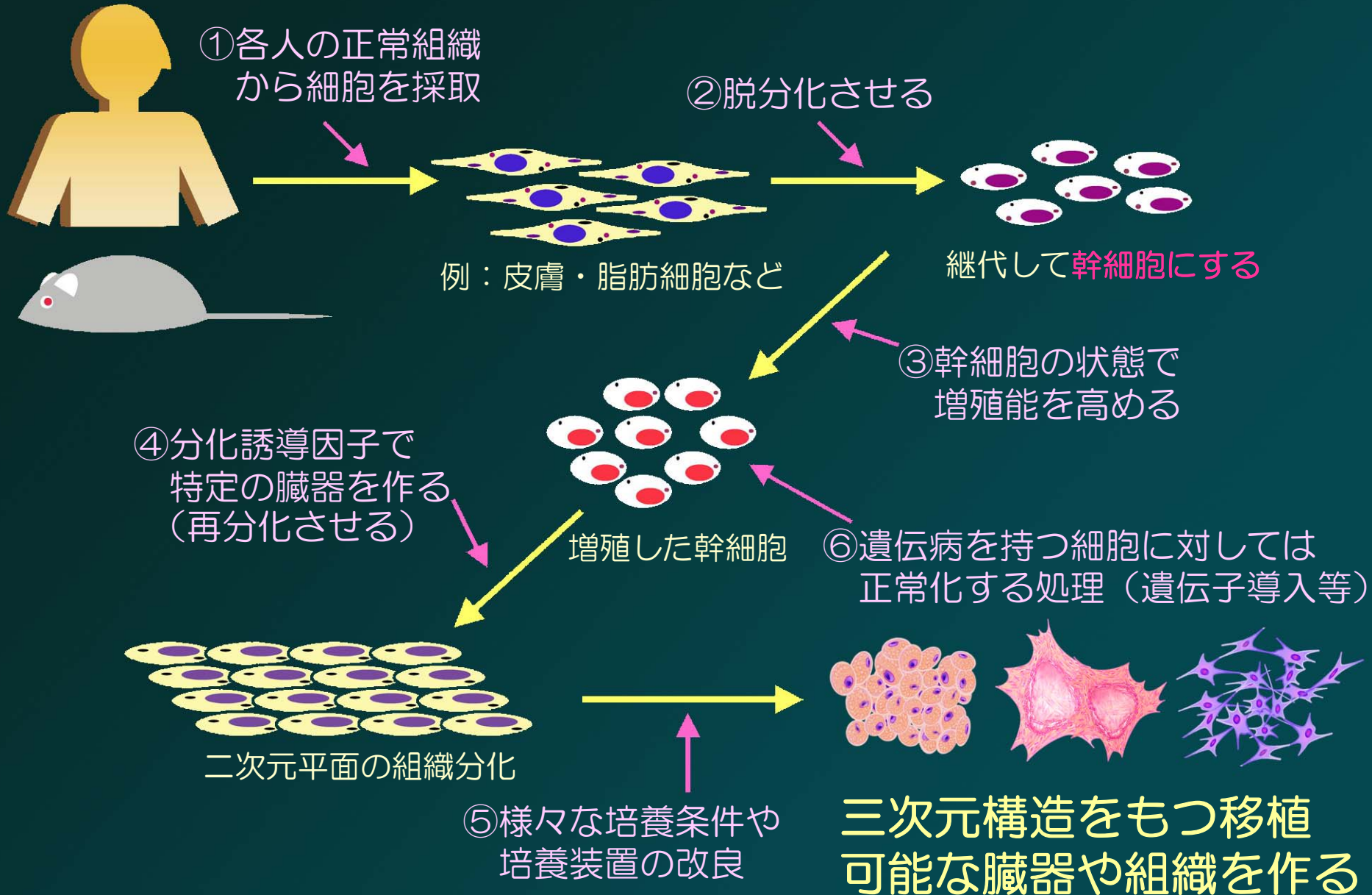
# マウスES細胞からの器官誘導

(浅島研)



カエルの器官形成とマウスなど哺乳類の器官形成は  
同じようなシステムで制御されている。

# 今後の研究方向



*Cynops pyrrhogaster*

*Hynobius lichenatus / nigrescens*

## 研究室の哲学（考え方）

1. 自然（nature, 蛙やイモリのこと）に学べ  
—彼らが先生である
2. Passion（情熱を越えた熱情）をもって取り組み  
—自分の研究としてとらえ、努力せよ。
3. 物事には順序がある  
—確実な技術の習得とResearch firstの精神
4. 予測した事実と反する結果がでたら、見のがすな  
—大きな発見の糸口である
5. オリジナルな研究をし（内容や方法など）、結果が出たら論文を書け

*Ambystoma mexicanum*

*Xenopus laevis*

# 謝辞

長い間研究を支えてくださった多くの方々、  
とりわけ東京教育大学、横浜市立大学、東京大学の  
指導教官の先生方、先輩、研究仲間、学生、学会関係者、職員の方  
々、文部科学省、科学技術振興機構、産総研の方々に心から  
厚く御礼を申し上げます。

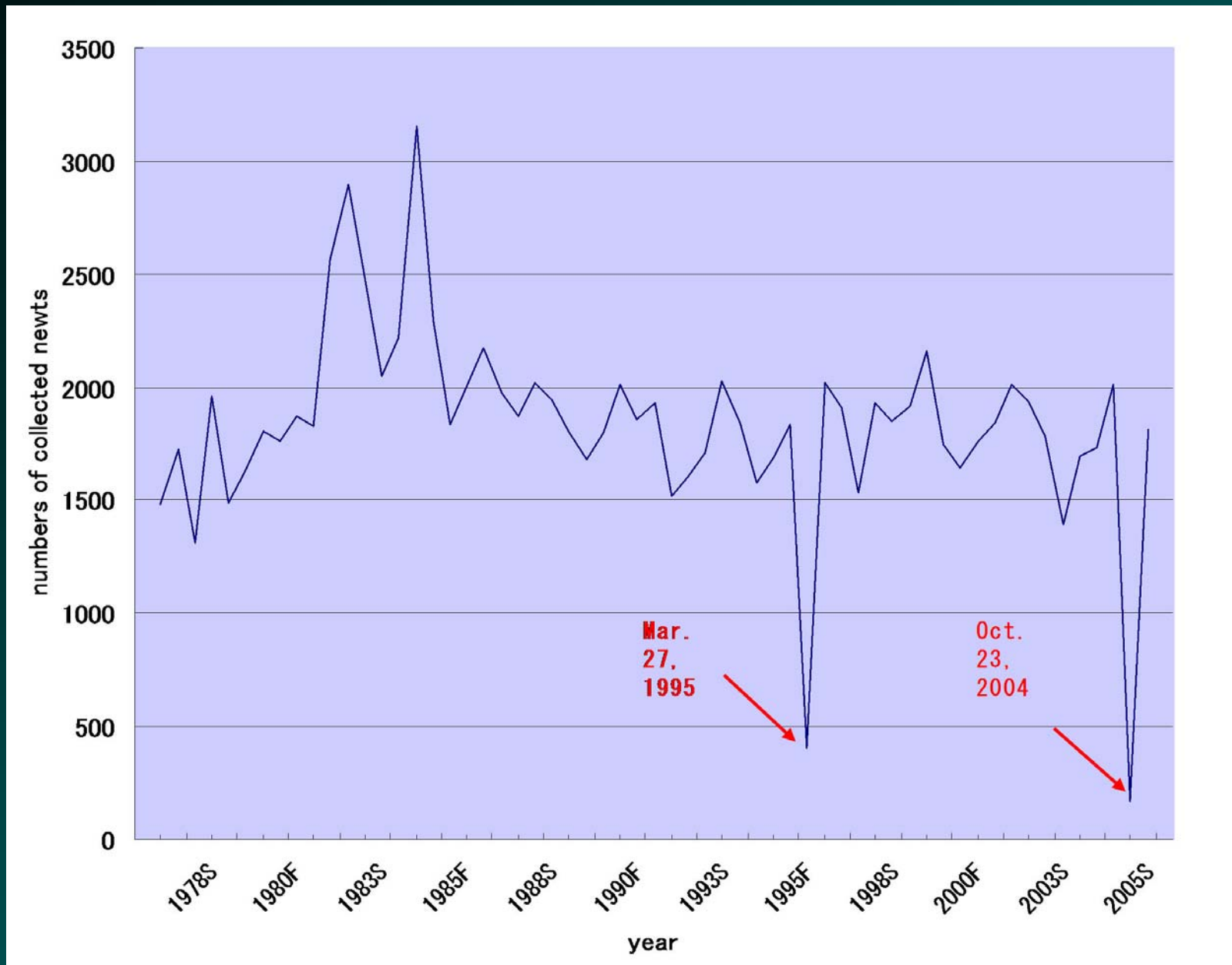
さらに、ご多忙の中、遠くからも本日の最終講義に来て  
下さった多くの方々にも心から感謝申し上げます。  
本当にどうもありがとうございました。

また、今回の私の最終講義に際しては研究室の若い人たちが  
自発的に企画・実行して下さったことに対して、深く感謝します。

浅島 誠



# 新潟県村上市における30年間のイモリの採集数



# 共同研究者

## 横浜市立大学及び東京大学大学院

駒崎伸二, 中野 浩, 富樫 伸, 小山洋道, 小畑秀一  
木下 圭, 生沼 勉, 浜崎辰夫, 島田和典, 別所友子  
有泉高史, 畑田成吾, 魚地孝聡, 高橋秀治, 横田千夏  
盛屋直美, 道上達男, 高野和敬, 早田匡芳, 黒田裕樹  
セン徳川, 小沼泰子, 種子島幸祐, 佐藤 朗, 後原綾子  
十亀麻子, 雪田 聡, 古江美保, 福井彰雅, 伊藤弓弦  
栗崎 晃, 近藤晶子, 岡林浩嗣, 後藤利保, 長船健二  
生沢昌之, 大沼 清, 上原真理子 他多数

内山英穂, 杉野弘, 江藤讓, 上野直人, 木下 勉  
西中村隆一, 横田 崇, 菊池 章, 大河内仁志

Malacinski G., Mayer-Rochow V. B., Grunz H., Tiedemann H. 他