

研究課題別研究評価

1. 研究課題名：

動物の体に発生する化学反応の波：反応拡散波

2. 研究者名：

近藤 滋

3. 研究のねらい：

さきがけ研究 21 における研究期間（97年10月から3カ年）で、（1）魚類の模様は反応拡散波であること、（2）魚類以外の下等脊椎動物（爬虫類、両生類）でも同様の波が観察されること、（3）突然変異による模様変化が、反応拡散方程式の定数の違いで説明できること、を証明した。これらの結果は、生物の模様形成のために反応拡散のメカニズムが一般的に働いていることを示す点で重要ではあるが、反面、模様変化の観察と数理解析からの結論なので、分子レベルの実態に迫ることができていない。また、チューリングの理論のもっと重要な部分である「胚発生における波の存在」については手がつけられていない。

そのため、延長期間では、

（1）皮膚模様形成の分子メカニズムの解明

（2）形態形成期に反応拡散波が位置情報形成に働いていることの証明

に、直接つながる成果を出すことを目的とし計画を立てた。

4. 研究結果：

（1a）模様形成の場としての皮膚構造

ゼブラフィッシュの模様突然変異の遺伝子は、ゼブラゲノムの中心的な機関であるワシントン大のグループによりいくつか同定されている。そのほとんどが色素細胞の分化に関するものであった。しかし、それらの分子的な情報だけでは、波形成のメカニズムを理解（推定）することはほとんどできていない。特に「皮膚のどの細胞が模様を作っているか」についての情報が非常に決定的なものがないことが、分子メカニズムの理解を妨げている。今のところ、色素細胞のなかでメラノサイトがもっともパターン形成に重要と推測されている。その点を確認するためにキメラ実験を行った。模様の違う変異種（縞、斑点）と色素細胞の色（野生種、アルビノ）のさまざまな組み合わせでキメラを作ると、意外にもパターンと色素細胞の由来が一致しないことがわかった。これは予測に反して色素細胞（メラノサイト）がパターン形成に関与していないことを強く示唆している。メラノサイトがパターン形成の主体でないとすると、皮膚内の別の細胞が重要ということになるが、ゼブラフィッシュにおいては、皮膚の構造、存在する細胞の種類、組成、存在状態などが不十分な解析しかされていなかった。そのため基本に立ち戻り、皮膚構造と模様との関係について、電子顕微鏡を使った詳細な組織解析を行なった。またメラノサイトを位置情報のセンサーとして使うことにより、皮膚のどの層が位置情報を保持しているかを調べた。その結果、位置情報は色素細胞層だけでなく、（1）表層に近い真皮のコラーゲン層にも存在すること（2）この層に存在する繊維芽細胞が樹状突起を伸ばし、互いに連結していること、がわかった。現在この細胞がパターン形成の本体であるかどうかについて、引き続き検討中である。（論文 1）

（1b）皮膚構造と縞の縦横を決める皮膚構造

通常の反応拡散系では、縞模様を作ることではできても、その方向を決めることはできない。方向

を決めるためには、なにか追加因子が必要である。それが何かを推定するために、縞の方向が異なる近縁2種のキンチャクダイのパターン形成を経時的に観察し、シミュレーションによりその原因を探った。その結果、反応拡散の基質の拡散速度に方向による偏差（拡散の異方性）があるときに非常に似たパターン変異をすることがわかった。この結果から皮膚のなかで拡散に異方性を生む構造を探すと、すぐに「鱗」が見つかる。鱗は真皮層に突き刺さった方向性のある構造であるから、当然物質の拡散にも影響を与えると考えられる。また、鱗はゼブラフィッシュの色素細胞がある基底層までは達していないから、真皮層の上層には影響を与えても、ゼブラフィッシュで色素細胞のある基底層には影響を与えないはずである。このことから、位置情報が真皮上層で発生すると考えられ、(1a)実験の結果と矛盾しない。(論文2)

(1c) マウスにおける「移動する縞模様」形成

物理における波には「定常波」と「移動波」があり、この2つは境界条件の違いにより、容易に移り変わる場合が多い。反応拡散系による波も同じである。そうすると、皮膚の縞模様が反応拡散波であれば、理論的には「移動波」も存在するはずである。なぜ移動する波を持った生物がないのか不思議に思っていたが、偶然にも移動する縞模様を持つ変異マウスを発見することができた。このマウスは Whn 遺伝子に変異を持ち、体毛の形成過程に異常がある。毛形成の初期に毛が脱落してしまうため、毛形成周期のうち短い期間だけ毛胞内にたまったメラニンが黒く見える。皮膚形成は同時に起きるのではないため、形成時期のパターンが移動波として観察されるのである。そのダイナミクスは、2次元の非平衡反応の代表的なものである BZ 波と非常によく似ており、反応拡散系のシミュレーションでも簡単に再現できた。

一見、毛形成のサイクル自身が「波」を作っているように思われるが実はそうではなく、毛形成が「波」にコントロールされている可能性が高い。その理由は、他のげっ歯類で、まったく同じダイナミクスのメラニン合成活性の「波」が毛形成とは関係なく観察されたからである。

シミュレーションでは、定常波と移動波は基質の拡散速度の違いのみで簡単にスイッチできることがわかっており、このマウスで見つかった皮膚の移動波が、魚の定常波を作るメカニズムと基本的に同じである可能性が高い。

もしそうであれば、今後関連する分子の同定はマウスを使って行うことも可能であり、マウスの遺伝学的知識の蓄積や、研究者の数が今後の分子機構の同定に、非常に有利に働くものと期待している。

(2) にわたりの体節形成の自律性

胚発生時に反応拡散波が働いている証拠を得るために、鶏の体節形成に注目し、体節の等間隔性が反応拡散波と関係しているかどうかを調べた。

具体的には、体節形成期の胚を物理的に伸張させた状態で固定し、その後どのような変化をするかを観察した。その結果、胚を伸張させて場合、伸びた体節ができるのではなく、正常な大きさの体節が数多くできることがわかった。この結果は、体軸の基本単位である体節の等間隔性が、全体的な座標によって決められているのではなく、ローカルな相互作用によって自律的に発生していることを示しており、またこの結果は反応拡散波が体節の位置情報を決められていると考え、非常にうまく説明できる。

5. 自己評価

この延長期間での研究は、さきがけ研究 21 における研究期間に比べ得るものが大きかったように思う。それは運によるところも大きいも知れないが、小さいとはいえグループで研究を進められるようになったおかげだと思う。理論だけをやっているのなら、一人でも可能かも知れないが、実

験は時間的労働的な投資が大きいために人数の効果がはっきりと現れることを実感した。現時点では反応拡散系をテーマに実験を主体に研究しているグループはほとんどないが、今後マウスの系が注目されればもっと多くの人が興味を持つようになり、分子メカニズムの解明も進むのではないかと期待している。その意味でもマウスの発見が最大の成果であったと思う。

6. 領域総括の見解：

近藤研究者の取組んだ動物のパターン形成はチューリングの理論があったとはいえ、現実には全く手のつけられていない新しい分野であった。近藤研究者は研究活動で評価の高い研究室の中心的研究者から「さきがけ」を足場として敢えて未開拓分野に研究の目標を移した。「さきがけ」の3年間で数種の動物においてチューリングの理論を裏付けるパターン形式の過程と、突然変異による模様の変化を見出した。これで一応研究対象としての重要性と面白さは打出せたものの、第三者を納得させる為には分子レベルにおける実態を明らかにする必要がある。そのため2年間の期間延長を行い、実験系の開発を行ってきた。その成果が次第に出はじめ、実験を有効に進め得る系の開発を行うと共に、外部よりもその独創性の高い研究に対する高い評価を得て、理化学研究所 発生・再生科学総合研究センターの位置情報研究チームのチームリーダーとして採用され、今後更なる発展が十分に期待出来る状態となった。

7. 主な論文等：

論文

- (1) The reaction-diffusion system: a mechanism for autonomous pattern formation in the animal skin
Shigeru kondo
Genes and cells, in press
- (2) Directionality of stripe formed by anisotropic diffusion.
Hiroto Shoji, Atsuhiko Mochizuki, You Iwasa and Shigeru Kondo
Journal of Theoretical Biology, 2002,214,549-561

国際学会

近藤滋 " the first international symposium on molecular synchronization for design of new materials system " (Tokyo,JPN), 2000、9月11日

" Turing patterns on the fish: the relationship between the patterns and gene activity "

近藤滋、international meeting for developmental biology、2001,july 8th kyoto

" reaction-diffusion mechanism in the somite formation "

(特許、受賞、招待講演等)

学会等 (招待)

- (1) 近藤滋、日本発生学会ワークショップ (高知大学)、2000年5月24日
「自発的パターン形成の数理と実験」
- (2) 近藤滋、日本生化学会シンポジウム (横浜) 2000年10月12日
「複雑な現象を理解するための構成的アプローチ」
- (3) 近藤滋、日本分子生物学会、2000年12月16日 神戸
「高次生命現象を、分子生物学でどこまで理解可能か」

- (4) 近藤滋、日本人類遺伝学会 2000年11月24日 アクロス福岡
「動物の携帯形成にかかわる動的メカニズムとその遺伝子制御」
- (5) 近藤滋、電顕皮膚科学会 2000年9月28日 アクロス福岡
「チューリング波と形態形成の位置情報」
- (6) 近藤滋、細胞生物学会 2000年11月28日 アクロス福岡
「動物の体に位置情報を作り出すメカニズム」
- (7) 近藤滋、奈良分節会議、2001年7月14日
体節形成における反応拡散メカニズム
- (8) 尾崎淳、近藤滋、時間生物学会シンポジウム、2001年11月14日
ニワトリ体節形成と反応拡散系
- (9) 近藤滋、ゲノムサイエンス講演会、2001年12月1日、東京日本未来館
発生における自発的パターン形成