

【第83回生涯教育講座】

生活習慣病の素因としての
全身臓器の組織形成の解析

—臓器の組織形成と疾病素因—

おお くに ひろき
大 谷 浩

キーワード：組織形成，疾病素因，神経免疫内分泌ネットワーク

要 旨

生活習慣病の素因が胎生期に形成されるとの Barker 仮説が提唱されている。筆者は疾病の素因形成について，胎生後期から生後初期にかけて，将来疾病の本体となる諸臓器ができてくる「組織形成期」と呼ばれる発生過程の関与を提唱している。日常生活の中では臓器機能の一部しか使っていないが，高齢に至り臓器が持つ「余裕」を使い果たすと，臓器機能が障害され疾病が現れる。腎臓などの分岐型発生様式を示す臓器の中にある機能・構造的な単位の総数には大きな個人差がある。臓器ができあがる「組織形成過程」に生じた臓器の大きさと機能の個人差は，各臓器の予備能力，つまり「余裕」の大きさの個人差として，特に現代の高齢化社会においては，将来の生活習慣病の「なり易さ」に関わると考えられる。組織形成過程における個人差を生じる機構などの解明に向けて著者らが行っている，ヒト胎児標本に基づく解析，およびマウスを用いた発生工学的な解析の試みを紹介する。

はじめに

先天異常は「出生時に存在する」形態学的，機能的または生化学的な発生異常と定義される。このうち形態学的な異常には，無脳症や馬蹄腎など体内外の肉眼形態学的な，いわゆる奇形と，先天性聾などのように肉眼的な異常はないものの機能

的な異常を示し，詳しい検討によって組織・細胞学的な異常が明らかになるものが区別され，いずれの成因にも，多くの場合遺伝的要因と環境要因が複雑に関係すると考えられている。このように，形態学的な異常の中にも，肉眼的な異常と，一見正常であるのに組織レベルの異常のために機能障害が来たされる場合があることは，ヒトの胎生期が，明らかに質の違ういくつかの段階からなることを示している。そして筆者らは，その中でも「組織形成期」と呼ばれる臓器の組織構築と機能

Hiroki OTANI

島根大学医学部解剖学講座発生生物学
連絡先：〒693-8501 出雲市塩冶町89-1

成熟の進む時期が、生下時には異常として認知されなくても生後何十年も経って起こる生活習慣病の素因に深く関わる可能性に注目している。ここでは、ヒト胎生期を概説し、その中でも内臓の組織形成が生活習慣病の素因にどのように関わりうるか、それをどのように解析するか、未だ全て萌芽的段階だが、筆者らの研究例を交えながら愚見を述べさせていただく。

ヒト胎生期の概要と組織形成期の 今日的重要性

ヒト胎生期は大きく4つに区分される。まず受精後着床までの1週間弱の間に、後の胚自身となる胚結節（内細胞塊）と、胎盤の形成に与る栄養膜が分化する。次の着床後早期（受精後約2から3週）には、胚結節に分化が始まって3胚葉が形成され、同時に座標軸（体軸）が決定する。3番目は器官形成期（受精後約3から8週）と呼ばれ、前の時期にできた座標軸に沿って、身体のおおまかな形作りが起こる（図1）。図1はいわゆる京都コレクションに属する器官形成期のヒト胚子の

標本である。同コレクションは、筆者の恩師故田中修島根医科大学教授を含む故西村秀雄京都大学教授のグループにより蒐集された数万体もの日本人ヒト胚子・胎児からなり、筆者自身も最後の何十体かを蒐集した。本稿で紹介するものを含めて当教室におけるヒト胚子・胎児に関する研究は、全て同コレクションに基づいている。外形的な特徴の組み合わせによりカーネギーステージと呼ばれる発生段階が、器官形成期の終わりまでに23段階設定されており、実にダイナミックな形成変化をとげて、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、内部の臓器・器官もおよその形が整う。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週から出産まで、実際には後述のように組織形成は出生後もしばらく続く）には、各臓器に特徴的な様々な細胞種が分化して、組織の構築化が進む。そしてこの過程で、生後我々の身体で働くことになる様々な機能が次第に成熟する。この時期は普通胎児期と呼ば

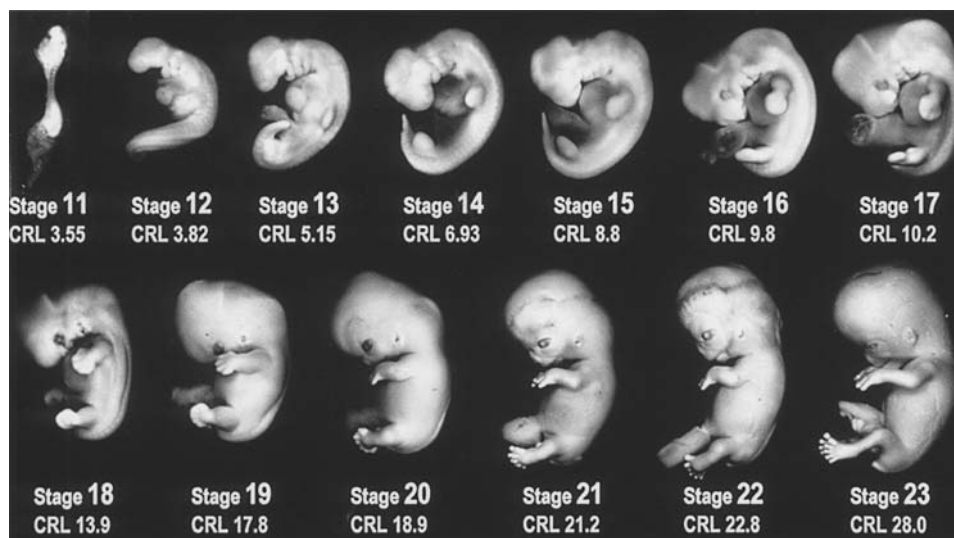


図1 器官形成期の正常な日本人ヒト胚子（京都コレクション）

Stage : カーネギー発生段階, CRL : 頭殿長 (crown-rump length, mm)

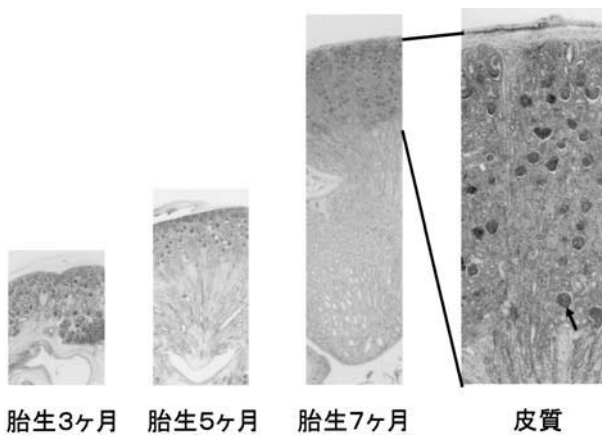


図2 ヒト腎臓の組織形成

糸球体(矢印)は、尿管芽が分岐した片方の先端が周囲の間葉組織と相互作用して、実がなるように形成されるため、深層にあるものほど成熟していて、表層には新たに形成されつつあるものが見える。発生の進行とともに、糸球体が増加して皮質が厚くなる一方で、尿細管が伸長して髄質が形成されていく。

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、器官形成期中に成人とほぼ同じ外形が形成されるが、組織形成期になって初めて、腎小体および尿細管からなる腎臓の機能構造的単位であるネフロン(腎

単位)の組織構築の形成が始まる(図2)。同様に膵臓では、器官形成期中に成人とほぼ同じ外形が形成されるが、中身は分岐した膵管原基が膵臓部の間葉組織中に見られるのみで、組織形成期になってから、外分泌部およびランゲルハンス島などの組織構築の形成が始まる(図3)。このような生後の内臓の機能に直結する妊娠後期の組織形成について、各臓器内における細胞分化、およびネフロンやラ氏島など機能・構造的ユニット自体の形成機構については、近年目覚しく研究が進展している¹⁾。

成人の腎臓はネフロン、膵臓内分泌部はランゲルハンス島の集合体であり、それらユニットの総数は我々の腎機能および膵内分泌そのものに直結・比例する。ところがネフロンの数については、ヒトでは胎生後期に決定す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この時期に決定されることになる。ネフロンの数は、教科書には片側につき約100万個と記載されているが、実はその個人差は、研究によって差がある

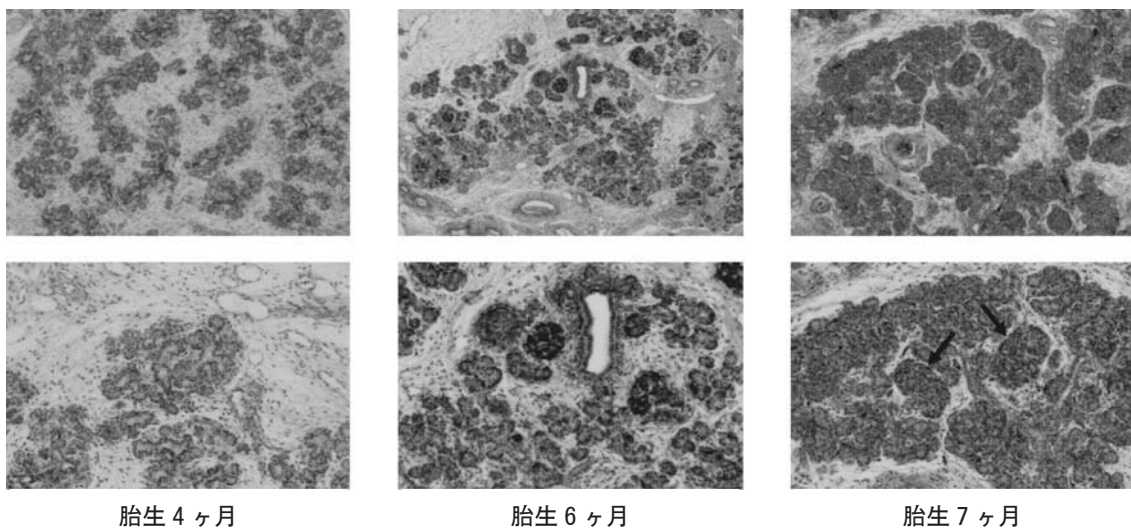


図3 ヒト膵臓の組織形成

発生の進行とともに、間葉組織の中に膵管が分岐し、次第に外分泌部やランゲルハンス島(矢印)が形成されていく。

ものの、少ないものでも1.5倍、多いものでは実に3倍以上に及ぶと報告されている。一方、ランゲルハンス島あるいは膵全体の β 細胞「量」については、ヒト成人の膵臓に含まれるラ氏島の総数は30万から150万と実に5倍の違いが報告されている²⁾。しかし、腎臓や膵臓を含めて、臓器の機能構造的単位の個人差について詳細な情報は未だ乏しい。京都コレクションの胎児解剖例でも、サイズ(頭殿長)がほぼ同じ胎児において膵臓のサイズに大きな変異があることがわかっている(図4)。このことは、これらの臓器機能の予備能に大きな個人差があり、かつそれが、臓器により出生前あるいは生後数歳までの組織形成期中に決まることを示唆する。端的に言えば、同じ生活習慣を維持していても、早々に臓器不全すなわち生活習慣病になってしまう人と臓器に十分な予備能を残したまま天寿を全うする人がいる可能性があるということ、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の差が生じる可能性があるということ、そしてそれらの違いが組織形成

期中に基本的に決定するということである。

では、どのようにそれらの数が調節、決定されるのか、実は全く明らかになっていない。例えばネフロンやランゲルハンス島の形成機構については、急速に分子レベルで解明されつつあるが¹⁾、さらにその上位の数の決定については全く論じられていない。腎臓以外にも、膵臓や、肺、肝臓など分岐型発生様式を示す多くの実質臓器には、基本的に同じ議論が成り立つ。さらに各個人における各臓器のユニット総数間の関係(関係自体の有無に始まって)に関する情報は皆無といって良い。しかし、これは驚くべき盲点ではないだろうか。胎生後期から生後幼年期にかけて組織形成期を終えた各臓器は、日常生活に必要とされる以上のユニット総数を有しており、それが一生にわたる各臓器の予備能を示すことを考えれば、各臓器における機能的ユニットの総数がどのように調整されるのか、また限られた体腔容積の中で各臓器がどのようなバランスでそれぞれのユニット総数・予備能を決めるのかは、生活習慣病の「素因」の実

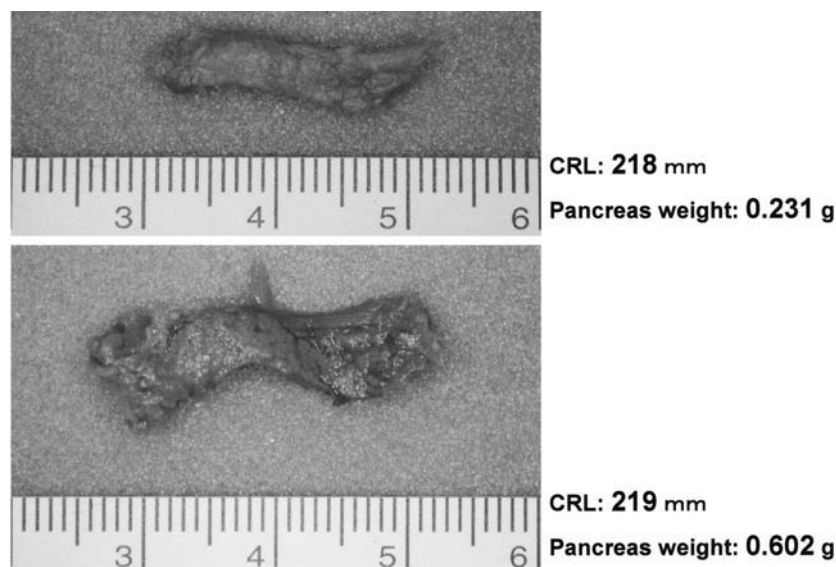


図4 ヒト胎児膵臓の個体差

頭殿長(CRL)がほぼ等しい2例の胎児の膵臓重量が、2倍以上異なっている。

体の少なくとも一面として重要であろう。Barker 仮説をはじめとして、近年生活習慣病等の素因が胎生期に形成されるという議論が盛んになってきた³⁾。母体の低栄養と臓器機能や心血管系疾患との関係といった疫学的な知見が蓄積され、酸化ストレス、代謝機構などの関与についての議論が進みつつある。同説では、胎生期に低栄養環境に曝されて儉約型になった胎児の代謝と生後の飽食的な生活習慣との格差により疾病が生じるとの機構が提唱されている。一方で、疾病の本体となる個々の臓器機能に立脚した詳細な検討は未だ乏しく、個人により生じる多様な臓器疾患のパターンは、全身の生化学的な機構のみでは説明しがたい。臓器の組織形成とその個人差は生活習慣病の素因に直結すると考えられるが、組織形成機構の中でも臓器全体の機能に直結するユニット数の調節機構は殆ど解明されていない。

このような観点から、著者らは、全身臓器の組織形成機構について研究を進めている。以下、胎生期、特に組織形成期中の臓器発生における高次調節機構に関して筆者らが進めている研究について、未だ予備的段階だが、いくつかのアプローチを紹介する。

神経・免疫・内分泌ネットワーク形成機構と全身の調和的組織形成の解析の試み

組織形成期では、細胞数が増加し、複雑な構築が形成され、さらに細胞・組織が機能を発揮し始めることにより、それらの機能が織りなす複雑なネットワークが形成される。しかも、それが全身で一定の調和を保ちながら進行する。しかし、兆のオーダーにも達する膨大な数の細胞からなる我々の身体が全身で調和のとれた発生する過程には、遺伝的プログラムに加えて、高次調節系によ

る全身的な調節が働くのではないだろうか。

近年成体において、高次調節系と呼ばれる神経・免疫・内分泌の各系が複雑に相互作用するネットワークを形成して、全身臓器の機能を精妙に調節していることが明らかになってきた。しかし、これらの系は個別に完成してから互いの関係を構築するのではなくて、ネットワークの形成自体が各系の密接な相互連絡の結晶であり、かつその作用が各系自体のみならず全身の組織発生をも調和させる可能性がある。さらに成人の身体も、実は日々作り替えられている「往く河の流れ」であり、このネットワークは完成品の機能調節に働いているのみならず、成人においても全身の組織形成を調和させ維持している可能性がある (図5)。ホルモンが発生過程に影響を与えることは古くから知られているが、全身の調和のとれた機能分化・成熟・維持、その結果としての生後にお

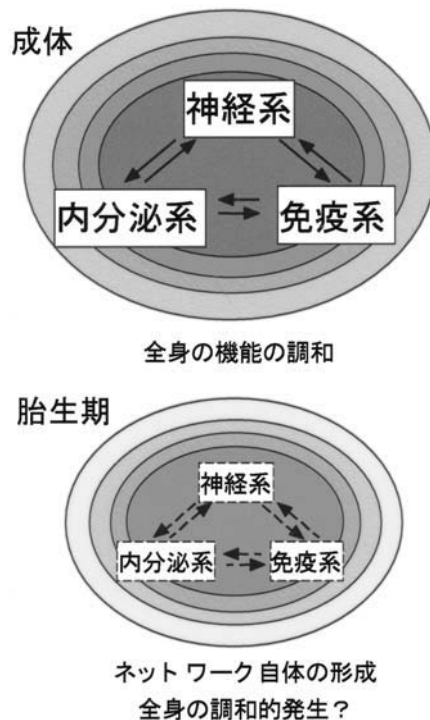


図5 神経免疫内分泌ネットワークの成体および胎児における機能

ける臓器疾患の素因として評価するため、より包括的に捉え直す必要がある。

このような仮説に基づいて神経・免疫・内分泌ネットワークの形成過程を検索するためには、個体レベルでの研究が不可欠であり、当教室では主にマウス子宮外発生法を用いて研究を進めている^{4,5)}。同法では、組織形成期の胎児個体において、部位・時期特異的な実験操作を簡便に、かつ自由に条件を設定して行うことが可能である。同法の概略を示すと、妊娠中・後期のマウス子宮壁を切開し、胎児を胎膜に包まれ胎盤と連絡した状態で露出して、直視下に胎児のねらった部位に生理活性物質等の溶液あるいは細胞を注入する。子宮壁を切開したまま母獣の腹腔内（子宮外）で発生させ、以後満期に至る任意の時期に胎児を得て、注入した物質等の効果を調べるというものである。

神経・免疫・内分泌ネットワークの中でも、内分泌系の主軸である視床下部・下垂体・副腎皮質系とこれに関連する神経・免疫系との相互作用は、中心的役割を果たすものと考えられる。したがって具体的な研究の題材として、1)副腎皮質刺激ホルモンとその受容体 (ACTH/MCR) 系、2)白血球抑制因子とその受容体 (LIF/gp130) 系、3)レプチンとその受容体 (leptin/Ob-Rb) 系、の互いに関連する3つの系に含まれる、あるいは関係する分子を取り上げて研究を進めている。子宮外発生法など発生工学的手法を主に用いて、個体レベルを中心に上記分子の機能について並行・重複して解析することにより、胎生期の同ネットワークの形成と全身臓器の組織形成における複合的・重層的な作用を検討している。

1) ACTH/MCR 系

ACTH 産生腫瘍である AtT-20細胞をマウス胎児の前肢芽の皮下に注入し、機能性腫瘍を生着さ

せ、そこから分泌される持続的で高濃度の ACTH の効果を調べた⁶⁾。まず副腎皮質の特異的な組織分化および下垂体へのネガティブフィードバックの存在を確認した⁶⁾。メラノコルチン受容体のうち、ACTH 受容体として働く MC2R と MC5R は、成人においても、多くの臓器・組織に発現することが知られているが、その意義は必ずしも明らかではない。胎生期の発現について、マウス胚を用いて検索したところ、中枢神経系、その他の全身の臓器・組織に両受容体が広く発現していることが分かった⁷⁾。そこで、上述のように AtT-20細胞をマウス胎児に移植して高濃度の ACTH 環境を作り、各臓器・組織への効果を解析している (図6)。現在、各臓器の組織形成・機能に及ぼす効果の解析を順次進めており、腎臓、精巣を含む泌尿生殖系臓器などに陽性所見を得ている。

2) LIF/gp 130 系

免疫染色により、受容体である gp 130 および LIF receptor がマウス胎生中期以降、終脳の脳室帯、皮質板などニューロン産生に関係する部位に発現することを確認し、gp 130 ノックアウトマウスを用いた loss of function、ならびに子宮外発生法を用いた gp 130 のリガンドの1つである LIF の脳室内投与 (神経細胞の産生が盛んになる妊娠14日) による gain of function それぞれの効果を観察した⁸⁾。その結果、大脳皮質の前駆構造である皮質板で、ノックアウトで細胞数が有意に減少し、LIF 投与で有意に増加した。さらに詳細な解析によって、神経幹細胞が細胞周期から逃れて神経芽細胞へと分化しようとするのを防いで細胞周期へ reentry させること、および分裂後の神経細胞の移動が促進することが示唆された。以上のような子宮外発生法を用いた実験から、

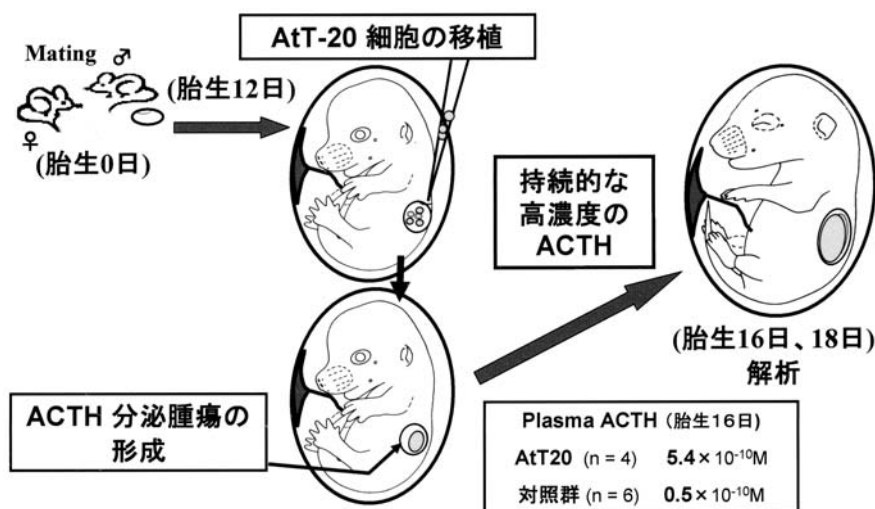


図6 子宮外発生法を用いた副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 分泌腫瘍細胞のマウス胚への移植

皮下に移植された腫瘍細胞が生着して ACTH を分泌するため、持続的に ACTH の高濃度状態が維持され、その全身諸臓器への効果を解析できる。

gp 130 を介したシグナルの機能として、新たに、大脳皮質の組織形成における神経細胞の産生および分裂後の移動に関与していることが示唆された⁸⁾。

ところが、LIF の生体内における発現・産生部位はこれまで多くの研究室の研究にもかかわらず不明のままであった。そこで、マウス胚の脳脊髄液を採取して調べたところ、生理的濃度で LIF が検出され、かつ神経細胞産生と同じ時期にピークを示すことがわかった⁹⁾。脳脊髄液中への供給源についても検討を進めており、胎児血球、胎盤絨毛、さらに母体 NK 細胞が関与する調節系ネットワークについて、作業仮説を立てて解析を進めている。

3) leptin/Ob-Rb 系

最近、レプチンが生後間もない時期に、視床下部ニューロンに対して neurotrophic な作用を持つことが報告された¹⁰⁾。筆者らは、レプチンの胎生期の組織形成、中でも中枢神経系における機能について検索した。受容体のマウス胎児中枢神経

系における発現は、*in situ* hybridization により終脳の脳室帯と皮質板、視床などに観察された¹¹⁾。一方レプチンは、ヒトおよびマウス胎児の血清中に存在することが、我々を含めて複数のグループにより既に証明されていた。そこで、レプチン欠損 *ob/ob* マウス胚と対照野生型胚の脳を比較し、また子宮外発生法を用いてレプチンを胎児脳室内へ注入するなどの解析により、レプチンが神経幹細胞の維持など胎生期大脳皮質の組織形成へ関与することを新たに示した¹²⁻¹⁴⁾。

調和的組織形成の数理解析

組織形成機構について、前項のような分子ネットワークの働きについて考える一方で、全く逆の巨視的観点からも研究を進めている。前述のように分岐型発生様式を示す各実質臓器は機能的・形態学的なユニットの集まりであり、したがって各臓器におけるユニット数の調節・決定機構は、予備能すなわち「素因」に直結すると考えられる。しかし、全身諸臓器におけるこのような「素因」

形成の全体像を把握するためには、局所的なデータの集積のみでは不可能であり、統計学をはじめとする数理解析を用いる必要があると筆者は考えた。疾患素因に関わる臓器は主に上記のとおり機能的・構造的単位の集合体であるため、単位の総数は基本的にこれらの臓器の大きさに比例するとともに予備能力を含めた機能の大きさを示す。つまり、各臓器の肉眼レベルでの計測値が、およそ当該臓器の単位数、すなわち機能的大きさを反映するものと概略考えられる。はじめに述べたとおり当教室では多数のヒト胎児標本を保有し、その解剖により諸臓器の計測値を蓄積してきた。胎児から得られたそれらの計測値を数理解析し、その裏づけとして組織学的検索ともあわせて総合的に解析することにより、全身諸臓器の組織形成・機能的予備能を反映した多次元的基本値を確立し、また発生過程に内在する基本原理を発見することができるのではないかと考え、島根大学総合理工学部数理分野の先生方や外国の研究者と共同して解析を進めている¹⁵⁾。

おわりに

生活習慣病は、前世紀に起こった急激な生活環

境の変化に対して、生物として進化するにはそれよりはるかに長い時間を要する人体が対応しきれず、特に予備能の少ない個人に高頻度に出現する、いわば人間の業病とも考えられる。その対策として、生活習慣を正すべきことは勿論だが、一方で、素因形成の段階からの予防が可能であれば、社会全体に及ぼす効果は極めて大きいものと予想される。素因形成の機構として、生化学的な面に加えて、発生過程の中でも素因の本体となる臓器自体が形成される組織形成期に注目する必要がある。個々人の臓器予備能を見極めることとともに、組織形成期における予備能の決定機構を明らかにして、さらに積極的に全身臓器の予備能の調和のとれた増強を促すことができれば、生活習慣病に対する予防医学の新局面を切り拓くことも可能であろう。実際の研究は全て未だ萌芽的だが、今後の着実な進展が望まれる。

謝 辞

本稿で紹介した研究内容は、当教室に現在および過去に在籍した研究者・大学院生との共同によるもの、ならびに講座配属学生諸君の協力によるものであることを記させていただきます。

参 考 文 献

- 1) Collombat P, Hecksher-Sorensen J, Serup P, Mansouri A: Specifying pancreatic endocrine cell fates. *Mechanisms of Development* 123: 501-512, 2006.
- 2) Saito K, Takahashi T, Yaginuma N, Iwama N: Islet morphometry in the diabetic pancreas of man. *Tohoku J Exp Med.* 125: 185-197, 1978.
- 3) McMillen C, Robinson JS: Developmental origin of the metabolic syndrome: Prediction, plasticity, and programming. *Physiol. Rev.* 85: 571-633, 2005.
- 4) 大谷 浩, 子宮外発生法を用いた組織形成機構の解析, 島根医学, 19: 1-9, 1999.
- 5) Hatta T, Matsumoto A, Otani H: Application of the mouse *ex utero* development system in the study of developmental biology and teratology. *Congenital Anomalies* 44: 2-8, 2004.
- 6) Zhang H, Hatta T, Udagawa J, Moriyama M, Hashimoto R, Otani H: Induction of ectopic corticotropic tumor in mouse embryos by *ex utero* cell transplantation and its effects on the fetal adrenal gland. *Endocrinology* 139: 3306-3315, 1998.

- 7) Nimura M, Udagawa J, Hatta T, Hashimoto R, Otani H: Spatial and temporal patterns of expression of melanocortin type 2 and 5 receptors in the fetal mouse tissues and organs. *Anat Embryol.* 211: 109-117, 2006.
- 8) Hatta T, Moriyama K, Nakashima K, Taga T, Otani H: The role of gp 130 in cerebral cortical development: *in vivo* functional analysis in a mouse *ex utero* system. *J Neuroscience* 22: 5516-5524, 2002.
- 9) Hatta T, Matsumoto A, Ono A, Udagawa J, Nimura M, Hashimoto R, Otani H: Quantitative analyses of leukemia inhibitory factor in the cerebrospinal fluid in mouse embryos. *NeuroReport* 17: 1863-1866, 2006.
- 10) Bouret SG, Draper SJ, Simerly RB: Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding. *Science* 304: 108-110, 2004.
- 11) Udagawa J, Hatta T, Naora H, Otani H: Expression of the long form of leptin receptor (Ob-Rb) mRNA in the brain of mouse embryos and newborn mice. *Brain Res.* 868: 251-258, 2000.
- 12) Udagawa J, Hashimoto R, Suzuki H, Hatta T, Sotomaru Y, Hioki K, Kagohashi Y, Nomura T, Minami Y, Otani: The role of leptin in the development of the cerebral cortex in mouse embryos. *Endocrinology* 147: 647-658, 2006.
- 13) Udagawa J, Nimura M, Kagohashi Y, Otani H: Leptin deficiency causes pycnotic change in fetal cingulate cortical cells. *Congenital Anomalies* 46: 16-20, 2006
- 14) Udagawa J, Hashimoto R, Hioki K, Otani H: The role of leptin in the development of the cortical neuron in mouse embryos. *Brain Res.* 1120: 74-82, 2006.
- 15) Udagawa J, Naito K, Yasuda A, Satow F, Otani H: A trial to make a multi-dimensional standard in the development of human fetus. *Congenital Anomalies* 46: A13-A14, 2006.