

遺伝性多発奇形ウズラ（HMM）初期胚の形態異常と神経堤細胞

一般教育等 金子 智子

1. はじめに

遺伝性多発奇形ウズラ（HMM）は単一の常染色体劣性致死遺伝子（hmm）によって支配され、全身の各所に形態異常を発現して孵卵の初期に大部分が死亡する突然変異体である。HMMに発現する外部形態の異常は孵卵4日目から識別が確実となり、四肢先端部の二枚貝様の形態と脊柱の湾曲が特徴である。

一方、発生の初期に出現する神経堤細胞は、増殖を繰り返し体の各所に移動して様々な組織や器官に分化する多分化能を持つきわめて特殊な細胞群である。HMMの形態異常が体の各所に発現することから、hmm遺伝子は神経堤細胞に何らかの影響を与えることが予想される。神経堤細胞の増殖あるいは移動、移動先での周りの組織との関わりなど様々な課題が考えられる。近年、鳥類における移動中の神経堤細胞を特異的に認識する抗体が見出され、この抗体を用いて移動中の神経堤細胞を染色することが可能になった。この染色法を実施し、HMMの形態異常と神経堤細胞の移動が関係しているかどうかについて検討した。

2. 材料及び方法

材料のhmmホモ型の胚を得るために、hmmヘテロ型同士の交配をして採取した卵を孵卵した。孵卵の1.5日、2日、2.5日、3日、3.5日、4日、5日目にそれぞれの卵から胚を取り出して実体顕微鏡で観察し、HMM特有の形態異常を認めた生存胚（hmmホモ型）をブアン液で固定した。ただし、孵卵1.5日および2.5日目の胚は外部形態から遺伝子型を判別できないので取りだした胚のすべてを固定した。固定した胚の半分に抗マウスCD57抗体（移動中の神経堤細胞を特異的に認識する）を用いて全胚の免疫化学染色を行った。残りの半分は通常の方法でパラフィン連続切片とし、その半分にヘマトキシリン・エオシン染色を実施し、残りの半分には抗マウスCD57抗体を用いて免疫組織化学染色を実施した。同様にして正常胚の標本を作成しコントロールとした。全胚は実体顕微鏡で、組織標本は光学顕微鏡でそれぞれ観察をし、正常胚とHMM胚との間で比較検討した。

3. 結果

3-1 外部形態

HMM2 日胚の第1、第2、第3 鰓弓の形態に異常が観察されたがその異常の程度には個体差が大きかった。HMM2.5 日胚の脊柱にはようやく判別できる程度の湾曲が観察された。4 日胚では正常胚の四肢が棒状であるのに対し、HMM 胚の四肢先端部は二枚貝の貝殻様で、脊柱の2カ所に明らかな湾曲も認められた。HMM5 日胚の四肢先端部分はさらに大きく扇状を呈した。

3-2 組織

外部形態により遺伝子型が判別できるHMM2.5 日胚において、眼杯内層の異常な褶曲が観察された。発生が進み、眼杯内層から分化した神経網膜には多層化、褶曲、波状形態などが認められた。また、正常型の眼胞は後極部がやや窪んでいるのに対し、HMM胚のそれは肥大し突出していた。

3-3 抗マウスCD57抗体による免疫染色

全胚

発生の各段階において正常胚、HMM胚ともに眼胞の周辺部、耳胞の周辺部、鰓弓、心臓、頭部正中線部、体節部などに染色性が認められた。2.5 日胚においてHMM胚の眼胞の水晶体の周辺部に強い染色性が観察されたのに対し、正常胚ではその部分にほとんど染色性が認められなかった。また、3 日胚においてHMM胚の眼胞の下部に染色性があるのに対し正常胚にはほとんど染色性は認められなかった。3.5 日胚、4 日胚、5 日胚の眼胞周辺部の染色性はHMM 胚と正常胚の間で違いは観察されなかった。また、体節部分の染色性を比較すると、HMM胚の方が正常胚より神経堤細胞が脊髄付近に長く留まっている像が観察された。また、5 日胚では正常、HMMともにほとんどの部分でその染色性を失っていた。

組織

正常胚、HMM胚ともに頭部および体幹部の様々な部分に染色性が観察されたが、正常胚とHMM胚の染色性に明らかな違いは見出されなかった。

4. 論議とまとめ

2.5日胚と3日胚において、正常胚とHMM胚の間で全胚の眼胞周辺部の抗体による染色性に違いが観察されたこととHMM胚の眼胞が後極部で肥大していることを併せて考えると、神経堤細胞が眼の分化や成長に何らかの影響をもっていることが示唆された。組織標本を作る時の技術的な問題もあって、現在のところ組織の抗体による染色性の違いを見出すに至っていないが、今後、全胚での染色性の違いと対比できる組織上の場所を特定しなければならないと考えている。眼の分化と神経堤細胞の関係を明らかにするためには、今後さらに詳細な研究が必要である。加えて、正常胚とHMM胚の間で体節部分の染色性の相違が観察されたことからHMM胚に特有の四肢の形態異常と神経堤細胞の移動との関わりも検討しなければならない。発生のごく初期（孵卵2.5日以前）の遺伝子型は今のところ外部形態からの判別が不可能であるが、この時期は神経堤細胞の移動が非常に活発であるので、今後出来るだけ多くの標本作製して、発生初期段階におけるHMM胚と正常胚の間の神経堤細胞の移動に違いがあるかどうかについても結論を出したいと考えている。