

Special Review

コンピュータを使って発生を考える

近藤 滋

動物の発生は自然現象のなかでも最も複雑な現象の1つである。非常にたくさんの細胞が、非常にたくさんの分子シグナルで影響を与えあい、複雑な形を正確につくりあげる。ところが、それに比べて人間の頭はあまりに複雑なものを考えるようにはできていない。では、発生、形態形成の完全な理解は不可能なのだろうか？ 幸いにも、今日の生物学者には強い味方がいる。そう、コンピュータである。

◆ key words

形態形成、位置情報、濃度勾配、反応拡散波、Turing A、コンピュータシミュレーション

はじめに

● 1. コンピュータと生物学

最近では生物学、医学系の研究室にもコンピュータが普及して、電子メールやDNA配列の解析、論文の検索などに使われている。現代科学はもはや情報産業であると言ってもいいくらいで、コンピュータネットワークなしに素早い情報の収集や解析を行うことは不可能になりつつある。

ところでコンピュータにはワープロやネットワーク以外にも使い方があ

えっ？ ゲームだろうって？

それもあ

シオンどころか“理論生物学”そのものがポピュラーでない。そんなものなんの役にもたたん、というのがほとんどの研究者の印象だろうと思う。確かに生物学の歴史では、予測のできない現象の発見を理論が後追いついてきたというのが正しいところで、そう考えるのも無理もないところであろう。しかし将来においてもそうであるとは限らない。特に“発生、形態形成”の分野では、近い将来、コンピュータシミュレーションが現象の解析、理解のために必須になると筆者は予想する。

● 2. 発生学におけるコンピュータの使い道

いうまでもなく発生、形態形成はきわめて複雑な現象である。たくさんの種類の細胞が互いに影響を与えあい、分裂し、分化し、変形して形態をつくりあげていく。何千何万の細胞の状態を完全に把握し、最終的な形態を予測することは人間の頭ではとうてい可能とは思えない。例えば、脊椎動物の手足の形態形成を思い浮かべてほしい。ZPA (zone of polarizing

How to Study Development with Computer Simulation

KONDO Shigeru 京都大学医学部 医化学第一講座

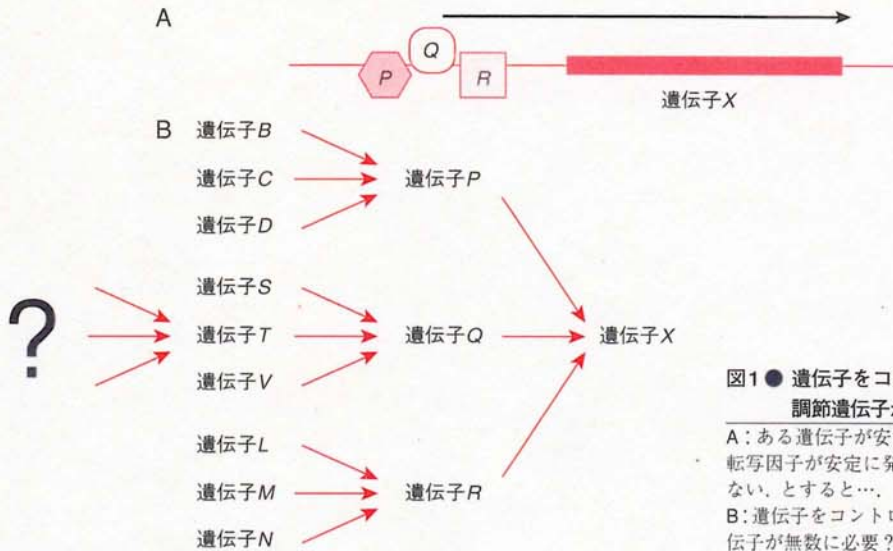


図1 ● 遺伝子をコントロールするために調節遺伝子が無数に必要?

A: ある遺伝子が安定に発現するためには、転写因子が安定に発現していなければならない。とすると…

B: 遺伝子をコントロールするために調節遺伝子が無数に必要?

activity) と AER (apical ectodermal ridge) の位置関係でその後の手足のパターンが決まることはわかっているが、最終的にできあがる手足の圧倒的な複雑さを、ZPA と AER の位置と誘導される遺伝子の性質だけから正確に予測することは、はたして可能だろうか。

そこで、コンピュータシミュレーションである。コンピュータは何千何万の細胞の状態を同時に計算することなどはお手のものであり、うまく使えば形態形成のような複雑な現象の理解にはもってこいである。コンピュータ自体の進歩もめざましく、かなりの複雑な処理にも現代のコンピュータは耐えられるはずである(それを実感する最もよい方法は、ゲームセンターに行ってみることであろう。15年前のスペースインベーダーしか知らない人は、腰を抜かすかもしれません)。

■ I. コンピュータに計算可能な分化の定義

● 1. 計算可能な定義が必要

コンピュータシミュレーションや理論生物学がポピュラーにならない理由の1つは、“分化”、“決定”といった発生学における重要な概念が抽象的で、数値計算にそぐわないことがあることである。そこで、発生をコンピュータシミュレーションを使って理解するための第1歩として、“分化”を定義してみるこ

とにする。発生とはおのおのの位置の細胞が何に分化するかということだから、意味のあるシミュレーションをするには、“分化”の正しい理解がまず必要である。それもコンピュータに計算させるわけだから、あいまいな言葉による定義では役にたたず、計算可能な数値的な定義でなければならない。もし、以前に講義やセミナーで“分化の定義とはうんぬんである”とか習ったことがあったら、とりあえずそれは忘れていただきたい。言葉による定義は、主観的な要素を含んでいるし、そもそもコンピュータで計算することができない。客観的で、なおかつ分化に関わるいろいろな概念(多能性、決定、分化転換など)が一目瞭然に理解できてしまうような、そんな定義をめざしてみよう。

● 2. 遺伝子転写制御ネットワークの意味

まず、例えばL細胞とかHela細胞のような培養細胞に発現している遺伝子Xについて考える。培養細胞だから周囲の細胞の影響を考えなくてよい。L細胞のような培養細胞の性質は安定だから、Xの発現(転写)は一定なはずである。では、Xの発現はなぜ一定に保たれているのだろうか? 転写の制御はその遺伝子の近傍にある制御配列(シスエレメント)に結合する転写因子に依存する。Xの転写を制御する転写因子をP, Q, Rとすると(図1A), Xが安定して発現するためにはP, Q, Rが安定して発現していなければな

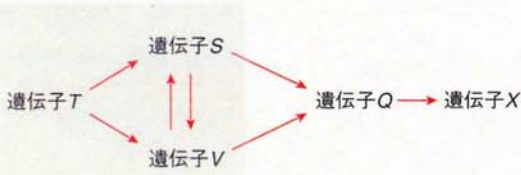


図2 ● 遺伝子発現コントロールの最上流

上流の遺伝子が互いに発現をコントロールしあうと、それ以上遡る必要がない。また、互いに干渉しあうことによって自由度が減り、スイッチとしての機能をもつことができる。

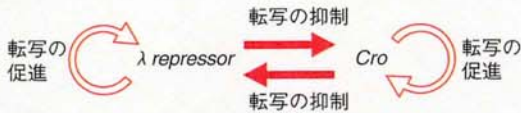


図3 ● λファージのλ repressor遺伝子とCro遺伝子の関係
互いに自己を促進して相手を抑制するため、どちらか1つの遺伝子だけが転写される状態が安定である。

らない。

では、遺伝子P, Q, Rの発現はどのように制御されているのか？ たいていはこのへんで考えるのをやめてしまう人がほとんどであろうが、この際、とことん考えてみる。“個々の遺伝子は複数の転写因子によって発現を制御されている”という命題が正しいとすると、図1Bのような制御ネットワークが描けるが、これではどこまでいっても制御の源にたどり着かないし、遺伝子の数も無限に必要である。

このジレンマを解消するには2つの考え方がある。

- ① 転写制御ネットワークの最上流の遺伝子は、転写因子以外のものでコントロールされるとするか、
- ② 上流のところでは、転写因子が互いに発現をコントロールしあっていて、どれがより上流かわからないようになってきているか (図2)

である。前者 (①) のメカニズムとして、DNAのメチレーションがすぐに思いつくが、高等動物のDNAにはヌクレオシド部分にメチル基が転移しているものがある。メチル化はヌクレオチドの重合後に起きる反応で、メチル化の度合いとmRNA転写との間に相関関係があることがわかっているが、細胞がどのようにしてメチル化すべき遺伝子を見つけるのかなどの細かいことはわかっていない。特異的な位置にメ

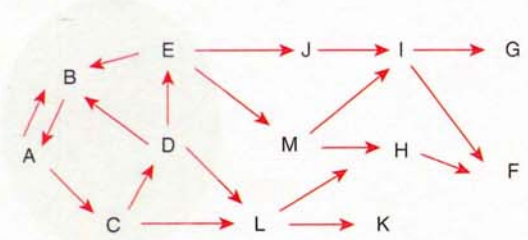


図4 ● 細胞の分化状態を決めるために必要な遺伝子ネットワーク

図中A~Mの各遺伝子産物の細胞内濃度をa, b, ..., mとすると、細胞の状態はベクトル (a, b, ..., m) で表現できるが、F~Mの発現はA~Eに依存するため、分化状態の表現としては (a, b, c, d, e) で十分である。

チレーションを入れるための目印には、やはり特異的なDNA配列とタンパク質の結合が必要であるから、それだけでは問題の解決には不十分である。後者 (②) はM. Ptashneの考えを少し進めたものである。転写制御因子が互いに発現をコントロールしあうと、個々の遺伝子の発現状態は互いに干渉しあうため、系 (細胞) はごく限られた状態しかとれなくなる。図3は、Ptashneが明らかにしたλファージの溶菌と溶原状態を制御するメカニズムである。2つの転写因子、λ repressorとCro遺伝子は互いに相手の発現を阻害し、自己の発現を促進する。このような関係のもとでは、λ repressorとCroのうちどちらかが最大限に発現し、もう一方の発現が完全に抑えられるという2つの状態のみが安定である。これだと遺伝子の数を増やすことも、他の制御メカニズムを仮定することもなく、下流遺伝子の安定な発現が保証される。Ptashneはこのような系をgenetic switchと名づけ、高等生物の分化も同様なしくみでコントロールされていると予測した。

●3. 分化とは転写制御因子の相互コントロールによって生じる安定な状態

さて、それでは先の考えを一般化してみよう。まず個々の細胞の分化状態を表す指標として、その細胞におけるすべての遺伝子産物の濃度を使う。ほとんどの論文で分化の指標として特異的な遺伝子の転写量を使っており、この点について異論はあまりないと思う。遺伝子の数をn個とすると、細胞の分化状態

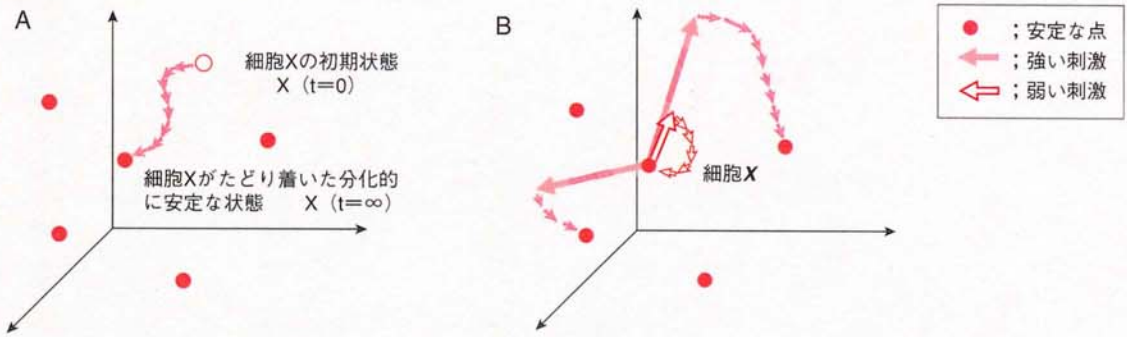


図5 ● 転写因子のネットワークから導かれる細胞分化のイメージ

座標軸はおのおのの転写因子の細胞内濃度。ベクトル \vec{Cell} と同じ次元数であるべきだが、便宜上三次元にしてある。小さい矢印は微小時間における \vec{Cell} の変化 $(F(\vec{Cell}) \cdot dt)$ 。初期状態から出発して安定な分化状態に達するまで (A) と、1つの安定な分化状態から、分化因子の刺激により別の分化状態に移行するまで (B) が描かれている。

は n 次元のベクトルで表すことができる (図4)。しかし、これは分化の指標としては冗長である。まず、house keeping geneはすべての細胞に発現しており、分化とは関係ないので除くことができる。また、転写制御の下流にある遺伝子の転写も上流の遺伝子の発現量によって決まるから、分化の指標としては下流の遺伝子は必要ない。仮にすべての遺伝子の転写制御が明らかになっているものとする、下流のものをどんどん削っていくことができ、最後に図4に示すような上流部分の転写制御遺伝子のサーキットが残るはずである。それぞれが互いに発現を制御しているため、これ以上削ることはできない。

さて、ある瞬間 (t_0) の細胞の分化状態がベクトル $\vec{Cell}(t_0) = \{a, b, c, d, e\}$

ただし、 $a \sim e$ は転写因子の細胞内濃度で表すことができたとする。おのおのの転写因子の合成速度は、その遺伝子を制御する因子の濃度から計算できるから (例えば、転写因子 g の合成が H, I, J で制御されているとすると、 H, I, J の濃度から G の合成速度は計算できる) dt 時間後の細胞の分化状態はベクトル \vec{Cell} から計算可能で

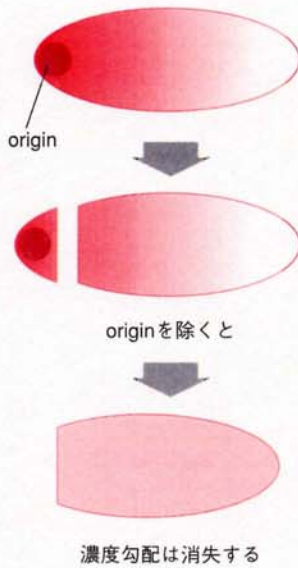
$$\vec{Cell}(t_0 + dt) = \vec{Cell}(t_0) + F(\vec{Cell}(t_0)) dt$$

ただし、 F はベクトル \vec{Cell} から各因子の濃度の変化量 (合成量 + 自己崩壊量) を計算する関数と表すことができる。この計算を延々と続けていくことによって、未来の細胞の分化状態が予測できることになる。

では $t = \infty$ のときどうなるか？ 皆さん高校で習ったように無限級数は、“発散”、“収束”、“振動”のいずれかしかない。細胞にあてはめてみれば、“発散”はどれかの因子の濃度が無限大となってしまうわけで、細胞は死んでしまうであろう。生き残ることのできる細胞はある一点に収束するか、特定の状態の間を振動し続けるかのいずれかになる。振動はやや特殊な場合 (生物時計関連の遺伝子など) に限られるので、ここでは除外すると、イメージ的には図5Bのようになる。 m 次元の空間の中に多数の安定な点 ($F = 0$ となる点) が存在する。この分化的安定点は関数 F の性質つまり各転写因子の性質からのみ計算されるので、細胞の現在の状態にはよらない。任意の状態の細胞は最も近い $F = 0$ になる点に移動していき、そこで分化的に安定する (図5A)。外から分化因子などの刺激が与えられると、どれかの転写因子の性質が量的に一時的に変化し、細胞の状態も一時的に変化する。分化因子の刺激の刺激が弱ければ細胞はもとの状態に戻るし、刺激が強ければ別の安定な点 (分化状態) に移動していく (図5B)。胚の細胞はその時々には与えられる分化刺激に従って、次々により安定な点に移動していく。最後にたどり着いた点は当然最も安定であるから、通常の刺激ではそれ以上の分化は起きない。しかし十分に強い刺激があればどのような変化も原理的には不可能でない。

以上が、転写因子の働きをもとにした分化の定義である。一言で言ってしまえば、分化とは転写因子の

A 受動的濃度勾配 (普通の濃度勾配)



B 反応拡散波による濃度勾配

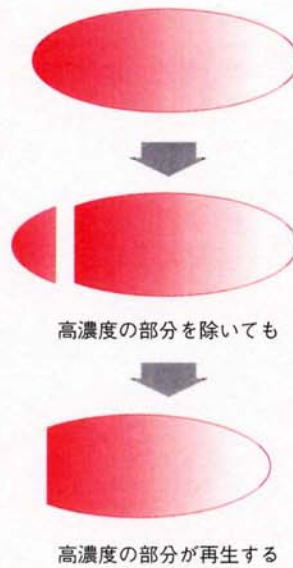


図6 ● 受動的濃度勾配と反応拡散波による濃度勾配の違い

受動的濃度勾配を保つには、位置情報物質を放出する細胞が胚の一部に偏って存在していることが必要である。したがって、その細胞を取り除いてしまうと勾配は消滅する(A)。一方、反応拡散波による濃度勾配は、胚全体のバランス(図9)によって保たれており、どの部分を除いても勾配は再生する(B)。

相互コントロールによって生じる安定点ということになる。また、この定義では分化に関する概念のほとんどは、単に安定度の差として表現されることを理解してもらえれば幸いである。 λ repressorとCro遺伝子のように簡単な関係ならばどのような状態が安定かを頭で考えることができるが、3つ以上の遺伝子が絡んだネットワークだと、コンピュータの助けを借りないと安定な状態を計算するのは難しい。

II. 発生における位置情報の問題

● 1. 卵の位置情報では不十分

発生とは、どこかの細胞が何に分化するかを決定するシステムである。すべての細胞は1個の受精卵に由来するから、その細胞が何に分化するかは、いつ、どこで、どのくらいの強さの分化刺激が与えられるかによって決まる。分化刺激はいろいろなシグナル伝達分子、いわゆる分化因子によって細胞に伝えられる。胚における位置情報とは分化因子の濃度勾配(偏在)である。それでは、濃度勾配は一体どのようにしてつくられるのであろうか。

胚の一部分にだけ分化因子のmRNAあるいは分化因子そのものが偏在していれば、拡散によって比較的簡単に濃度勾配ができあがる。おのおのの細胞が

分化因子の濃度の差を読み取ることができれば、位置特異的な分化が成立する。では、その次の段階の、もっと細かい分化の位置情報はどうか？ 今度は前段階で特異的な分化をした一部の細胞だけが新たな分化因子を放出し、その濃度勾配を周囲の細胞が読み取ることによって細かい分化が可能である。この流れはいくらでも続けられるので、発生後期のより細かい形態形成もOKである。つまり、受精卵にある濃度勾配に由来する位置情報のカスケードが形態形成の本質である、と考えている方が結構いると思う(W. Gehringもそうだった)が、ちょっと待ってほしい、この考え方は、確かに直観的に非常に理解しやすいし、ショウジョウバエの初期発生の実例もあるが、これだけではたして十分だろうか？

● 2. 受動的な濃度勾配はそれ以前につくられた構造(位置情報)に依存する

胚の一部分にだけ存在する分化因子産生細胞から放出され、拡散することによってできる濃度勾配は、いってみれば受動的な濃度勾配である(図6A)。位置情報を受け取る側は勾配の形には寄与せず、勾配の形は分化因子産生細胞の位置、産生量に依存する。つまり、それ以前に成立している位置情報に100%依存するわけである。各段階でつくられる位置情報が前

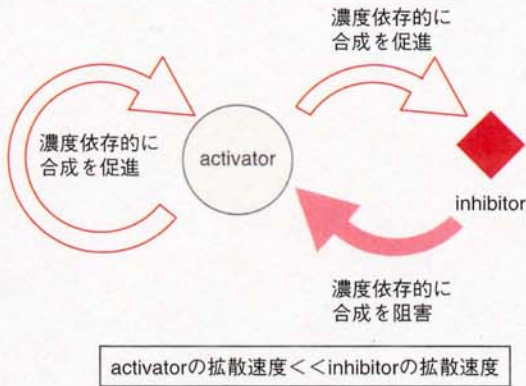


図7 ● 反応拡散波の成立条件

詳しくは本文参照。

段階の位置情報に依存するとなると、結局すべてが卵の位置情報に由来することになってしまう。卵にかなり複雑な位置情報が備わっていることは確かである。しかし、それが発生後期の、例えば指の先の形まで決めていると考えるのはずい分無理がある。成体の構造のほうがあまりにも複雑かつ正確であり、とうてい卵の濃度勾配だけに依存しては全部をコントロールしきれまい。また、発生の初期に胚の位置情報を実験的に乱してやっても、ちゃんとした成体に成長する両生類などの例がある。もしすべての位置情報が卵に由来するのなら、一度乱されてしまえば修正されるはずはない。

では、このタイプの濃度勾配だけで発生を理解できないとすれば、なにが別のメカニズム、特にそれ以前にある位置情報に由来しないのできるような濃度勾配がありうるだろうか？それが意外にも理論的にはありうるのである。

■ Ⅲ. 位置情報を生み出すメカニズム

● 1. Turing の反応拡散波理論

その理論とは1952年にイギリスの数学者A. Turing が発表した反応拡散波説である（“For Beginners”や文献1）を参照）。彼は、“2つの仮想的な化学物質（分化因子）が、図7に示すような条件を満たして互いの合成をコントロールしようとき、その物質の濃度分布は均一にならず、濃い部分と薄い部分が空間に波状のパターン（反応拡散波）をつくって安定する”ことを、数学的に証明した。これだとやや抽象的すぎるので、

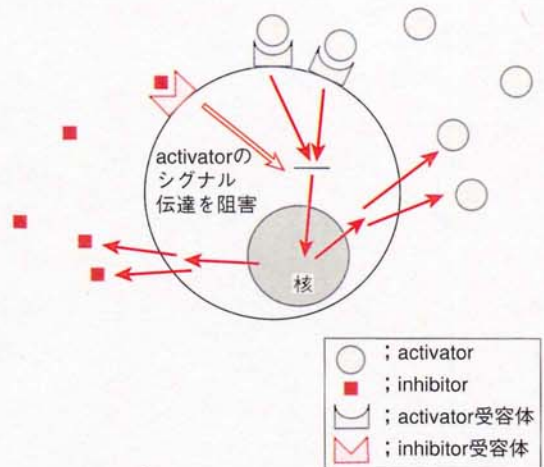


図8 ● 反応拡散派を生じさせる細胞と分化因子の関係

詳しくは本文参照。

もっと具体的なイメージで言えば、胚を構成している細胞が図8のような性質をもつと、胚の中に2つの分化因子の濃度勾配がひとりだけでできあがるということである。

これだけの条件でどうして濃度勾配ができるのかの詳しい説明は、数学の教科書のようにになってしまうので、ここでは行わない。興味のある人はTuringの原論文か数理生物学の参考書をみていただければ詳しく載っている。濃度勾配のでき方の概念的な説明は図9に描いた。キーになるのはactivatorの合成の自分自身による positive feedback と2つの分子（activator と inhibitor）の拡散速度の差である。

反応拡散波による濃度勾配は他の位置情報に依存せず、関与する分子の性質（拡散、合成、分解の速度）にのみ依存して決まる。したがって、細胞はこれらのパラメータを調節することにより、任意の濃度勾配をつくりだすことが可能である。いわば、反応拡散波は発生における伸縮自在の“魔法の物差し”になりうるのである。

● 2. 反応拡散波は生物に実在するか？

残念なことに、Turingの理論は40年以上もの間ほとんど埋もれたままになっていた。H. Meinhardtらの理論生物学者が反応拡散波を使っているいろいろな発生現象を説明する論文を発表したが、一般的な生物学者の注目を得るに至っていない。なんといっても、はっきりした実例が見つからなかったのが致命的で

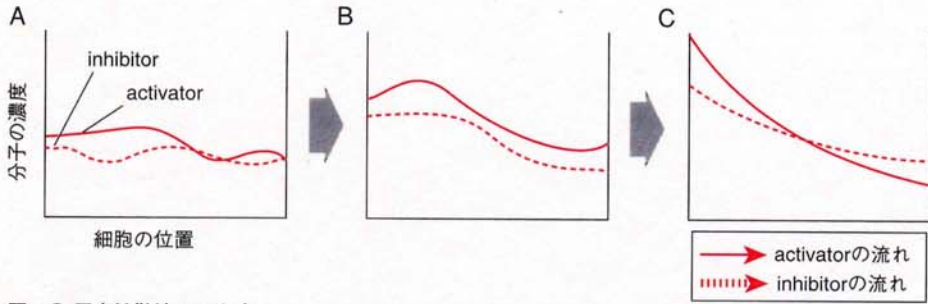


図9 ● 反応拡散波の歩き方

線上（一次元）に並んだ細胞群に反応拡散波が発生する様子。横軸は細胞の位置。縦軸はおおのこの細胞内の activator と inhibitor の濃度を表す。どちらの分子も gap junction などを通じて、隣の細胞に拡散可能と考えている。inhibitor の流れの矢印が activator に比べ太いのは、inhibitor の流れが大きいことを示す。

A：初期状態。2つの分子の各細胞における濃度は特定のパターンを示していない。

B：変化途中の状態。図7の関係に従って分子の濃度が変化していく。

C：濃度勾配ができて安定化した状態。一度このような濃度勾配ができると、それは安定して存在できる。拡散が2つの分子を右方向へ移動させ、勾配を消そうとする方向に働く。一方、分子の合成は activator の濃度に依存するため、図の左側ほど合成速度が速く、勾配をより急にする方向に働く。反応のパラメータを適当に選ぶと、この2つの作用が釣り合って勾配が安定に保たれる。

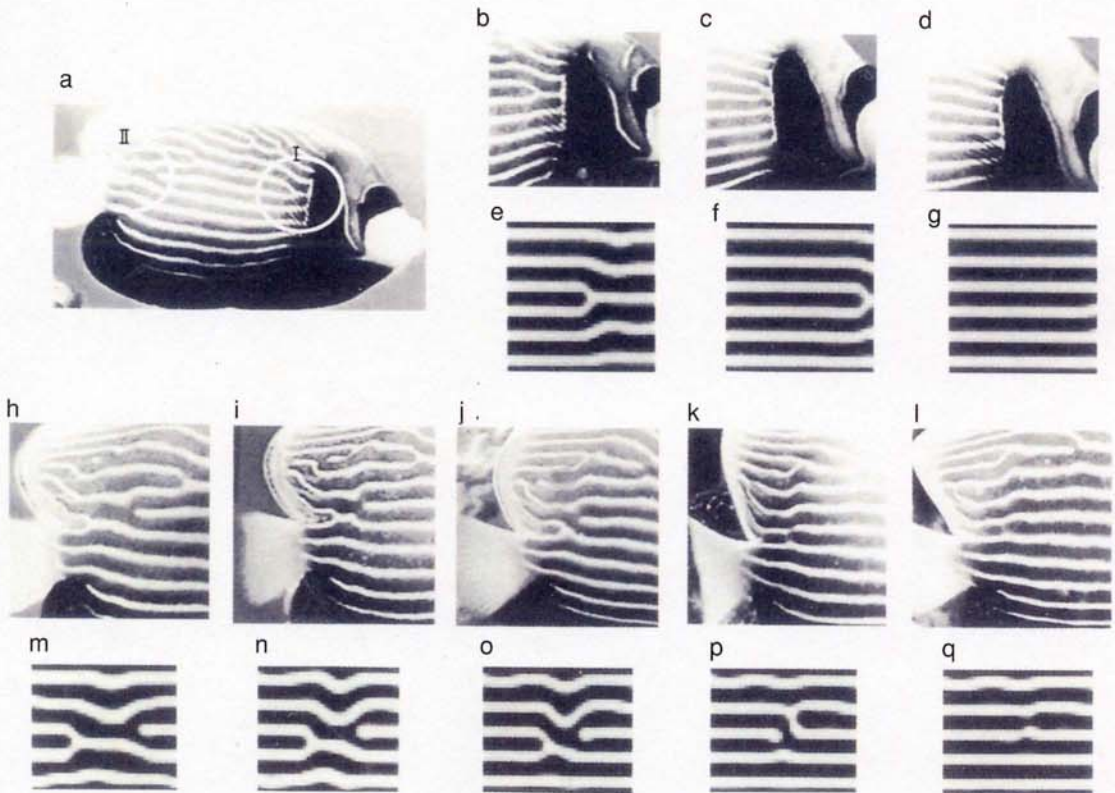


図10 ● タテジマキンチャクダイの縞模様の変化とそのコンピュータシミュレーション（口絵参照）

タテジマキンチャクダイのaのIの部分の模様は、成長とともにb→c→dのように変化した。縞の分岐点が右に移動し、ストライプの乱れが解消されている。

e→f→gは反応拡散波に基づくシミュレーション。実際の魚で起きた変化とまったく同じ変化が起きている。

h→i→j→k→lはaのIIの部分に起きた模様の変化。分岐点と断端が融合してストライプの乱れが解消されている。この変化もシミュレーションによる予測（m→n→o→p→q）とぴったり合う。

あった。しかしながら、バーゼル大学留学中にこの理論を知り、感動してしまった筆者は、なんとか反応拡散波実例を探そうといろいろ探し回り、やっとのことで海産熱帯魚の1つタテジマキンチャクダイ (*Pomacanthus imperator*) の皮膚の模様が、生きた反応拡散波らしいことを発見した。

● 3. 魚の縞模様は生きた波

タテジマキンチャクダイの縞模様は、他の動物の模様と違い、皮膚に固定していない。ほとんどの動物の場合、体が成長すると縞の間隔がただ広がっていくが、タテジマキンチャクダイの場合は間隔は広がらずに、縞の本数が徐々に増えていく。成長による縞の間隔の広がり、縞自体のダイナミックな変化によって常に補正される。そしてその変化の過程は、Turingの方程式から計算される予測と正確に一致する(図10)。このようなフレキシブルな模様(位置情報)は、受動的な位置情報形成のカスケードで説明できないことは容易に理解できると思う²⁾。

タテジマキンチャクダイの縞模様をつくるメカニズムが形態形成の位置情報としても使われているという証拠は現在のところない。しかし、皮膚の模様などというつまらないもののためにだけ、このようなすばらしいシステムが進化してきたとはどうも考えられないだけに、大いに期待できると(少なくとも筆者は)思う(Turingの理論以外にも安定な空間的パターンを生じさせる仮想的なメカニズムはいくつかあるが、そのすべては細胞同士の相互コントロールが基本となっており、その本質においてはほとんど同じと考えてよい。ちなみにタテジマキンチャクダイの縞模様の変化は、どの理論を使っても同じように説明可能である)。

■ おわりに：“分子の性質の解明” = “発生の理解” とは限らない

動物が発生を正確に行うためには、どうしても位置情報を生み出す機構が必要である。反応拡散波のような、細胞同士の相互コントロールが生み出す濃度勾配はそのための位置情報として機能しうるし、実際に魚の皮膚において、そのような機構が働いていることが証明された。このような機構の解明は、発生の完全な理解には必須のものであろう。しかし相互コントロールによって形成される位置情報(パターン)を分子の性質から直観的に想像することはほとんど不可能であろう(図8の関係からタテジマキンチャクダイの模様およびその変化を想像できる人がいるだろうか?)。

現在の生物学は、異常な勢いで発生や分化に関わる遺伝子を同定し、その性質を解明していきつつある。21世紀にはすべての因子の同定が終わってしまうかもしれない。しかし、“分子の性質の解明” = “発生の理解” とは限らない。明らかにされた複雑な分子間ネットワークの意味を知り、それがどのようにして動物の形につながっていくかを理解するためには、コンピュータシミュレーションによる解析が必要不可欠であろう。

読者の方へ このような内容の文章が「細胞工学」に載ることはほとんどなかっただろうから、かなりの人が面喰らったと思うが、この際と違って、日ごろ考えていることを書かせていただいた。最後まで読んでくれた方には感謝を申し上げたい。また、この内容に関して質問や意見、あるいはこの話の続きが聞きたいという方がいれば、ぜひ連絡をいただければ幸いです(kondo@mfour.med.kyoto-u.ac.jp tel:075-753-4377 fax:075-753-4388, 京都大学医学部医化学第一講座)。

■ 文献 ■

- 1) Turing, A. M. : Phil. Trans. R. Soc. B237, 37-72 (1952)
- 2) Kondo, S. & Asai, R. : Nature 376, 765-768 (1995)

For Beginners

- ・“Models of Biological Pattern Formation” Meinhardt, H. : Academic Press (1982)
- ・“Pattern Formation” Malacinsky, G. M. & Bryant, S. : Macmillan (1984)
- ・“How the leopard gets the spots ?” Murray, J. D. : *Scientific American* 258, 80-87 (1988)