

メダカの遺伝子からヒトの疾患を探る

武田洋幸

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻教授

一見すると左右対称に見える私たちの体。しかし、その内部には、さまざまな非対称性が秘められている。メダカを用いた遺伝子研究により、内臓の非対称性をもたらす鍵が繊毛の動きにあり、その異常によって思わぬ疾患が引き起こされることがわかった。

ヒトを含めた脊椎動物の発生機構や疾病の原因を探るには、人工的に変異体を作り出して検討するのが有効である。私たちは、脊椎動物のからだづくり（個体の発生）を支配する重要な遺伝子群を明らかにする目的で、2000年より国立遺伝学研究所で、2002年からは東京大学と東京工業大学（工藤明研究室）で、発生に異常を示すメダカの突然変異体の単離を実

施した。得られた変異体は、体軸形成や原腸形成、さまざまな器官形成に異常を示すもので、ヒトの病気を連想させるものも多かった。その一つに、左右軸の形成異常があった。

左右対称と非対称の規則性

「脊椎動物のかたち」は、基本的には左右対称である。しかし、心臓の位置、

消化管のねじれ方、肝臓などの配置は左右非対称となっている。いずれも、狭い空間に多くの器官を配置するための工夫だと思われるが、驚くべきことに、これらの非対称性は遺伝的に厳密に制御されており、脊椎動物に広く保存されている。たとえば、いずれの脊椎動物でも、胚発生の段階で心臓は必ず右側にループして形成される。また、ヒトでは、心臓は必

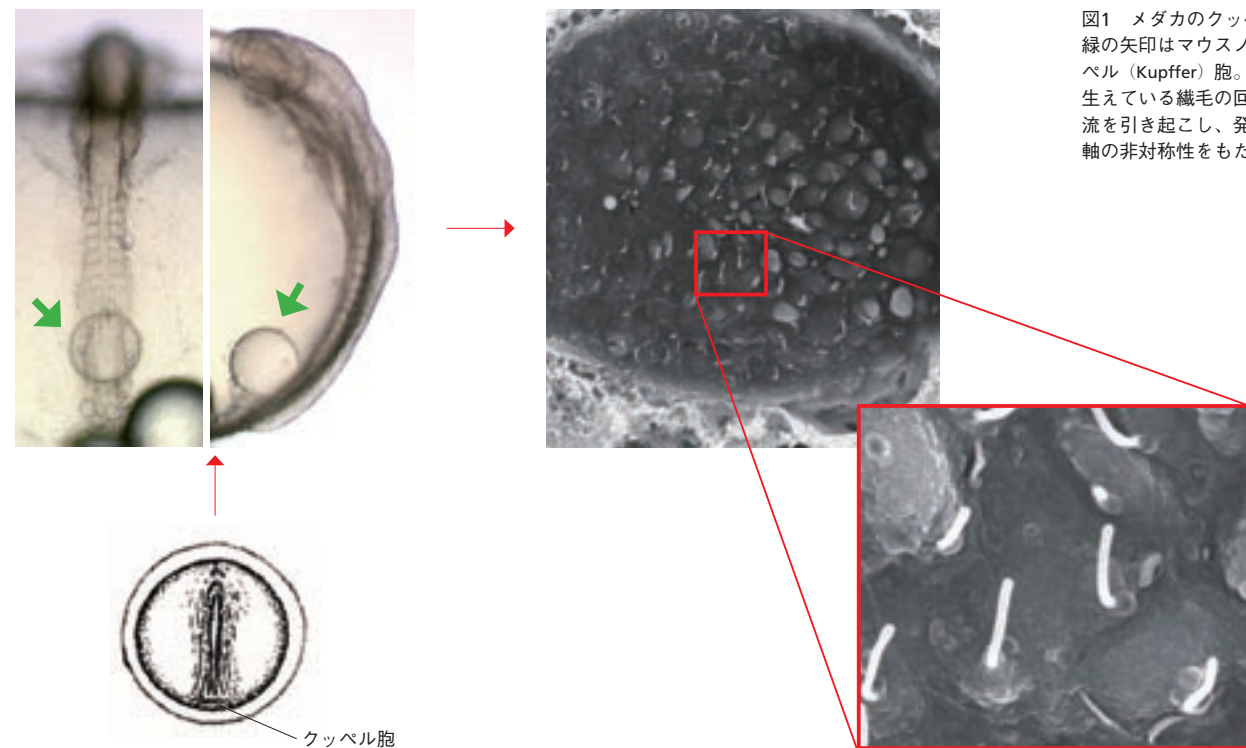
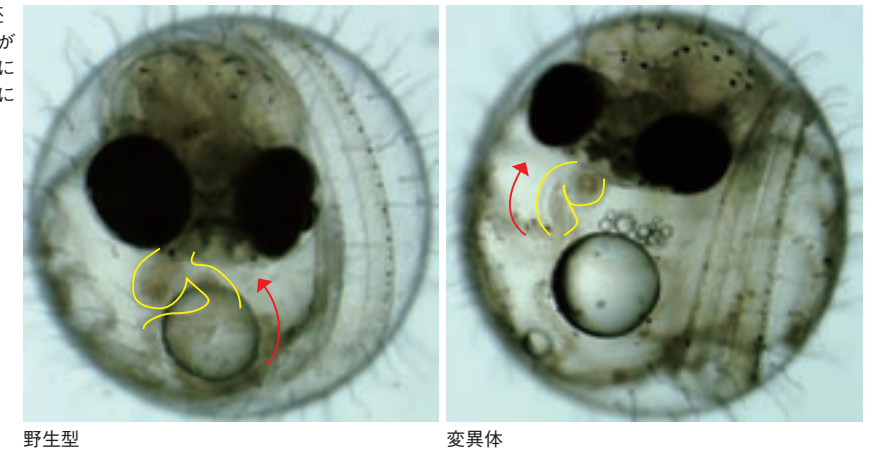


図1 メダカのクッペル胞
緑の矢印はマウスノードに相同するクッペル（Kupffer）胞。クッペル胞の上皮に生えている繊毛の回転運動が左向き水流を引き起こし、発生初期における左右軸の非対称性をもたらすと考えられる。

図2 メダカの左右軸変異体 *ktu* の胚
左は正常、右は *ktu* 変異体。左右軸が異常になった結果、変異体の約半数に心臓のループ（黄色の輪郭）が左側に向けて突出する異常がみられた。



野生型

変異体

ず左に、肝臓は右に配置され、大腸は時計回りに巻く。こうした配置に個体差はほとんどなく、異常がみられるのは、わずか8500分の1から1万分の1の確率でしかないとされている。一方で、捕食者に襲われた際の逃避行動には、動物種特有の左右性がみられる。その方が、集団や種として生存のチャンスが大きくなるからだと思われる。

これまで、こうした左右非対称性を決定するメカニズムの研究は、主にマウスを用いた発生遺伝学によって進められてきた。たとえば、左右非対称性を決める胚発生の重要なステップが、ノード領域に生えている繊毛が創り出す水流にあることがわかっている。ノード領域とは、胚の尾部に位置し、発生を誘導するオーガナイザー活性をもつ領域のことである。繊毛による水流によって、イオン環境の変化やある特殊な物質の偏りが生じ、左側でのみ「特異的な遺伝子カスケードのスイッチ」が入ることになる。

本稿で述べるメダカなどの魚では、胚の尾部にぶら下がっている小さな胞状器官（Kupffer's vesicle, KV）が、マウスのノード領域に相当する。KVの上皮には繊毛が生えており、その回転運動によりKV内で左向き水流がもたらされることになる。

メダカの左右軸異常と腎臓病

左右非対称性の研究は、これまでの伝

統的な順遺伝学ではなかなか進展しなかった。その理由の一つは、遺伝学的解析が進んでいるゼブラフィッシュの胚では内臓逆位の頻度が野生型でも数%（最大5%程度）と高く、左右軸形成に注目した変異体のスクリーニングが行われなかったことにある。幸い、私たちが用いたメダカでは、内臓逆位の頻度が野生型で0.5%以下と低く、最終的に7系統のメダカ左右軸変異体を得ることができた。そこで、これらの変異体を用いて、左右軸形成に関与する新たな遺伝子を探すことにした。

その結果、現在までに3系統の左右軸変異体について原因遺伝子を突き止めることができた。本稿では、その中の一つである *kint-oun* (*ktu*) を紹介したい。*ktu* 変異体は、内臓の配置が完全にランダムになる典型的な左右軸喪失の変異体であった（図2）。内臓逆位は直接個体の生存に関わるわけではないので、メダカの *ktu* 変異体は成魚まで成長・成熟し、子孫を残すことができた。ただし、興味深いことに、成長の過程で必ず腎臓肥大を発症することがわかった（図3）。年を経ると、下腹部がふくれて圧迫されるために背筋が曲がり、体のかたちが孫悟空が空を飛ぶために乗る「筋斗雲」に似てくるのである。遺伝子が「*kint-oun*」と命名されたのは、そのためである。

腎臓は、ネフロン単位とよばれる小さな腎管の集合体である（ヒトの成人は片方

の腎臓につき約80～100万単位をもつ）。メダカの *ktu* 変異体の腎臓では、この管を構成する細胞が異常に増殖しており、多くの空胞（囊胞）が形成されていた。こうした病変は、ヒトで1000人に一人程度と、比較的高頻度でみられる「多発性囊胞腎症」という遺伝病とよく似ている。ヒトの多発性囊胞腎症は、いったん発症すると腎臓機能が不可逆的に低下または喪失する重篤な遺伝病といえるが、このメダカの *ktu* 変異体は、この疾患のよい動物モデルとして使えることがわかった。しかも、*ktu* 変異体ではふ化後10日前後と、早いうちに囊胞化が始まり、この点もヒトの多発性囊胞腎症の解析に好都合であった。

ktu 遺伝子が繊毛の機能に関与

左右軸異常と腎臓病。一見関係ないように思える現象だが、実は、ともに繊毛の異常が関係していることがわかってきている。腎管は内面を囲む上皮細胞が一本の繊毛（魚の場合は複数本の場合もある）を備えている。この繊毛が管内を流れる液体（原尿）の流速や圧力のセンサーとしてはたらき、加えて、管内の細胞増殖をも制御していると考えられるが、*ktu* 変異体では繊毛の異常により、こうしたシステムがうまく機能していないと思われる。実際、私たちは、*ktu* 変異体の雄では精子の運動性が低下しており、腎管の繊毛の機能も異常となっていた。つま

り、*ktu*変異体では、繊毛の運動性がなくなったことで、内臓逆位と腎臓病が同時に起きたといえるのである。

このような状況のなか、私たちは、メダカのゲノム全体に設計した目印（マーカー）と解読したメダカゲノムの配列情報を駆使することで、*ktu*変異体の原因遺伝子を突き止めることに成功した。*ktu*遺伝子は、これまで全く知られていなかった新規のもので、ヒトを含めた脊椎動物、棘皮動物、ミツバチ、ハエを含

めた昆虫、一部の単細胞生物（クラミドモナス）など、繊毛をもつ生物に広く存在する遺伝子であった（図4）。

さらに私たちは、3種の色素を遺伝的に除いた半透明のメダカを用いたうえで、腎臓の組織だけが発光するように処理したトランスジェニックメダカを作り、そこに*ktu*遺伝子の変異を導入することにも成功した。今後は、このメダカを用いて嚢胞腎の発症過程を「生きたまま」追跡する予定である。

より詳細な解析を進め、医学にも応用

*ktu*遺伝子は新たにみつかったものであったために、配列やドメイン構造から機能を推定する手がかりを得るのが難しかった。たいへんな苦労を2年も重ねた結果、「*ktu*変異体では繊毛や鞭毛内のモータータンパク質であるダイニンアームが欠損していること」、「*ktu*タンパク質は細胞質中に存在し、ダイニンアーム前駆体の形成に必須なものであること」

メダカを高校の授業で活用する

野村浩一郎

神奈川県立逗子高等学校 教諭

メダカは遺伝学実習の教材として優れている。それは、①体色の判定がしやすい複数の形質があること、②飼育・交配が容易で、授業時間に合わせて多数の卵が得られること、③受精後数日の胚で表現型が判定できること、④多くの遺伝的マーカーがわかっているため、PCRという手法によって遺伝子型を判定できる、といった特徴をもっているからだ。逗子高校では、数年前から基礎生物学研究所の成瀬清准教授らの指導を受け、メダカを使った遺伝学実習を授業に取り入れる試みを行ってきた。

2年生の生物の授業では、ヒメダカ（赤）とクロメダカ（野生型・黒）を交配したF1を準備し、別々にしておいた雄と雌を同じ水槽に入れ、配偶行動を観察させた。受精卵は回収し、数日後、表現型を判定させた。ほぼ黒：赤=3：1に分離した。3年生ではT5と呼ばれるヒメダカの系統と、HNIと呼ばれる野生型の系統を交配したF1を用いてb（黒色素胞がない）とi-b（眼の黒色素胞の発達が遅れ、まだらになる）の2遺伝子雑種の交配実験を行い、F2で4種類の表現型がほぼ9：3：3：1に分離することを確認させた。さらにPCRによる遺伝子型の決定を行った。

照明を落とした室内で、水槽に光を当て、交尾し産卵するようすを観察。生徒たちは、メダカに名前をつけて、食い入るように見ていた。受精卵はシャーレに回収。数日後、胚を観察し表現型を数えた。動いている心臓や血流もよく見え、生きていることがまざまざと実感された。表現型が3：1になることはわかっているが、実際にそうなると大喜びする。その胚からDNAを抽出し、サーマルサイクラーにセットするときは、マイクロピペットを使うのでちょっと緊張。実習はこんな感じであった。

高校では、2年生でメンデルの法則を学び（AaBbなど）、理系の生徒が選択する生物IIでセントラルドグマを学ぶ（ATCGなど）こと

が多い。その間、実験はほとんどなく、生徒たちは「メンデルとDNAは別々のもの」そして「記号ばかり覚えるもの」と思いがちである。メンデル遺伝と分子遺伝学が連続したものであり、生きている生物の営みを理解させるためにも、この実習は大変有効であったと考えている。



実習前のメダカの雌雄分別と、PCR法によるメダカの遺伝子型の判定。

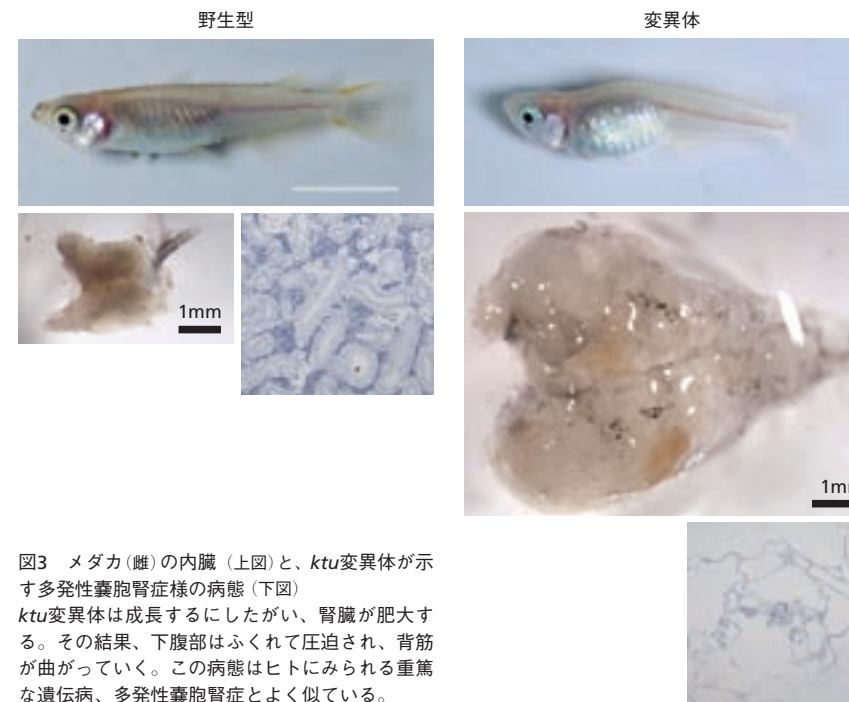
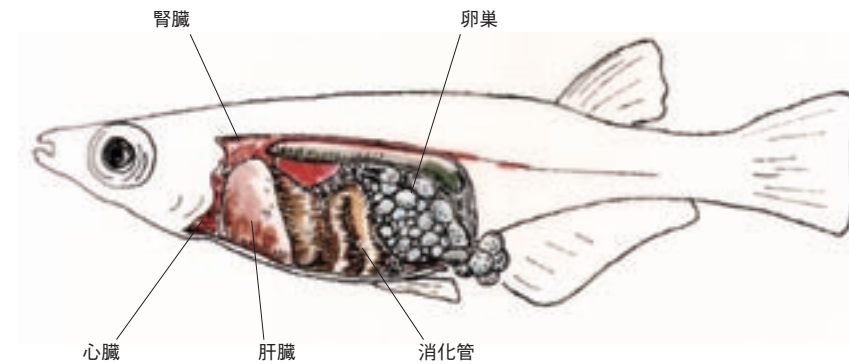
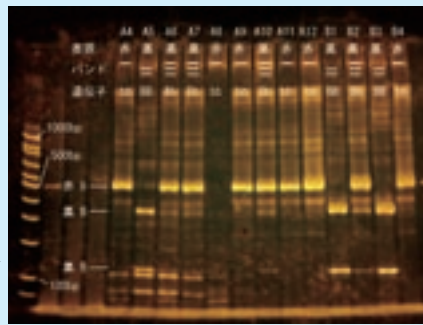


図3 メダカ(雌)の内臓(上図)と、*ktu*変異体が見せる多発性嚢胞腎症様の病態(下図)
*ktu*変異体は成長するにしがたが、腎臓が肥大する。その結果、下腹部はふくれて圧迫され、背筋が曲がっていく。この病態はヒトにみられる重篤な遺伝病、多発性嚢胞腎症とよく似ている。

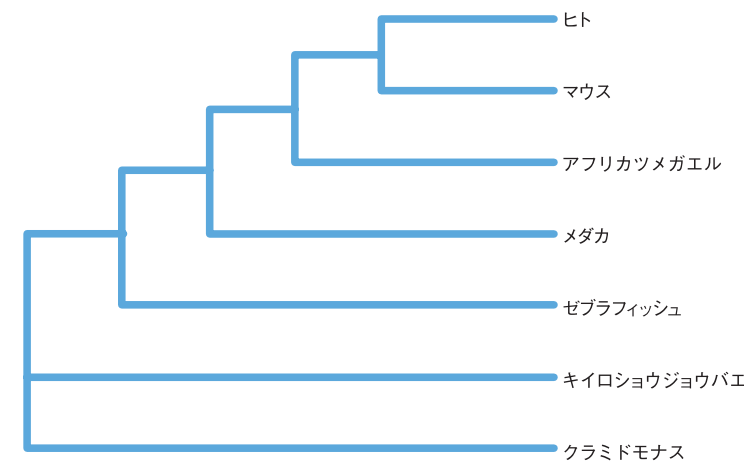


図4 *ktu* 遺伝子の系統樹
ktu 遺伝子は、ヒトから単細胞生物であるクラミドモナスまで、運動性の繊毛・鞭毛をもつ生物に幅広く存在されている。

を突き止めることができた（論文投稿中）。

さらにごく最近、ドイツ、フライブルグ大学のHeymut Omran博士と共同で、気管支の拡張や内臓逆位などの症状を示すKartanger症候群の患者のゲノムDNAを調べたところ、この疾患がみられる2家系で、*ktu*遺伝子の変異をみつけることができた。気管支の拡張は、気道の組織を裏打ちする上皮細胞に生えている繊毛の運動性が低下するために、気管支内に進入した細かい異物を排除することができなくなって炎症がおきるのが原因である。

*ktu*遺伝子の詳細な解析はまだこれからだが、今後はマウスやクラミドモナスといった繊毛の研究環境が揃っている実験系に重点を移して続ける予定である。

● *ktu* 遺伝子の解析を共同で行ったFreiburg大学のHeymut Omran博士、東大の神谷律博士、群馬大学の萩原治夫博士、また、メダカ変異体の単離に尽力した武田研究室および東工大工藤研究室の大学院生、研究員らの方々に、この場を借りて感謝申し上げます。



武田洋幸（たけだ・ひろゆき）
専門は発生遺伝学。特に脊椎動物のからだづくりのメカニズムに関心をもつ。大学の発生学実習で、ニワトリ胚の発生を観察したことをきっかけに、動物発生の美しさ、複雑さ、正確さ、精緻さなどに魅了された。著書に「動物のからだづくり-形態発生の分子メカニズム-」(朝倉書店、2001年) などがある。