

卵割の数理解モデル

広島大学大学院理学研究科
数理分子生命理学専攻数理計算理学講座複雑系数理学研究室
Department of Mathematical and Life Sciences,
Graduate School of Science,
Hiroshima University
秋山 正和 (Masakazu Akiyama)
手老 篤史 (Atsushi Tero)
小林 亮 (Ryo Kobayashi)

概要

本研究では卵割の数理解モデルを提案する. 卵割とは発生の初期段階において、受精卵が全体のサイズをほぼ一定に保ちつつ、分裂を繰り返しながら、細胞数を増やしていく過程である. この過程の間、個々の細胞は整然と分裂を繰り返し、その結果として胞胚が形成される. 卵割にはいくつかのタイプがあり、どのタイプの卵割が選択されるかは、生物種ごとに固有である. このような規則正しい分裂過程が実現されるためには、時間的空間的な調整が必要不可欠であるが、そのメカニズムはいまだ明らかになっていない. 本研究ではウニ卵の卵割に注目し、特に卵割の空間的調整のメカニズムについて考察する. 我々は、植物極と動物極からの化学物質の拡散に注目し、中心体が化学物質の勾配に感応して移動するという仮説のもとに、卵割の初期段階を記述する数理解モデルを構築した. このモデルをシミュレーションすることによって、ウニ卵の正常卵割過程や、様々な阻害実験の結果を再現することに成功した.

1 はじめに

1.1 卵割とは

自然界には極めて多様な多細胞生物が存在するが、その多くは1つの卵細胞から発生している. 発生の初期段階において、この卵細胞が細胞分裂を繰り返し、最終的には複雑な形を持った生物を形成する. この細胞分裂の初期過程は特に卵割と呼ばれる. 通常の体細胞分裂では、分裂と分裂の間に細胞の成長期が入るため、分裂の過程を通して各細胞の体積はほぼ一定であり、全体の体積は増加していく. それに対し卵割では、分裂と分裂の間に細胞質の体積は増加せず、初めは巨大であった受精卵の細胞質は、非常に速いペースで小さな細胞に分かれていく. 本研究で考察の対象とするウニ卵の卵割過程の一部を図1に示す.

1.2 細胞分裂の過程

卵割は細胞分裂の特別な場合であるが、一般的に細胞分裂は図2に示されるような過程を経て起こる. 各過程を詳しく述べておこう.

- (a) 中心体は細胞内で倍化し2つになる. 核膜内ではDNAが複製される (間期).
- (b) 2個の中心体間で有糸分裂紡錘体ができつつある. 中心体同士も離れつつある. 複製された染色体は2個の密着した姉妹染色分体からなる (前期).

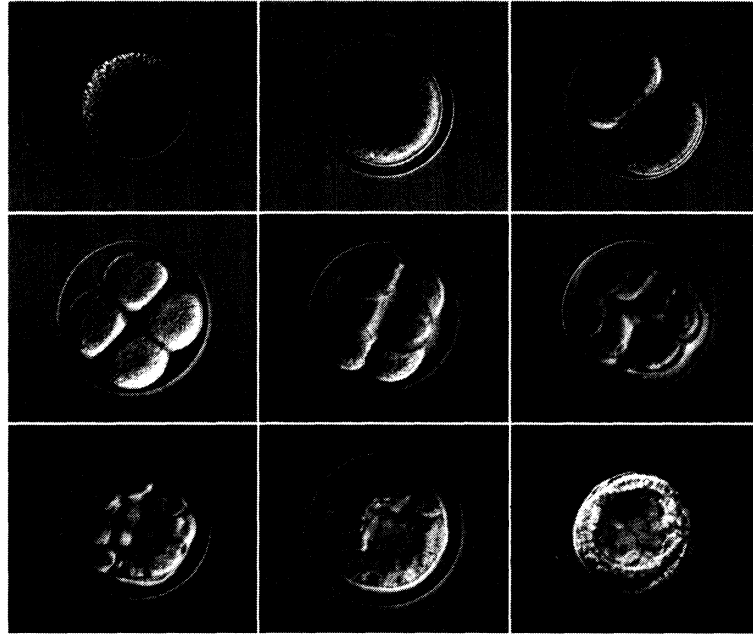


図 1: 未受精卵から胞胚までのウニの卵割過程. (広島大学 坂本尚昭氏の御好意による.)

- (c) 核膜が徐々に散逸し始める. 染色体上の動原体に微小管が接着し活発に動き始めその後、染色体は紡錘体極の中間にある紡錘体赤道面に整列する. 細胞分裂の方向性はこの時期あたりから決まる (前中期～中期).
- (d) 姉妹染色分体は同時に分離して2組の娘染色体を形成し、それぞれが面する紡錘体極にゆっくりと引っ張られていく (後期).
- (e) 2組の娘染色体は紡錘体極に到達し、脱凝縮する. 新たな核膜がそれぞれの周囲に再集合して、2個の細胞核の形成が完了する. 有糸分裂の終了である. 細胞質の分裂は収縮環の集合で始まる (終期).
- (f) アクチンとミオシンの繊維でできた収縮環によって細胞質が2分割される. 収縮環は細胞を締めつけて、それぞれ核をもつ2個の娘細胞を形成する. 細胞質分裂の完了となる. また細胞分裂の位置は必ず2つの中心体を通る線分の垂直2等分面となる.

中心体は星状体および紡錘体の極になっており、図2からもわかるように、中心体の位置が細胞分裂の位置と方向を決めている. このような細胞分裂の過程において、中心体を移動させる力学的な原動力は微小管によって与えられる. 微小管は直径約 $25nm$ の管状の構造であり、主にチューブリンと呼ばれるタンパク質からなっている. この微小管には方向性がありチューブリン二量体が付加しやすい側をプラス端(+)、解離しやすい側をマイナス端(-)と呼ぶ. 微小管はチューブリンの付加により伸長したり、解離によって短縮される. 中心体は1対の中心小体(ごく短い微小管から構成されており、互いに直交している)とそれを取り囲むように雲状の中心体マトリクスにより構成されている. 中心体マトリクスはある種のタンパク質などから構成されており、中心体の微小管形成中心としての機能を司っている. 細胞分裂時、この中心体マトリクスにマイナス端を向けた微小管が配位し、中心体は星状体と呼ばれる構造物となる. つまり、星状体は外側にプラス端を向けた状態となっていることになる. このプラス端は他の星状体のプラス端や細胞膜と相互作用する(図3). 相互作用には、2種類のタンパク質(微小管依存モータータンパクと呼ばれる)が関与して

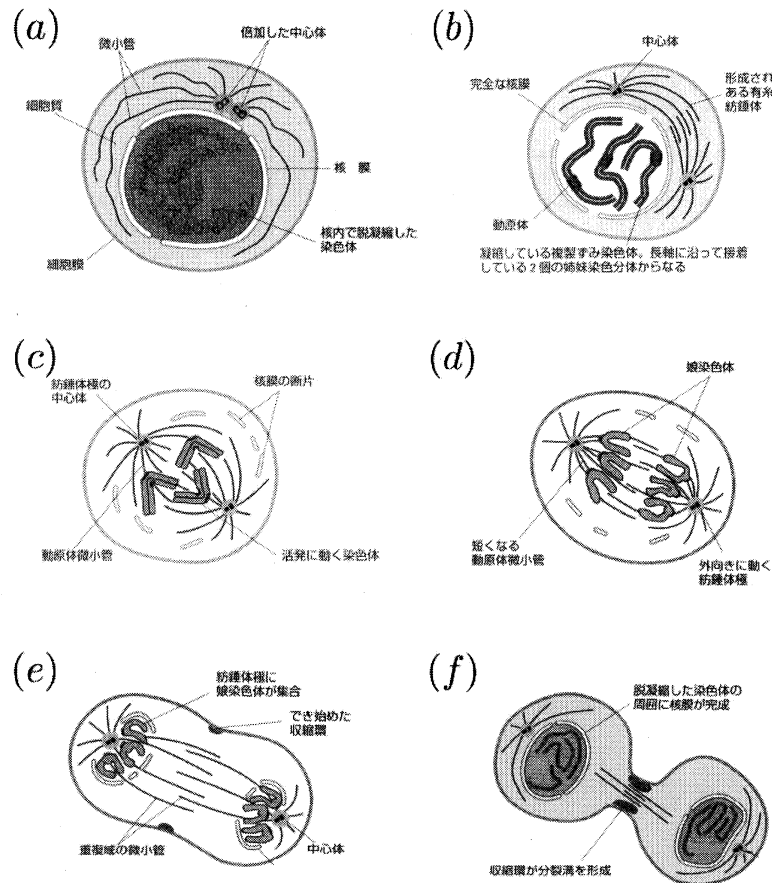


図 2: 細胞分裂の過程. (a) は間期、(b)~(f) は M 期の様子である. [8] より転載.

おりそれぞれ性質が違う. 1つ目のタンパクはプラス端に向かって働き、もう一方はマイナス端に向かって働く性質を持っている. 例えば、異なる2つの星状体から伸びた微小管のプラス端同士の間にはプラス端に向かって働く性質のモータータンパクが存在した場合、それぞれの星状体が離れる方向に力が働くのである. 同様に細胞膜上にマイナス端に向かって働く性質のモータータンパクが存在した場合、星状体は膜に引き寄せられる方向に力が働くのである.

1.3 卵割過程の調整について

卵割が連続的に起こった結果、胞胚が形成されるのであるが、もし細胞分裂が全くでたらめに起こるのであれば、このような構造物が正確に再現性を持って形作られるとは考え難い. それゆえ、卵割プロセスを調整する何らかの規則があるはずである. では、どのようなメカニズムが細胞分裂の適切なタイミングや分裂位置および分裂方向を決定するのであろうか.

まず、時間的調整に関して考えよう. 元が一つの細胞(受精卵)であったことから、特に細胞間の相互作用がなくとも、自動的に細胞内の時計が同期していることが、少なくとも数回目までの細胞分裂については期待できる. もちろん、細胞間に情報連絡があり、積極的に同期している可能性も否定はできない. いずれにせよ本研究では、時計の同期の問題は、何らかのメカニズムによって達成されているものとして受け入れることにして、卵割は周期的に同期して起こるものとし、空間的な調整の問題に焦点ををぼることにしたい.

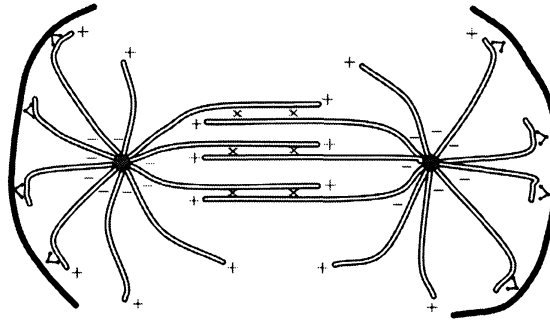


図 3: 中心体から伸びる微小管は別の中心体の微小管や細胞膜と相互作用する。その結果、同じ細胞の中にある別の中心体および細胞膜から斥力を受ける。

卵には動物極と植物極と呼ばれる特別な領域が存在している。この動物極と植物極を通る直線(以後 AV 軸と呼ぶことにする)を軸として大きく分けて2つのタイプがある。まず一方が経割であり、AV 軸を含むような細胞分裂面を生ずる。そしてもう一方が緯割であり AV 軸に対して垂直な細胞分裂面を生ずる。この経割や緯割が適切なタイミング、適切な場所で起こる事によって卵割が規則正しく進んでいくのである。図 4 にあるように、2つの中心体が AV 軸対し垂直に並んでいる場合には細胞分裂は経割となり、2極を結んだ線に対し平行に中心体が並んだ場合には細胞分裂は緯割となる。この際、2つの中心体が細胞内の偏った位置にある場合、細胞の分裂は非対称となり、偏った位置に分裂面が生じる [1]。

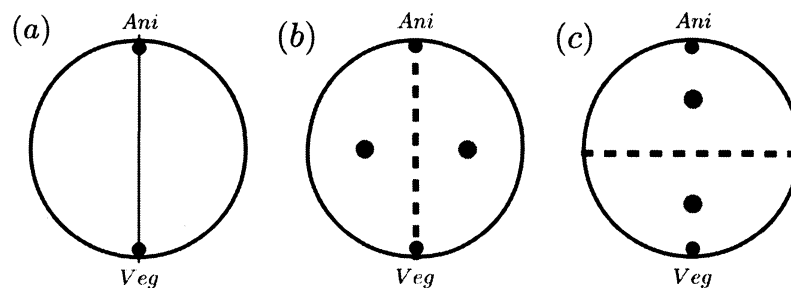


図 4: (a) AV 軸 (極細線)。 (b) 経割 (c) 緯割の模式図。赤丸は中心体の位置を表す。点線は細胞分裂の分裂溝を表す。 (b) 中心体のペアが AV 軸に対して垂直に並んだ時に経割が起こる。 (c) 中心体のペアが AV 軸に対して平行に並んだ時に緯割が起こる。

すでに述べたように、有糸核分裂や細胞質分裂は両方とも中心体のポジショニングによってコントロールされる。したがって、細胞分裂の幾何学的な側面を理解するためには、中心体の運動に注意をはらうことが必要である。だが、この中心体の移動や停止の様子が、実際にはどのようにコントロールされているかは、詳細にはわかっていないのが現状である。

卵割過程にある卵を観察する限り、卵割過程を中央集権的にコントロールする特別なセンターにあたる部位があるとは考えがたい。すなわち、各細胞は自律分散的に自分自身の分裂の位置と方向を決めているということになる。では、各々の細胞はどういう情報を分裂のコントロール信号としているのであろうか。この問いに対する答えとして、1929 年 Runnström はウニ卵に対して 2 重勾配説という説を唱えた [2]。彼はその説の中で動物極因子・植物極因子という 2 つの因子の存在を仮定した (これらの物質自体の同定がされたとの報告はない)。これらの因子はその名の通り、それぞれの極から勾配を作っているような仮想的な物質である。

そこで、我々は卵内において何らかの化学物質が極付近から生成され、卵内を拡散し勾配を作っ

ているということを仮定する。細胞分裂の方向は中心体の位置取りによって決定されているので、これらの化学物質は中心体の移動に影響を与えていると予想する事ができる。本研究では動物極・植物極からの化学物質の拡散による中心体の移動のコントロールという点に焦点を当て、生物の複雑な形状を生成する最初のステージである卵割過程が、化学物質と中心体の走性のみで再現できる事を数理モデルにより示す。

2 卵割に対する阻害実験

この章では、正常な卵割についての観察と、ある種の阻害を卵割中の卵に与えるとどうなるかという古典的な実験結果を紹介する。

正常な卵割 (図 5(a))

図 5(a) は第 4 卵割までのウニ卵の分裂過程の様子をスケッチしたものである。第 1 章でも紹介した通り、1 回目と 2 回目の分裂は経割が起こり、3 回目の分裂では緯割が起こる。4 回目の分裂では動物極側では経割が起こり 4 つの細胞から 8 つの細胞（中割球）が生じる。植物極側では植物極に近い領域で緯割が起こり 4 つの細胞から 8 つの細胞（大割球 4 つ、小割球 4 つ）が生じる。

実験 1：細胞の形状の強制的変化 (図 5(b))

1884 年 Pflüger は卵に圧力をかけて卵割の方向を変える実験を行った [5]。カエルの卵の接合体を 2 枚のガラス板の間で植物極と動物極の方向からそっと押さえると、図 5(b) に示されているように最初の 3 回の卵割がすべて経割になることを発見した。Driesch[6] と Morgan[7] もウニ胚で同様の実験を行ったが、これらいずれの場合にも、通常では緯割となるはずの第 3 卵割が経割となった。

通常の卵割では、4 細胞期における卵の細胞は植物極から動物極の方向へ長軸を持つようなラグビーボール型をしており、第 3 卵割では緯割が起きる。ところがこの卵に上下方向から圧力をかけた場合は卵の形状は縦型のラグビーボール状から潰された横長の形状へと変化し、経割をもう一度行うのである。このように、卵割面の方向の決定には細胞の形状が大きく影響すると考えられる。細胞は長軸の方向に分裂しがちであるというよく知られた経験事実は第 4 章のシミュレーションにおいて再確認される。

実験 2：特定のステージの卵割に対する阻害 (図 5(c)-(e))

卵細胞を振動させたり、低張海水につけたりする事により、あるステージの卵割を選択的に阻害する事ができる [3]。図 5(c) は第 3 卵割のみを阻害した結果である。第 4 卵割時に不等分裂が下側で起こっている。図 5(d) は第 1 卵割のみを阻害した結果である。第 2 卵割では経割、第 3 卵割では緯割、そして第 4 卵割では動物極側は経割、植物極側では不等な緯割が起こっている。図 5(e) では第 1 および第 2 卵割を阻害しているが、第 3 卵割では緯割、第 4 卵割では動物極側は経割、植物極側では不等な緯割が起こっている。これらの実験結果を見ると、特定のステージの卵割が阻害されたとしても、その後は基本的には正常な卵割と同じタイミング・方向で卵割が行われることがわかる [3]。

これらの実験結果より、細胞の形状だけでは卵割の方向は決まらないということがわかる。例えば卵が 1 細胞の時、細胞は球対称なのでどの方向に対しても等確率で細胞分裂する事が予想され

る。しかしながら、実際には常に AV 軸を含む平面で細胞が分裂する。また、第 1 卵割を阻害された図 5(d) の 2 細胞期は、正常な卵割図 5(a) の 2 細胞期とどちらも同じ形状をしているにもかかわらず、その直後の卵割の仕方は異なっている。このように細胞の形状が同じであっても、卵割開始からの時間が異なれば、分裂方向が異なるケースは多くある事がわかる。反対にいずれの実験においても、第 4 卵割では植物極側に小割球ができる不等分割が発生している。これらの事実により細胞分裂の方向を規定する時間に依存した規則が存在すると考えるのが妥当である。

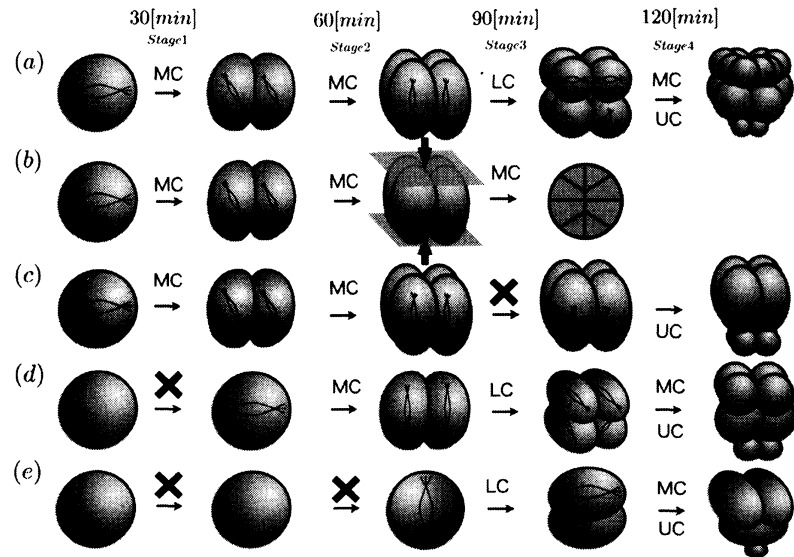


図 5: ウニ卵の分裂の実験結果のパターン図。上側には動物極があり、下側には植物極がある。図中の MC、LC そして UC はそれぞれ経割 (meridian cleavage)、緯割 (latitudinal cleavage)、不等割 (unequal cleavage) の意味である。植物極の近傍で不等割が起こると小割球が作られる。細胞分裂には分裂の段階に応じて 4 つのステージ (Stage1、Stage2、Stage3、Stage4) がある。(a) 正常な卵割。1 番目の分裂と 2 番目の分裂は経線方向に起こり、3 回目の分裂は緯線方向に起こる。4 回目の分裂は動物極側では経線方向に起こり、植物極側では緯線方向に起こる。この植物極付近の 4 つの細胞に起こる非対称的な分裂が小割球を引き起こす。(b) 強制的に細胞の形を変えた場合の実験を表す。通常では緯割が起こるべき分裂時に卵を 2 枚のガラスの板で上下 (AV 軸とガラス板が垂直な方向から) からそっと押さえて圧迫してやると経割が起こる。(c)-(e) は卵割が阻害された場合の実験である。(X マークは阻害を表す) (c) は 3 回目の卵割が阻害された場合を表す。(d) は 1 回目の卵割が阻害された場合を表す。(e) は 1 回目と 2 回目の卵割が阻害された場合を表す。たとえ卵割が阻害されたとしても、まるで阻害がなかった場合のように経割や緯割が発生し、小割球の生成が起こる。

3 数理モデル

本論文では、第1章で述べたように、細胞質中に分布する化学物質の濃度に着目してモデリングを行う。これらの化学物質の濃度が中心体の移動に走性のように影響を与えるとしてモデル方程式を作る。実際、ある種のタンパク質は微小管の成長(分解)を促進することが知られている(微小管モータータンパク、微小管結合タンパクなどがそうである)。そのタンパクによって微小管の成長が促進された場所では、中心体に対する反発力が強くなり、あたかも中心体がこの化学物質に対し忌避性を示すように見えるだろう。また反対に、そのタンパクによって微小管の分解が促進された場合、中心体はその場所に向かって誘引されるように見えるはずである。このような性質を、化学物質に対する中心体の走性とみなしてモデル方程式を構成する。

3.1 細胞の形状と化学物質の分布

卵割の初期過程においては、細胞はほとんど成長せずに分裂を繰り返す。そこで我々のモデルでは、分裂と分裂の間の時期にある細胞の形状を、固定した楕円の方程式によって以下のように近似し、あらかじめ与えることとし、以下では常に楕円領域の上端に動物極が、下端に植物極が位置しているとする。

$$\frac{(x - g_x)^2}{a^2} + \frac{(y - g_y)^2}{b^2} = 1 \quad (1)$$

ここで我々は以下の仮定をおく。動物極からは忌避性の化学物質が、植物極からは誘引性の化学物質が生成され、これらの化学物質は細胞質の中を拡散する。忌避性の化学物質濃度を C_r 、誘引性の化学物質濃度を C_a とすると、これらの従う方程式は次のようになる。

$$\frac{\partial C_r}{\partial t} = D_r \nabla^2 C_r + \kappa_r(t) \delta(\vec{r} - \vec{r}_{ani}) \quad (2)$$

$$\frac{\partial C_a}{\partial t} = D_a \nabla^2 C_a + \kappa_a(t) \delta(\vec{r} - \vec{r}_{veg}) \quad (3)$$

D_r, D_a はそれぞれ忌避性化学物質と誘引性化学物質の拡散定数、また $\kappa_r(t), \kappa_a(t)$ はそれぞれの化学物質の生成速度である。 δ は空間変数に関するデルタ関数であり、 $\vec{r}_{ani}, \vec{r}_{veg}$ はそれぞれ動物極と植物極の位置ベクトルを表す。

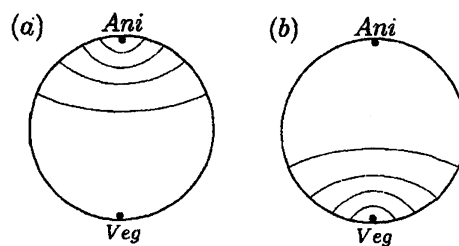


図 6: 細胞の形状と化学物質の分布. Ani は動物極を Veg は植物極を表している. (a) 動物極から生成された忌避性化学物質の濃度分布 (b) 植物極から生成された誘引性化学物質の濃度分布

3.2 中心体に働く力と中心体の運動

我々のモデルにおいて、中心体には (i) もう一つの中心体から働く力、(ii) 細胞膜から働く力、(iii) 化学物質の濃度勾配による力の3通りの力が働くと考ええる。

(i) 中心体同士の斥力: $\vec{f}_i^c$

細胞内では2つの中心体はそれぞれ微小管を伸ばして星状体を構成し、お互いを押しあうことにより反発的な相互作用をしている。細胞のサイズを考えたとき微小管は十分に硬いと考えられる。そこで我々は単純化のために中心体間に働く斥力の強さは一定とした。2つの中心体の位置ベクトルを $\vec{r}_1, \vec{r}_2$ とすると次式を得る。

$$\vec{f}_1^c = P_c \frac{\vec{r}_1 - \vec{r}_2}{|\vec{r}_1 - \vec{r}_2|}, \quad \vec{f}_2^c = P_c \frac{\vec{r}_2 - \vec{r}_1}{|\vec{r}_2 - \vec{r}_1|} \quad (4)$$

(ii) 中心体が細胞膜から受ける斥力: $\vec{f}_i^m$

これは星状体が細胞膜を押す反作用によって、中心体が細胞膜から受ける力である。細胞膜の形状は式(1)で定義される固定されるように楕円であるとしていた。ここでは第*i*番目の中心体は次式で与えられるような斥力を受けているとする。

$$\vec{f}_i^m = -\nabla \phi(\vec{r}_i) \quad (i = 1, 2) \quad (5)$$

ここで ϕ は細胞膜によって生成されるポテンシャルである。ここでは次のようなものを考える。

$$\phi(x, y) = P_m \left(1 - \frac{(x - g_x)^2}{a^2} - \frac{(y - g_y)^2}{b^2} \right)^{-1} \quad (6)$$

このようにおく事により中心体は有限の力では細胞外に出る事は無く、中心部分が安定である事が簡単な計算でわかるだろう。 $\vec{f}_i^c$ 同様、この関数形の定量的な妥当性を証明する実験事実はないが、斥力を与える広い範囲のポテンシャルで同様な結果が得られる。

(iii) 中心体が化学物質の濃度勾配によって受ける力: $\vec{f}_i^t$

第1章で述べたように、卵割の幾何学は中心体のポジショニングによって決定される。また発生のプロセスにおいて、モルフォゲンの分布がパターン形成をコントロールしていることから、我々は化学物質の勾配によって中心体の動きが制御されていると仮定した。忌避性の化学物質に対しては負の走性を、誘引性の化学物質に対しては正の走性を持つと考え、ここではそれぞれの化学物質の濃度勾配に比例した力の合力を受けると仮定した。

$$\vec{f}_i^t = -P_r \nabla C_r(\vec{r}_i) + P_a \nabla C_a(\vec{r}_i)$$

この仮定を置くことで、この力はポテンシャルから来ている力であると解釈できる。すなわち

$$\vec{f}_i^t = -\nabla \psi(\vec{r}_i) \quad (i = 1, 2) \quad (7)$$

ここでポテンシャル ψ は次のように定義される。

$$\psi = P_r C_r - P_a C_a \quad (8)$$

これらの力 (図 7) が働いた結果、それぞれの中心体は次の方程式に従って運動するものとする.

$$\alpha \frac{d\vec{r}_i}{dt} = \vec{f}_i^c + \vec{f}_i^m + \vec{f}_i^t \quad (i = 1, 2) \quad (9)$$

ここで α は中心体が細胞質の中を移動する際に受ける粘性抵抗に関する定数である.

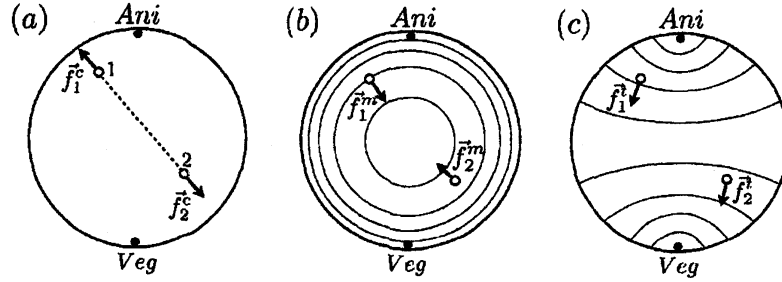


図 7: 中心体に働く 3 通りの力. (a) 中心体間に働く斥力. (b) 中心体が細胞膜から受ける斥力 (細線は式 (6) で与えられるポテンシャル ϕ の等高線). (c) 中心体が化学物質の勾配によって受ける力. 忌避物質のより薄い方へ、誘引物質のより濃い方へ働く. (細線は化学物質によるポテンシャル $\psi = P_r C_r - P_a C_a$ の等高線).

4 シミュレーション

本章では 3 章で述べたモデル方程式のシミュレーションの結果を紹介する. 中心体の運動のシミュレーションを行う際には、化学物質の濃度変化をあらかじめ計算しておき、対応する卵割が開始する時刻における濃度分布を固定して用いる. 2 つの中心体の初期位置は、細胞の中心からランダムに微小な距離ずらした位置にとる. また、(2), (3) 式の初期値は $C_r = C_a = 0$ とする. なおシミュレーションに用いたパラメータは以下を基本とし、変更がある場合のみシミュレーションごとに表記する.

$$\begin{aligned} P_c/\alpha &= 2.0 \times 10^{-3} [\text{m min}^{-1}], \quad P_m/\alpha = 1.1 \times 10^{-7} [\text{m}^2 \text{min}^{-1}], \\ P_r/\alpha &= P_a/\alpha = 2.2 \times 10^{-6} [\text{m}^2 \text{min}^{-2} \text{N}_0^{-1}], \\ D_r &= 1.1 \times 10^{-11} [\text{m}^2 \text{min}^{-1}], \quad D_a = 1.1 \times 10^{-11} [\text{m}^2 \text{min}^{-1}], \\ L &= 1.0 \times 10^{-4} [\text{m}], \quad (g_x, g_y) = (0, 0) [\text{m}], \quad a = b = 4.0 \times 10^{-5} [\text{m}], \\ \vec{r}_{ani} &= (0, 4.0 \times 10^{-5}) [\text{m}], \quad \vec{r}_{veg} = (0, -4.0 \times 10^{-5}) [\text{m}] \end{aligned}$$

ここで N_0 は化学物質の濃度の単位である. κ_a 並びに κ_r の次元は $[N_0 \text{min}^{-1}]$ であり、時間 t の次元は $[\text{min}]$ である. また L は計算領域 (正方形) のサイズである. この値はウニ卵の大きさ ($\approx 100 [\mu\text{m}]$) とほぼ等しいものとした.

4.1 準備的なシミュレーション

この節ではまず、化学物質の影響がない場合のシミュレーションを行い ($\vec{f}_i^t = \vec{0}$)、細胞の形状が中心体の運動に及ぼす影響を見る. 次いで、2 通りの化学物質のうち一方のみが存在する場合、中心体がどのように運動するかを調べる.

(1) 円形領域で化学物質が存在しない場合

図 8 に示されるように、中心体同士の斥力と細胞膜からの斥力のバランスにより、中心体はある程度の距離をとった位置で静止する。細胞中心回りの回転対称性により、最終的な中心体の位置や細胞分裂の方向は一意に定まらず、初期値に依存してランダムな方向をとる。

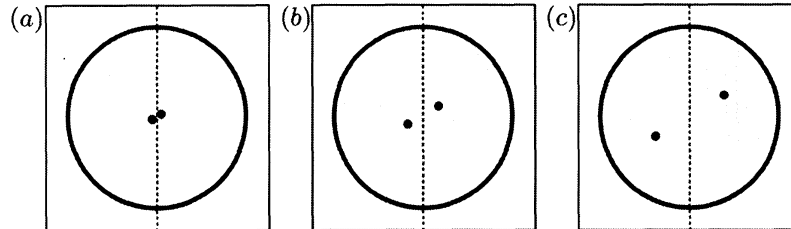


図 8: 細胞形状は円形であり、化学物質は存在しない ($\kappa_r(t) \equiv 0$, $\kappa_a(t) \equiv 0$): (a) は初期状態、(b) は途中経過、(c) は最終状態。

(2) 楕円領域で化学物質が存在しない場合

図 9 は細胞形状を楕円形に変更した場合の結果である。中心体同士の斥力と細胞膜からの斥力により、中心体は楕円の長軸上で、ある程度の距離をとった位置に静止する。これにより短軸が細胞分裂面になり、長軸方向に細胞分裂が起こる。

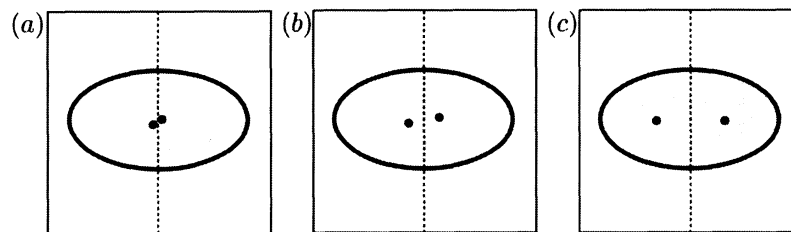


図 9: 細胞形状は楕円形であり ($a = 4.0 \times 10^{-5}$, $b = 2.3 \times 10^{-5}$)、化学物質は存在しない ($\kappa_r(t) \equiv 0$, $\kappa_a(t) \equiv 0$): (a) は初期状態、(b) は途中経過、(c) は最終状態。

(3) 円形領域で忌避性の化学物質のみが存在する場合

忌避性を持つ化学物質のみが動物極から拡散しているという仮定のもとで計算を行う。 $\kappa_r(t) \equiv 0.02$, $\kappa_a(t) \equiv 0$ で計算した $t = 60$ の時の化学物質濃度を用いる。この場合、図 10 に示されるように、最終的に中心体は AV 軸に対して垂直に並び、経割が起こる。この時、分裂後の細胞の大きさは 2 つとも等しくなる。経割が起きるためには AV 軸に沿う ψ のグラフが *convex* ことが本質的なことである。経割が起こるメカニズムについては 5.1 節参照のこと。

(4) 円形領域で誘引性の化学物質のみが存在する場合

誘引性を持つ化学物質のみが植物極から拡散しているという仮定のもとで計算を行う。 $\kappa_r(t) \equiv 0$, $\kappa_a(t) \equiv 0.1$ で計算した $t = 60$ の時の化学物質濃度を用いる。この場合、図 11 に示されるように、最終的に中心体は AV 軸上に並び、緯割が起こる。中心体同士の反発力 $\vec{f}_i^c$ や細胞膜からの反発力 $\vec{f}_i^m$ に対して走性項の影響力 $\vec{f}_i^f$ が大きい場合、中心体は植物極側に強く引き込まれる。この時、中心体の垂直 2 等分線で細胞分裂が起きたとすると、植物極側の細胞の方が小さくなる不等分割が発生する。緯割が起きるためには AV 軸に沿う ψ のグラフが *concave* ことが本質的なことである。緯割が起こるメカニズムについては 5.1 節参照のこと。

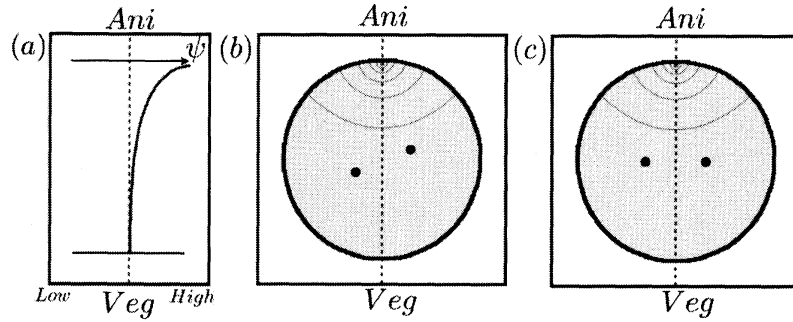


図 10: 動物極からの忌避物質の生成のみがある場合 ($\kappa_r(t) \equiv 0.02, \kappa_a(t) \equiv 0$). 化学物質の濃度分布は $t = 60$ のものを使う. (a) AV 軸に沿う ψ のグラフ、convex である. 点線は AV 軸に対応している. また右方向が ψ が正の方向となっている. このパネル (a) のようなグラフの設定は以降の同様な図に対して適用されている. (b) は途中経過、(c) は最終状態.

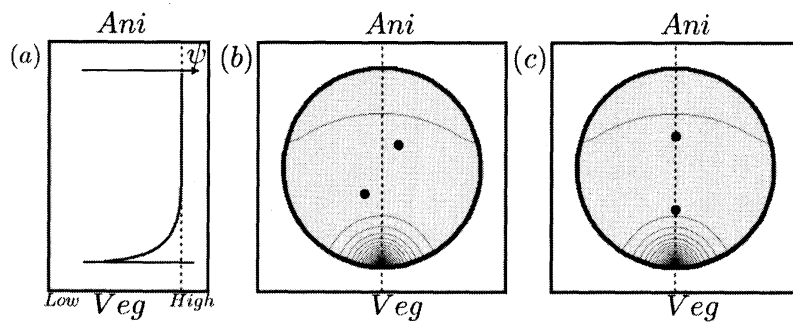


図 11: 植物極からの誘引物質の生成のみがある場合 ($\kappa_r(t) \equiv 0, \kappa_a(t) \equiv 0.1$). 化学物質の濃度分布は $t = 60$ のものを使う. (a) AV 軸に沿う ψ のグラフ、concave である. (b) は途中経過、(c) は最終状態.

4.2 正常卵割のシミュレーション

本節では正常な卵割に対応したシミュレーション結果を紹介する. 拡散性を持つ忌避化学物質が動物極において生成されており、同じく拡散性の誘引化学物質が植物極から生成されると仮定した. 忌避物質の生成は最初から起こっており、誘引物質の生成は $t = 75$ から起こっているとした. すなわち

$$\kappa_r(t) \equiv 0.02$$

$$\kappa_a(t) = \begin{cases} 0 & 0 \leq t < 75 \\ 0.1 & 75 \leq t \end{cases}$$

我々はまずはじめに、式 (2) と (3)、およびこの κ_r と κ_a を用い方程式を解くことにより、 $t = 30, 60, 90, 120$ における C_r と C_a の分布を得た. 以降の結果はこの得られた分布を使い、式 (9) をシミュレーションしたことによるものである. 時間 $t = 30, 60, 90, 120$ はそれぞれ (1) 第 1 卵割期、(2) 第 2 卵割期、(3) 第 3 卵割期、(4) 第 4 卵割期に対応している. パラメタ κ_r や κ_a を上記のように設定した場合、早いステージでは忌避物質の方が、遅いステージでは誘引物質の方が支配的になる. シミュレーションの結果は図 12 にまとめてある. パネル (a) および (d) はそれぞれ実験での分裂直前および分裂直後の卵の概形を表す図である. パネル (b) は AV 軸に沿うポテンシャル ψ のプロファイルを表している. またパネル (c) はシミュレーションされたそれぞれの卵割のステージにおける中心体の最終位置である.

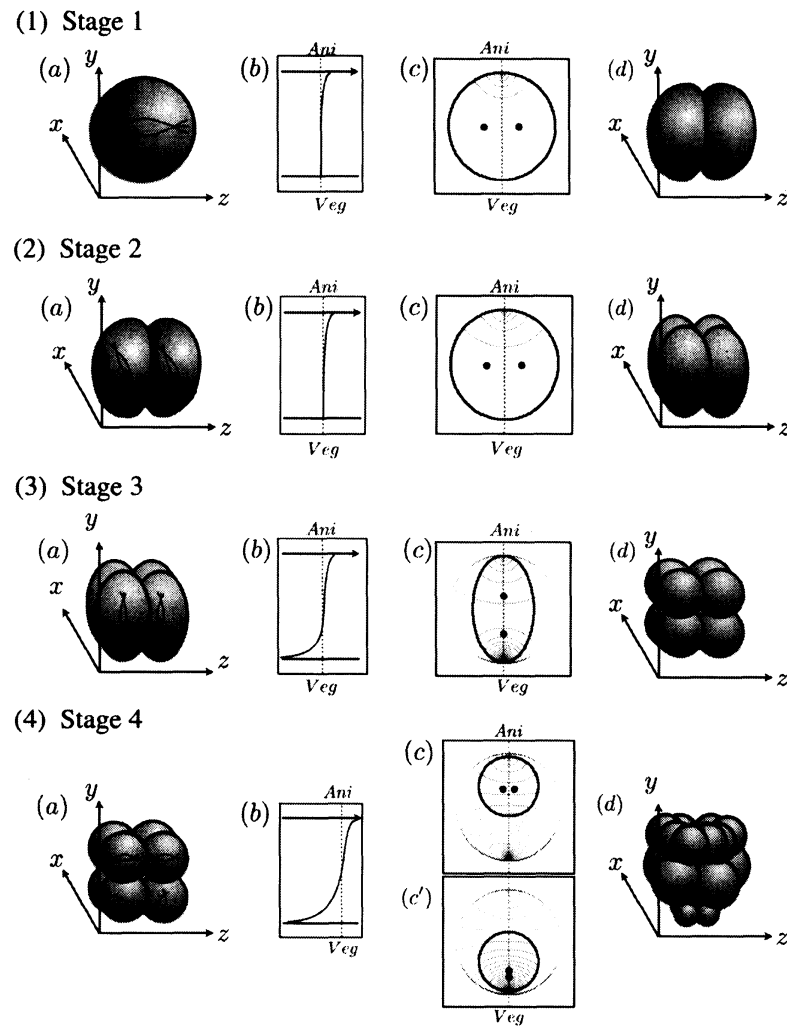


図 12: 正常な卵割の数値計算結果. パネル (a) は実験での卵割直前の卵の概形. パネル (d) は実験での卵割直後の卵の概形. パネル (b) は AV 軸に沿う ψ のプロファイルを表す. パネル (c) はシミュレーションの最終状態. それぞれのパネルにおいて, y 軸は AV 軸と平行となるようにセットされている. (1) Stage 1: $t = 30, (g_x, g_y) = (0, 0), a = b = 4.0 \times 10^{-5}$ (2) Stage 2: $t = 60, (g_x, g_y) = (0, 0), a = b = 4.0 \times 10^{-5}$ (3) Stage 3: $t = 90, (g_x, g_y) = (0, 0), a = 2.3 \times 10^{-5}, b = 4.0 \times 10^{-5}$ (4) Stage 4: $t = 120, (g_x, g_y) = (0, \pm 1.5 \times 10^{-5}), a = b = 2.3 \times 10^{-5}$

(1) 第1卵割期 (図 12 (1))

この時期、実際の卵割において分裂はパネル (a) や (d) が示すように経割が起こる。最初の卵割の直前で、卵は球状でありかつ AV 軸に対して回転対称 (y 軸に平行) である。そこで我々は yz 平面上でシミュレーションを行った。シミュレーションの領域は yz 平面による交差面が円であることから円領域とした。パネル (b) で示されるように動物極の周りには忌避物質のみが豊富にあり誘引物質は存在していない。パネル (c) は中心体が最終的に水平方向に並ぶことを示している。このように実験結果と同様に経割が得られている。

(2) 第2卵割期 (図 12 (2))

この時期、実際の卵割において分裂はパネル (a) や (d) が示すように経割が起こる。第2卵割の直前の卵の形状は2つの主軸 (x , y 方向) と1つの複軸 (z 方向) を持つ。4.1 章で述べたように、中心体は主軸に比べて短い複軸である z 軸の方向にそって並ぶことは起こりにくく、それゆえ卵割が z 軸の方向に起こらないものと予想することができる。そこで、シミュレーションは xy 平面上にて行った。シミュレーション領域は $z = \text{constant}$ の交差面が円であることから円領域とした。このステージの卵内にはパネル (b) で示されるように、誘引物質の生成は始まっておらず、忌避物質のみが存在している。パネル (c) は中心体が最終的に水平方向に並ぶことを示している。このように第2卵割においても、実験結果と同様に経割を得ることができる。

(3) 第3卵割期 (図 12 (3))

この時期、実際の卵割において分裂はパネル (a) や (d) が示すように緯割が起こる。第3卵割の直前の卵の形状は垂直方向に長いラグビーボールのような形である。つまり主軸が y 方向、複軸が x および z 方向であるような形状である。そこで、 xy 平面上の縦に長い楕円領域でシミュレーションを行った。パネル (b) で示されるようにこの時期、誘引物質の生成は始まっており、忌避物質と誘引物質の両方が細胞内に分布している。パネル (c) は中心体が最終的に垂直方向に並ぶことを示している。このように第3卵割においても、実験結果と同様に緯割を得ることができる。

(4) 第4卵割期 (図 12 (4))

実際の第3卵割においては、パネル (a) や (d) が示すように、上半球の4細胞では経割が起こり、下半球の4細胞では緯割が起こる。さらに下半球では不等割が起こることによって小割球になる細胞が生じる。この時期、細胞の形状はだいたい球状であり、 y 方向に化学物質の勾配が存在しているので xy 平面の円領域上でシミュレーションを行った。ただし、上側の細胞と下側の細胞は分けて計算した。パネル (b) で示されるように下側の細胞では AV 軸に沿う ψ のグラフは *concave* (上に凸) であり一方、上側の細胞では AV 軸に沿う ψ のグラフは *convex* (下に凸) である。パネル (c) は上側の細胞に対するシミュレーションの最終状態を示してある。中心体が水平方向に並ぶことによって経割が選択されていることがわかる。パネル (c') は下側の細胞に対するシミュレーションの最終状態を示してある。中心体が垂直方向に並ぶことによって緯割が選択されていることがわかる。さらにいえば、誘引物質の作用によって2つの中心体の下側の方へ強く引き付けられていることでより下側の細胞では小割球ができることもシミュレートされている。

これらの結果は、このモデルが単に実験結果と同様に経割と緯割を引き起こすことだけではなく、図 5 (d) で示唆される小さな割球まで再現できることを示している。

4.3 阻害実験のシミュレーション

ここでは前節と同じく特定の時間の化学物質の濃度を用いて、正常な卵割とは細胞の形状だけ異なる条件でシミュレーションを行う。図 13 は阻害実験のシミュレーション結果である。

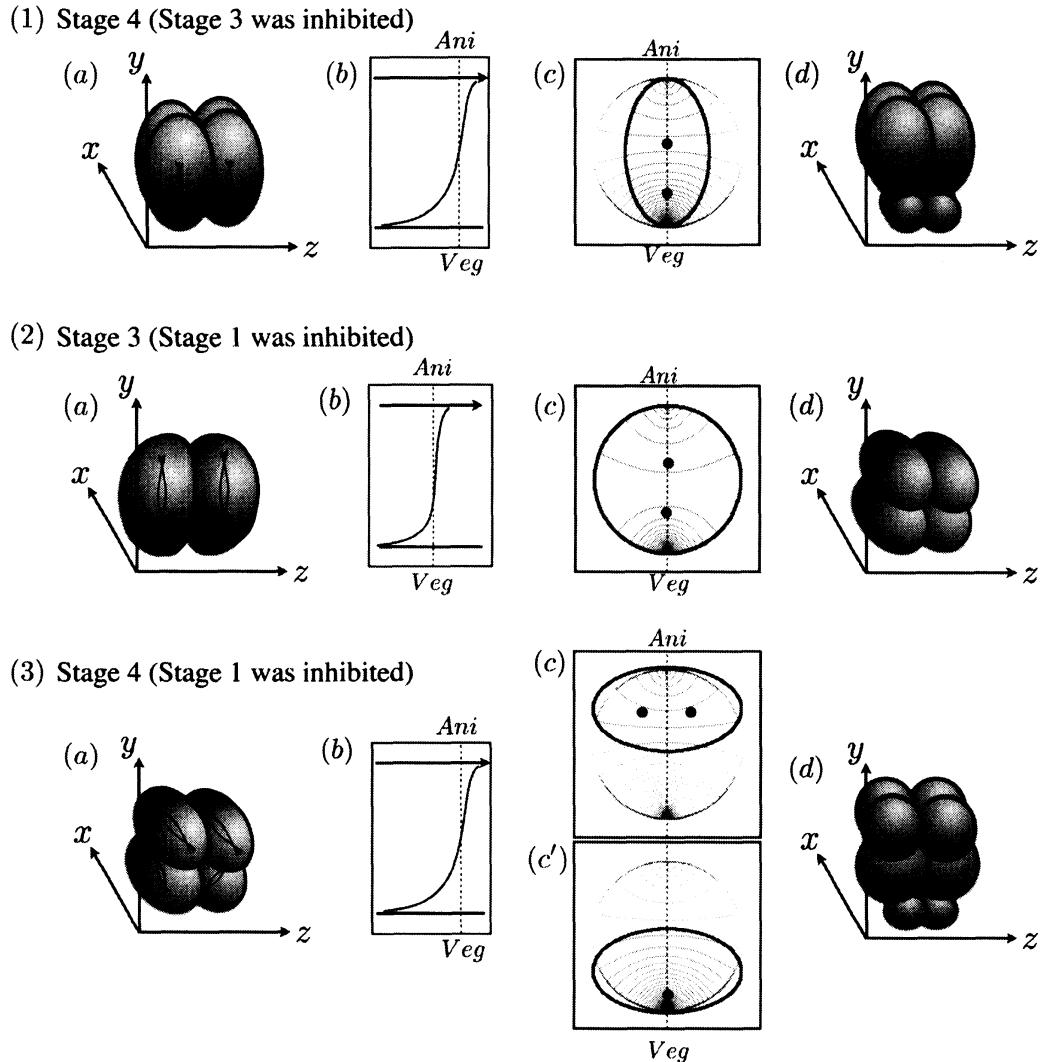


図 13: 卵割の阻害実験の数値計算結果. (1) では第 3 卵割が, (2), (3) では第 1 卵割が阻害された実験である. パネル (a) は実験での卵割直前の概略図. パネル (d) は実験での卵割直後の概略図. パネル (b) は AV 軸に沿う ψ のプロファイルを表す. パネル (c) はシミュレーションの最終状態を表す. それぞれのパネルにおいて y 軸は AV 軸と平行になるようにとられている. (1) Stage 4: $t = 120$, $(g_x, g_y) = (0, 0)$, $a = 2.3 \times 10^{-5}$, $b = 4.0 \times 10^{-5}$ (2) Stage 3: $t = 90$, $(g_x, g_y) = (0, 0)$, $a = b = 4.0 \times 10^{-5}$ (3) Stage 4: $t = 120$, $(g_x, g_y) = (0, \pm 1.88 \times 10^{-5})$, $a = 4.0 \times 10^{-5}$, $b = 2.3 \times 10^{-5}$

(1) 第 3 卵割が阻害された実験の第 4 卵割期 (図 13 (1))

パネル (a) および (d) が示すように、実際の実験では緯割が発生し、植物極側の細胞が小割球となる不等分割が発生する。通常の卵割と同様に第 3 卵割期の初期では、卵の形状は垂直方向に長いラグビーボール (すなわち y 方向に主軸、 x, y 方向に複軸をもつ) 状の形をしている。そこでシミュレーションは xy 平面上の楕円領域で行った。化学物質の分布は $t = 120$ を使用した。パネル (b) は $convex$ の領域よりも $concave$ の領域の方が支配的であること示す。それゆえ緯割が選択される。パ

ネル(c)はシミュレーションの結果を表す. 通常卵割と同様に緯割が発生するが均等に分かれるわけではない. 図5(c)で示されるように、植物極の近傍で不等割が起こるため小割球が形成れるが、シミュレーションでもそのような結果が再現されている.

(2) 第1卵割が阻害された実験の第3卵割期 (図13(2))

実際の卵割において分裂はパネル(a)や(d)が示すように、緯割が発生する. 細胞の形状は通常の卵割の第2卵割期と同様であるため、シミュレーションは xy 平面上の円領域で行った. 化学物質の分布は時間 $t = 90$ の時のものを使用した. パネル(b)が示すように、図12(2)のそれとは違う形状をしている. パネル(c)は中心体が最終的に垂直方向に並ぶことを示している. それゆえ緯割が選択される. 細胞の形状は通常卵割の第2卵割期と同じであるにもかかわらず、化学物質の分布が異なるために緯割が発生している. これは実験事実と合致する.

(3) 第1卵割が阻害された実験の第4卵割期 (図13(3))

実際の卵割において分裂はパネル(a)や(d)が示すように、上側の2つの細胞は経割が発生し、下側の2つの細胞は緯割が発生する. 細胞の形状は水平方向に長いラグビーボールのような形状(すなわち x 方向に主軸、 y, z 方向に複軸をもつ)をしている. また化学物質の勾配は y 方向に存在している. それぞれ上側、下側の両方で xy 平面上の楕円領域(この場合は横に長い楕円であるが)においてシミュレーションを行った. パネル(b)で示されるように、上側の細胞ではAV軸に沿う ψ のグラフはconvexであるが、下側の細胞ではAV軸に沿う ψ のグラフはconcaveである. パネル(c)は上側のシミュレーションの最終状態を示している. 経割が選択されている. 細胞の形状および走性の両方とも経割が引き起こされるような全く自然な様相である. パネル(c')は下側のシミュレーションの最終状態を示している. 中心体は垂直方向に並びかつ誘引物質の効果により下側の方へ引き込まれている. このようにしてかなり下のほうに小割球ができるのである. 下側では経割を引き起こすような細胞の形状と緯割を引き起こすような走性との競合が起きている. この場合では後者のほうが支配的である.

第1・2卵割を阻害した図5(e)の実験の第3・4卵割については植物極-動物極を結ぶ軸に対して回転対象であるので、1次元落として考えると第一卵割を阻害した図5(d)の数値計算と同じになるのでここでは省略する. 以上から、本モデルは細胞分裂の阻害実験の結果も再現する事ができているといえよう.

5 考察

5.1 凸性と経割・緯割

前章のシミュレーションでは、卵割の過程を動植物極で生成される拡散性の化学物質とそれらの化学物質に対する中心体の走性で再現する事ができた. 本章ではそのメカニズムについて数理的考察を加えたい. すでに示したように、円形の細胞形状の場合、中心体同士の反発力 $\vec{f}_i^c$ と細胞膜からの反発力 $\vec{f}_i^m$ だけでは、中心体の位置は一意に定まらない. しかしながら化学物質の分布があれば、それに従うように経割や緯割が安定して起こるのである. 中心体は変数 $\psi = P_r C_r - P_a C_a$ が作るポテンシャルの走性により力 $\vec{f}_i^t = -\nabla\psi$ を受け移動するのである.

数学的には中心体の位置の決定は化学物質の走性のポテンシャル ψ の値の凸性と関係がある. 図14は中心体のもつエネルギーと凸性との関係の模式図である. パネル(a)は動物極から忌避物質の生成のみがある場合の化学物質によるポテンシャル ψ の模式図. パネル(c)で示されるようにconvexである. 緑と赤のマーカーはそれぞれ緯割・経割の場合の中心体のポテンシャル. パネル(e)

は中心体の組 (赤) のポテンシャルの和の方が緯割 (緑) のそれより低いことを示している. この為、パネル 4.1 (3) のシミュレーションが示すように、より安定な経割 (赤) が選択される. パネル (b) は植物極から誘引物質の生成のみがある場合のポテンシャル ψ の模式図. パネル (d) で示されるように *concave* である. パネル (f) は中心体の組 (緑) のポテンシャルの和の方が緯割 (赤) のそれより低いことを示している. この為、4.1 (4) のシミュレーションが示すように、緯割 (緑) が選択される. 特にこの時、化学物質の影響が強い場合、植物極に近い中心体が植物極側に強く引き寄せられる為、不等分割が発生し植物極側の細胞が小割球となる.

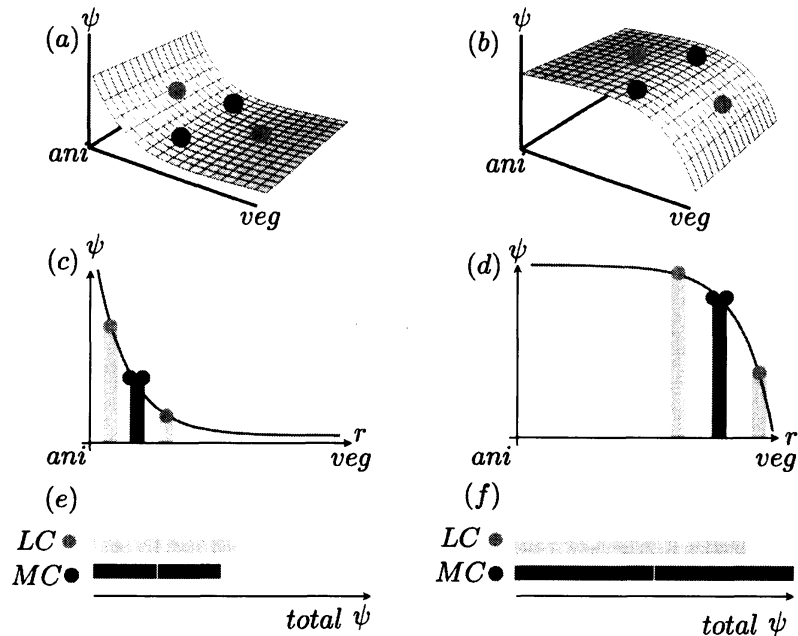


図 14: 化学物質によって作られるポテンシャルの図. (a) 動物極から忌避物質のみが拡散している場合の ψ のプロファイル. (b) 植物極から誘引物質のみが拡散している場合の ψ のプロファイル. (c) 横から見た (a) のグラフ. (d) 横から見た (b) のグラフ. (e) パネル (c) に対応する経割、緯割のポテンシャルの合計を比較したもの. 経割の方がエネルギー的に安定である. (f) パネル (d) に対応する経割、緯割のポテンシャルの合計を比較したもの. 緯割の方がエネルギー的に安定である. また、植物極付近の中心体が強く引き込まれるため、不等分割が発生する場合がある.

以上の議論から、忌避物質と誘引物質の両方が存在する下では、分裂方向の選択には AV 軸に沿うポテンシャル ψ の凸性が重要であるということが結論づけられる.

5.2 誘引物質と忌避物質の条件

ここではシミュレーションから中心体の移動に影響を与える誘引物質と忌避物質の候補として必要な性質を考える. 前節から経割は忌避物質の影響が、緯割は誘引物質の影響が強い事が重要であった. 実験の中で示されるように図 5 において正常な細胞の第 2 卵割期までは経割が起きている. この事から誘引物質は忌避物質に比べて拡散係数が低い、もしくは遅れて生成されている可能性が高い. 我々はどちらのケースについても数値シミュレーションを行ったが、どちらのケースを選択しても定性的な結果は変わらなかった. 本研究におけるシミュレーションは植物極からの生成が遅れて生成される場合のみを載せている. また、阻害実験 図 5 (d), (e) から示されるように、第 3 卵割期では緯割が発生している事から走性の効果については植物極から発生する誘引物質の方が強い事が予想される. 特に第 4 卵割になると植物極からの誘引物質の効果は強く、割球の大きさに不均一性が出ることもある、また阻害実験 図 5 (d), (e) で示されるように、第 4 卵割期のように横長の細胞であっても緯割が起きることもある.

そして中心体の移動には微小管の存在が深く関係している為、微小管の分解・成長に関係する化学物質が結果的に中心体への走性を示す可能性も大いにある。これらの点に気を配りながら走性を示す化学物質を特定していく必要がある。

またシミュレーションでのパラメータの選定についてであるが、凸性が十分に担保されるようであればある程度、どのようなものでもよく、発生の過程の堅牢性は保たれている。

6 まとめ

本研究では植物極・動物極から化学物質が生成・拡散し、中心体がこれらの化学物質に走性を示すというモデル方程式を作り、数値計算を行った。その結果、ウニの第4卵割までの経割・緯割の再現だけでなく、小割球の生成や細胞分裂を阻害する実験の結果まで再現する事ができた。現在、実際の卵割により近い3次元モデルや、細胞膜の形成も含めたモデルを開発中である。また、他のタイプの卵割のモデルも製作する予定であり、これらも研究の結果がまとまり次第、逐一報告する予定である。もちろん、このような凸性に着目した方針以外にも細胞分裂の形状を再現する方法は存在する可能性は否定できない。しかし、これだけ簡単なメカニズムで正常な卵割のみならず、阻害実験などの特殊な細胞分裂も再現した結果はない。この事から本モデルの妥当性はかなり高いものと我々は考えている。生物の形態形成に興味を持つ多くの研究者は、今まではモルフォゲンなどの物質の絶対量の分布やその勾配のみに着目していたが、我々は凸性にこそ着目すべきであると新たに提案したい。

7 講究録としての戯言

らせん卵割という非常に面白い卵割がある。卵はそのAV軸に平行あるいは垂直な分裂をせず、斜めに傾いた卵割をする。それゆえ、生じる割球が‘らせん’配列となるのである。この卵割に関しての画期的なアイデアがあり現在研究中である。

割球の表現には野々村 真規子氏の開発した細胞分裂モデルが非常によく合うことがわかっていて、今後、細胞の表現にはこのモデルを使用する予定である。

参考文献

- [1] Rappaport, R., 1961. Experiments concerning the cleavage stimulus in sand dollar eggs. *Journal of Experimental Zoology*. 148, 81-89.
- [2] Runnström, J., 1929. Über Selbstdifferenzierung und Induktion bei dem Seeigelkeim. *Wilhelm Roux Arch. Entwicklungsmech. Org.* 117, 123-145.
- [3] Hörstadius, S., 1939. The mechanics of sea urchin development, studied by operative methods. *Biol. Rev.* 14, 132-179.
- [4] Scott, F.G., 1988. *Developmental Biology*, Second Edition. 84-86. Sinauer Associates, Inc.
- [5] Pflüger, E., 1884. Ueber die Einwirkung der Schwerkraft und anderer Bedingungen auf die Richtung der Zelltheilung. *Arch. Ges. Physiol.* 34, 607-616.
- [6] Driesch, H., 1893. Zur verlagerung der blastomeren des echinideneies. *Anat. Anz.* 8, 348-357.
- [7] Morgan, T.H., 1927. *Experimental Embryology*. Columbia University Press, New York.

- [8] Bruce, A., et al. 2004. MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL (FORTH EDITION). 株式会社
ニュートンプレス.