

● 中村 友紀 特定准教授 *Tomonori NAKAMURA (Associate Professor)*

研究課題：カニクイザルを用いた着床直後の胚発生メカニズム解明
(Exploring mechanisms of primate development just after implantation using Non-human primate.)

専門分野：霊長類発生生物学 (Developmental biology, Primatology)

受入先部局：高等研究院 ヒト生物学高等研究拠点 (WPI-ASHBi)
(Institute for the Advanced Study of Human Biology (ASHBi))

前職の機関名：京都大学大学院 医学研究科 (Graduate School of Medicine, Kyoto University)



発生学とは、1つの受精卵（胚）から生物個体がどのようなメカニズムで構築されていくかを探求する学問です。ヒト胚発生の中でも着床直後というのはダイナミックな形態変化を伴いながら、均質な多能性細胞群 Epiblast から多様性を持つ三胚葉分化細胞を初めて生み出す時期です。このことからヒト着床直後は、受精の「生命の誕生」に対し「“個”であるヒトの起始」ともとえられる極めて根源的な時期です。にも関わらずいくつかの決定的な阻害要因により、我々の知識は100年ほど前の形態学的な知見に止まったまま。つまり我々はヒトの起始メカニズムを知りません。私はこれまで最もヒトに近縁かつ実験可能な非ヒト霊長類（non-human primate; NHP）であるカニクイザルをモデルに、マウスを用いた研究では知りえない様々な霊長類特異的な発生現象を観察してきました。白眉の5年間では、カニクイザルを用いたこれまでの研究を進展させ、着床直後の複雑かつダイナミックな変化を伴う胚発生メカニズムの包括的な理解を目指すとともに、更なる霊長類着床後研究のための実験的基盤の構築を目指します。そして最終的にはヒトの起始メカニズムの理解を目指します。

我々ヒトは、ヒトの起始メカニズムを知らない

ヒト胚は受精後約一週間で着床します。その直前に形成される胚盤胞までに胚は3つの細胞種を発生させますが、うち2つは主に卵黄嚢膜や胎盤といった胚体外組織に寄与するのに対し、残りの一つ Epiblast (EPI) は大人の体ほぼ全ての細胞に寄与します。そして胚は着床とともにダイナミックな形態変化を起こし、続けて原腸陥入 Gastrulation という EPI から三胚葉（内／

Developmental biology is a field that explores the mechanism by which an individual organism is developed from a single fertilized egg (embryo). The stage immediately after implantation in humans is the period marking the beginning of gastrulation, the process by which the three germ layers (endoderm, mesoderm and ectoderm) are differentiated via dynamic morphological changes. This is the first event which generates a diversity of cells from a homogeneous pluripotent cell group, the epiblast. As such, this is an extremely fundamental period that can be regarded as the “origin of the individual”, as opposed to the “origin of life” initiated by fertilization. Nevertheless, due to some decisive obstacles, our knowledge remains limited to morphological findings from about 100 years ago. This means we do not know the precise mechanism of the origin of human development. So far, I have studied the peri-implantation development of cynomolgus monkeys, who are the evolutionarily closest to humans among the organisms amenable to biological experiments. As a result, I have revealed many aspects unique to primates, including the developmental dynamics of the epiblast and the in vivo developmental counterpart of human/cynomolgus monkey ESCs/iPSCs. As a scientist in the HAKUBI project, I will extend the previous research and elucidate the mechanisms of development during the gastrula stage of primates at the molecular level. In addition, I will also try to establish a new experimental foundation to finally overcome the hurdles to our knowledge in this area. It is my hope that these studies will help us deduce the mechanisms of the origin of human development.

中／外胚葉)を生み出す現象を起こします。その後、この三胚葉を基に様々な発生イベントが複雑かつ協調的に駆動され、各種臓器形成へと進みます。このように EPI は様々な細胞に寄与する能力（多能性）を有しますが、原腸陥入前は均質な細胞群で個性を持たず、三胚葉分化により初めて多様性を獲得します。このことから、受精が「生命の誕生」であるのに対し着床直後は「“個”となるヒトの起始」と捉えられており、ヒト胚

培養における世界的倫理規範（Warnock 14-days rule）の根拠になっています。またヒトの流産の多くはこの着床期に起こること、更に ES 細胞／iPS 細胞分化誘導による再生医療／創薬研究は培養皿上での三胚葉分化と臓器形成現象の再現に他ならないことから、医療応用においても非常に関心の高い時期です。このように、ヒト胚の着床直後は基礎／応用両面において重要な時期であるにもかかわらず、我々のヒト創始期に対する知見は極めて限定的なままです（図1）。

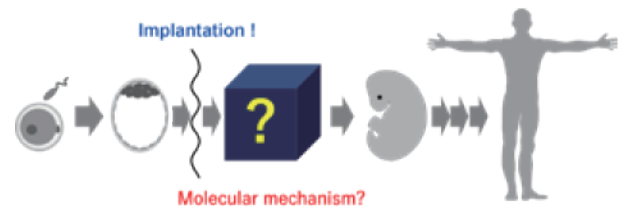


図1、ヒト胚の着床後胚発生はブラックボックス！

ヒトの着床直後胚は採取不可能

この原因の一つとして、着床直後のヒト胚試料を得ることが不可能であることが挙げられます。着床は母体が妊娠に気付かない／気づき始める時期であることから、ヒト胚試料を得るには「計画的な人体実験」が必要となります。もちろんこれは倫理的に許される研究ではありません。このためヒト胚の発生はこれまで主にマウスの知見が参考にされてきました。マウスは非常に優れたモデル動物であり、マウス研究から多くの成果が得られていますが、着床直後のヒトとマウスの胚は形態からして大きな違いがあり、種差が看過できません。また、進化的によりヒトに近い非ヒト霊長類（NHP）を用いた研究においても出生／成熟にかかる期間が長いことや大きな飼育労力／コストがかかるなどの理由により、分子レベルでの包括的な研究報告はありませんでした。

ヒトを知るには非ヒト霊長類 NHP の研究が極めて有効

私はこれまでカニクイザル（*Macaca fascicularis*）の着床後胚を、独自開発の新規 single cell RNA-seq 法を用いて（SC3-seq 法, Nakamura et al., 2015, *N.A.R.*）、世界で初めて霊長類着床後胚の網羅的な遺伝子発現情報を得ることに成功しました。そして霊長類 EPI の安定性や、マウスにはない胚体外間葉細胞の由来など、マウスの知見と形態情報だけでは知りえない様々な生命現象を見出しました（Nakamura et al., 2016, *Nature*;

Nakamura et al., 2017, *Sci.Data*, 図2）。これらの結果はヒトを押し量るうえで非ヒト霊長類を用いた研究が極めて有効であることを改めて示したと考えます。しかしこれらは EPI を中心とした限定的な成果であり、例えば未同定の細胞種が存在するなど、残念ながらこの時期の発生事象を全て解明できたとは言えません。

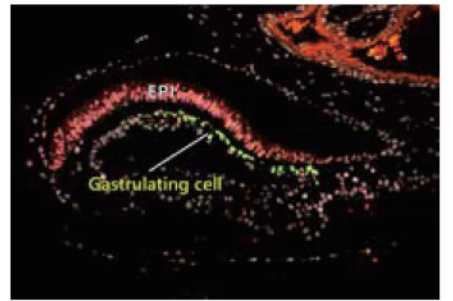


図2、カニクイザル受精後16日齢の胚。EPIと原腸陥入細胞（Gastrulating cell）を免疫染色にて可視化した写真。

霊長類着床後胚の発生メカニズム解明を目指す

白眉の5年間では先の研究を進展させ、この時期における全ての細胞種を同定しそれらの発生に伴う変化をとらえ、着床直後期胚発生の全容を解明したいと考えています。また更なる着床後胚研究のため、培養皿上にて胚を疑似着床させ発生を促す培養系を構築し、胚試料採取の困難性を回避した実験系の構築を目指します。これらが達成されれば、霊長類においてもマウスと同等の様々な実験が可能となり、霊長類初期の胚発生研究の更なる発展が期待できます。これにより初期産科医療、再生医療／創薬研究をはじめとする応用面での貢献や、さらに進化的なヒトの成り立ちや生命倫理の観点からも分子レベルでの科学的事実を提供することになり、新たな領域の発展と議論と醸成に寄与するのではないかと期待しています。

参考文献

Nakamura, T. *et al.* SC3-seq: a method for highly parallel and quantitative measurement of single-cell gene expression. *Nucleic Acids Res* **43**, e60, doi:10.1093/nar/gkv134 (2015).
Nakamura, T. *et al.* A developmental coordinate of pluripotency among mice, monkeys and humans. *Nature* **537**, 57-62, doi:10.1038/nature19096 (2016).
Nakamura, T. *et al.* Single-cell transcriptome of early embryos and cultured embryonic stem cells of cynomolgus monkeys. *Sci Data* **4**, 170067, doi:10.1038/sdata.2017.67 (2017).