

発生学とニワトリ胚

— Amiraソフトを用いて —

Developmental biology and chick embryo -Using Amirasoft-

阿部ひかり¹⁾, 東江紅慶¹⁾

指導教員 富田幸子¹⁾

1) ヤマザキ動物看護大学 動物看護学部 動物看護学科 動物病態生理学研究室

キーワード：発生, ニワトリ胚, Amira

1. はじめに

我々はHamburger-Hamiltonstage stage10のニワトリ胚の連続切片を、Amiraソフトを用いて3次元構築し、卒業論文の題材とした。

2. 方法

孵卵2日目のニワトリ胚(stage10)のニワトリ胚の組織切片を用いて画像の立体化を行った。組織切片はヘマトキシリン・エオジン染色した連続切片で作成、撮影された標本を利用した。画像の立体化には、サーモフィッシャー・サイエンティフィック株式会社の3D可視化解析ソフトであるAmiraのver.2021を用いた。

3. 発生

発生とは「生物の卵が成体に達するまでの、形態的・生理的・科学的な変化・発達、すなわち形態形成・分化・成長・変態・加齢などの過程を示す言葉である（参考文献1）。」

発生の過程は、パターン形成(pattern formation)、形態形成(morphogenesis)、細胞分化(cell differentiation)、成長(growth)の4つの主要過程に区別することができる。

・パターン形成は脊柱を基盤として前後、背腹の2つの軸を決めることから始まる。主軸は前後軸で一端には頭部があり、他方には尾部がある。脊

椎動物は同時に背から腹にかけての背腹軸を有し、脊髄が背骨に浴って走り腹側に口部構造ができる。前後軸、背腹軸が協調しその後左右軸が決定される。脊椎動物の発生の過程は、受精、卵割、胚の再編成、原腸形成により、外胚葉、中胚葉、内胚葉の3胚葉に分化する。分化後は各胚葉で臓器が形成される。原腸形成後は、すべての脊椎動物胚に差はあるが相互に類似した発生段階を経ることになり、特異的な胚の特徴を示すようになる。この時期には頭部が明瞭になり、神経管が前後軸に沿って発達する。脊索の両側に体節が形成され、ここから筋肉と骨格が形成され、その後、脊椎動物のグループそれぞれの構造的な特徴が形成される。

・形態形成(morphogenesis)は発生の中で顕著な変化が見られるが、その中でも特に原腸形成(gastrulation)は劇的である。細胞が原腸形成により、外胚葉、中胚葉、内胚葉の3胚葉に分化し、外胚葉が胚を包み込み中胚葉および内胚葉が胚内に移動する。外胚葉は神経系や皮膚を形成し、中胚葉は骨格、筋肉、心臓、血液などの組織を形成、内胚葉は腸管やそれに関連する内臓器官や腺構造を形成する。

・細胞分化(cell differentiation)はパターン形成と相互に強く関連している。分化が断続的に起こり各細胞は血液、筋肉、皮膚の細胞のように構造的、機能的に区別できる細胞へと変化する。

・成長 (growth) は細胞の増加、増大、あるいは骨や設に見られるような細胞外物質の蓄積など様々な方法で起こる。一般的に初期胚発生の間、成長はほとんどない (参考文献 2)。立体構築作成にあたり、ニワトリ胚の発生について述べる

4. ニワトリ胚の発生

ニワトリ胚は、卵黄上の円状の胚盤葉から発生する。ニワトリ胚は雌の体内で受精し、20 時間後に卵割が起こる。原腸形成、胚発生と続き 21 日で孵化する。ニワトリ胚の発生は受精後、卵管内で受精卵の卵割が始まり胚盤葉を形成し、約 20 時間かけて 徐々に下方に移動するに伴ってアルブミンである卵白によって囲まれる。さらに、卵殻膜や卵殻も外層に形成され約 24-25 時間後産卵される。胚盤葉の中央部下部、胚下腔が発達し、同領域は明域とよばれ、この領域の外部領域は暗域とよばれる。胚本体は胚盤葉上層から発生する。胚の後端の暗域と明域の間の方に小さな細胞による半月状の肥厚した細胞の集まりであるコラーの鎌が形成される。コラーの鎌は原条の形成位置を規定し、胚盤葉上層は後方境界領域とよばれる。原条は明域の半分ほどまで伸長し、最終的に胚盤葉上層の背側表面に溝として形成される。原条は孵卵後 16 時間で完全に伸長し、前方端では細胞の集積であるコラーの鎌由来のヘンゼン結節とよばれる。この結節はニワトリ初期胚における主なオーガナイザー領域であり、原条が完全に伸長した後、ヘンゼン結節由来の細胞のいくつかが前方移動し、脊索前板中胚葉、頭突起を形成する。頭突起が完成後、原条は退縮をはじめ、その際ヘンゼン結節は胚の後端に向かって後退していく。結節が後退するにしたがい、脊索が形成され、それに伴ってその両側に位置する中胚葉は体節の形成を始める。体節に対し側方にある残りの中胚葉は側板中胚葉とよばれ、側板中胚葉は壁側中胚葉と臓側中胚葉に分かれる。壁側中胚葉は外胚葉と共に体壁葉となり体壁を形成し、後者は内胚葉と共に内臓葉となり循環器を形成する。その後、結節は肛門以降の胚後端、尾部を形成する。脊索が形成されると神経板が

形成され、神経管ができる。頭突起が現れヘンゼン結節が後退し始めた直後に頭部領域の三胚葉が腹側へ屈曲し始め頭褶構造を形成し、そこから咽頭部、前腸が形成される。その後、同様の褶構造が尾側領域に形成され、後腸領域を決定する。さらに胚の両側の褶曲構造は融合して残りの腸管を形成する。その後、中胚葉、外胚葉が発達し腹部体壁を形成するがこの形態形成的事象は腹側閉鎖とよばれる。このような折りたたみ運動が起こるにつれ、両側の 2 つの心臓原基が近接し始め、最終的に腸管の腹側に 1 本の心臓管が形成される。(参考文献 2)

5. まとめ

本研究で 3D 構築を行うためには、発生について知ることが重要であり、心臓を中心とした周囲の器官の空間的關係を知ることが重要である。

3D 構築を通してニワトリ胚発生の 1stage を知ることができる。

6. 考察

3D 構築によってニワトリ胚発生への理解が深まったことがメリットとして挙げられる。3D 構築は、組織切片一枚一枚を平面で見るとより立体的にみることができる。それにより発生の過程や器官の位置關係を知ることができる。今後ニワトリ胚の別のステージの 3D 構築を作成する予定である。

参考文献

1. 広辞苑. 出編. 岩波書店, 第六版. 2008 年, pp. 2268.
2. ルイス・ウォルパート、シェリル・ティックル 著. ウォルパート 発生学 Principles of Development. 武田, 田村 監訳, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京, 2016 年