

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 7 日現在

機関番号：82617

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22570103

研究課題名（和文） ヒドロ虫類の生殖細胞系列分化における多様性に関する系統進化学的研究

研究課題名（英文） Phylogenetic study on the diversity of gametogenesis in Hydrozoa (Cnidaria)

研究代表者

並河 洋 (Namikawa Hiroshi)

国立科学博物館動物研究部・研究主幹

研究者番号：40249909

研究成果の概要（和文）：200字

ヒドロ虫類は、他の刺胞動物と異なり、生殖巣（生殖体）の形態が多様である。そこで、本研究では、このヒドロ虫類の生殖体の形態の多様化の要因について系統進化学的に解析した。その結果、これらの多様化は、刺胞動物の中で派生的と考えられるヒドロ虫類においてボディサイズが縮小したことにより、生殖巣の形成部位が胃腔側から体表側に移り、また、生殖細胞の起源や成長過程などにも違いが生じたためであることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Morphology of gonophores (gonads) of Hydrozoa is exceptionally diverse unlike other Cnidaria. Our phylogenetic study revealed that this diversity of gonophore morphology was reflected by differences among taxon in the origin and growth process of gametes. Furthermore, it was considered that these differences in gametogenesis were caused by the shift in position of gonads from the gastric side to body surface by the reduction of body size in Hydrozoa.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
H22年度	1400000	420000	1820000
H23年度	1100000	330000	1430000
H24年度	1000000	300000	1300000
年度			
年度			
総計	3500000	1050000	4550000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：ヒドロ虫、系統進化、生殖細胞、生殖幹細胞、減数分裂

1. 研究開始当初の背景

多細胞動物においては、一般に、個体発生の初期に将来生殖細胞になる細胞が生殖細胞系列として体細胞系列から分かれ、生殖巣に保存される。多細胞動物の中で、無性的増殖をおこなう動物（ヒドラ、プラナリアなど）では、生殖細胞にも体細胞にも分化できる多能性の未分化幹細胞（ヒドラ：間細胞、プラ

ナリア：ネオブラスト）が存在し、成体においても生殖細胞がこの幹細胞から分化することが知られている。しかし、いずれにしても、体細胞として機能し他の細胞に分化することのない細胞から生殖細胞が分化することは、多細胞動物ではありえないとされている。一方、Schmid *et al.* (1982)は、海産の群体性ヒドロ虫類 *Podocoryna carnea* のクラ

ゲから取り出した内胚葉細胞と横紋筋を癒合することで *in vitro* で生殖細胞を分化させた。これは、ヒドロ虫類においては、体細胞からも生殖細胞が形成される可能性を示すものであった。

研究代表者（並河）は、最近、海産の群体性ヒドロ虫類タマクラゲ (*Cytaeis uchidae*) の生殖細胞分化を組織学的に追跡し、本種が、*in vivo* で、外胚葉上皮細胞から間細胞を分化させ、その間細胞から生殖細胞を分化させていることを示唆する結果を得た。今回の結果が真実であるならば、ヒドロ虫類は、生殖細胞系列分化の進んでいない、せん毛虫類のように接合で有性生殖を行なう単細胞生物の要素を残している分類群を含有していると考えられた。このことから、多細胞動物の系統上根幹に位置するヒドロ虫類における生殖細胞分化の実体を解明することは、多細胞動物の生殖細胞系列分化が系統上いつ起こったのかを明らかにするために新たな視点を持ち込むことと考えられ、本研究を計画する契機となった。

2. 研究の目的

刺胞動物は二胚葉動物であり、生殖巣（ヒドロ虫類では生殖体という）が花虫類、鉢虫類、箱虫類では内胚葉側（胃腔側）に、ヒドロ虫類では外胚葉側（体表側）に形成される。ヒドロ虫類において、この生殖体の形態は、分類群によって異なり、単なる袋状の子嚢から遊泳するクラゲまで多種多様である。さらに、生殖体が形成される位置も分類群間で異なっている。そこで、これら生殖体における多様性に着目し、生殖体の形態や形成位置の違いは、分類群間の生殖細胞の分化における何らかの違いを反映しているものとの仮説を立てた。

本研究は、生殖体の形態と形成位置が異なる数種を用いて組織学的に生殖細胞の成長過程を追跡し、さらに、進化発生学的研究の手法を活用することで、この仮説を検証することを目的として行った。

3. 研究の方法

(1) 組織学的研究

研究材料として、海産ヒドロ虫類のうち、体制（単体または群体）並びに生殖体の形態（子嚢またはクラゲ）と形成位置（ヒドロ根、ヒドロ茎またはヒドロ花）において異なる種を選定した。それらは、単体性のハタイヒドラと群体性のタマウミヒドラ、ミサキアミネウミヒドラ、そして、タマクラゲ属の種である。ハタイヒドラとタマウミヒドラは子嚢タイプの生殖体をヒドロ花にもつ。ミサキアミネウミヒドラは生殖ポリプという特殊なポリプ上に生殖体を形成し、それは退化的なクラゲとなる。タマクラゲ属の種は、ヒドロ根

からクラゲを遊離させる種である。さらに、必要に応じて研究材料とする種を増やした。

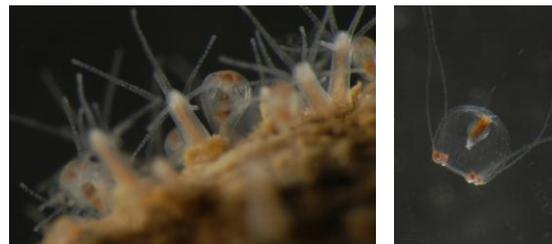


ハタイヒドラ

タマウミヒドラ



ミサキアミネウミヒドラ



タマクラゲ. ポリプ (左) とクラゲ (右)

今回は、卵形成過程を中心に追跡した。これは、比較的成長過程の追跡が容易だからである。

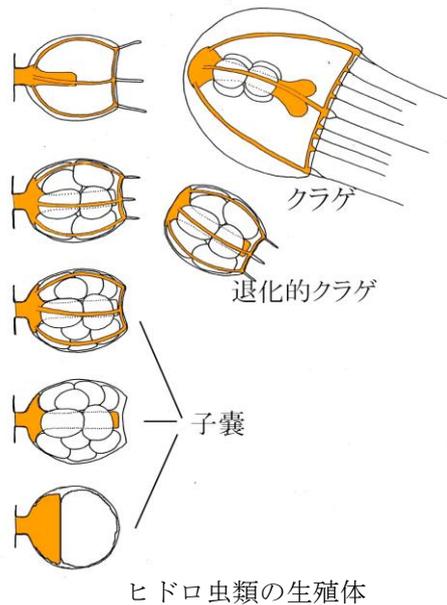
野外から雌の生殖体をもつヒドロ虫類が採集できた場合、実験室に持ち帰り、メントール飽和溶液で麻酔後、直ちに4℃下に置き、冷却した4%パラフォルムアルデヒド固定液で約12時間固定した。材料は、固定完了後、水洗並びにエタノールによる脱水を経た後、メタクリル系樹脂（テクノビット7100）で包埋し、厚さ5–10μの切片を作成した。この組織切片にヘマトキシリン・エオシン染色またはトルイジンブルー染色を行い、顕鏡した。

野外から生殖体をもたないヒドロ虫類が採集された場合、室内飼育により生殖体を形成させ、それが雌であったら上記の方法により同様に組織切片を作成し、顕鏡した。

(2) 進化発生学的研究

生殖細胞の分化を追跡するために有効な遺伝子マーカー（例えば、生殖細胞の場合は *Vasa*）を研究分担者（立花）のもとでクロー

ニングし、それらの RNA プローブの作成を試みた。有効なマーカー遺伝子が発見された場合、in situ hybridization によって、組織学切片上で生殖細胞の分化を追跡することとした。



4. 研究成果

(1) 組織学的研究

①ハタイヒドラー (*Hataia parva*)

ハタイヒドラーは、ヒドロ花胴部に生殖体を形成する。本種においては、内胚葉に存在する間細胞が集合した胴部の体表に生殖体が形成されることが観察された。さらに、これら内胚葉性間細胞の一部から分化した卵原細胞の集団の中の1つが周囲の卵原細胞を捕食して巨大化し卵母細胞に成長することが明らかとなった。

②タマウミヒドラー (*Coryne pusilla*)

本種は、ヒドロ花がすべて同形の群体性ヒドロ虫類であり、従来、生殖細胞はヒドロ花に散在する触手基部に形成される子囊の内部で分化するとされていた。しかし、本研究において、卵母細胞はすでに生殖体外に存在し、それらが外胚葉に接した部分の体表に生殖体が形成され、周囲の内胚葉とともにその中に入り、成長していくことが明らかとなった。

③ミサキアミネウミヒドラー (*Stylactaria misakiensis*)

本種は、ポリプが摂食用ポリプ (栄養ポリプ) と有性生殖用ポリプ (生殖ポリプ) に分業している多形性ヒドロ虫類である。生殖体 (退化的なクラゲ) は生殖ポリプの胴部に形成される。卵母細胞は、様々な成長段階のものが生殖ポリプ胴部の内胚葉に確認され

た。それらのうち、最も大きなサイズの卵母細胞が外胚葉に接すると、その部分の外胚葉が突出して生殖体が形成され、周囲の内胚葉とともに卵母細胞がその中に入ってさらに成長し卵細胞となった。この卵母細胞の成長は、周囲の内胚葉からの栄養供給を受けていた。また、同属別種で生殖体が子囊である。*Stylactaria conchicola* や *S. uchidai* においては、初期の卵母細胞がヒドロ根にあり、成長に伴って生殖ポリプ胴部に移動し、さらに、*S. misakiensis* と同様に生殖体を形成しその中において卵細胞に成長した。

④タマクラゲ類 (*Cytaeis*)

すでに組織学的研究を行ったタマクラゲ (*Cytaeis uchidai*) では、遊離直後のクラゲがすでに成熟した卵をもち、数日内に放卵した。本研究の過程で、遊離直後のクラゲが成熟した卵をもたない種 *Cytaeis* sp. を発見した。この場合、遊離直後には、間細胞または卵原細胞が将来生殖巣となる部位に集合しており、このクラゲにエサを与え飼育した結果、約 20 日後に成熟卵をもち、放卵することを確認した。このようにクラゲにおいても卵形成過程に時間的な違いのあることが明らかとなった。

なお、この *Cytaeis* sp. は未記載種であることが判明し、*Cytaeis kakinumae* Namikawa and Deguchi, 2013 として新種記載した。

(2) 進化発生学的研究

タマクラゲ (*Cytaeis uchidai*) について、生殖細胞の卵や精子の母細胞への分化マーカーとなる遺伝子のクローニングを試み、減数分裂の最初期に発現する蛋白質である Spo11 や Dmc1 の全長の配列を決定した。また、これらの発現時期を調べるために、発色にアルカリフォスファターゼをもちいた in situ hybridization を行ったが、タマクラゲの生殖器官にアルカリフォスファターゼの発色基質と類似の色の色素の沈着があり、充分詳しい観察が困難であった。

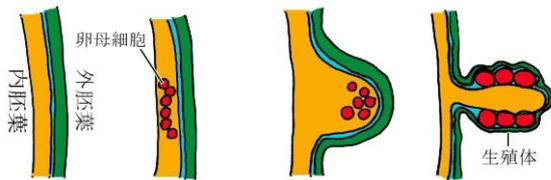
そこで、自家色素を持たないエダアシクラゲにおいて抗体染色により Spo11 の発現を調べたところ、生殖細胞の検出に有効であることが明らかとなった。このことから、Spo11 は自家色素を持たないヒドロ虫類に対しては減数分裂初期の生殖細胞を観察できる可能性が示唆された。

(3) まとめ

従来ヒドロ虫類の生殖細胞は外胚葉起源とされていたが、ハタイヒドラーのように、それが内胚葉起源である種の存在が明らかとなった。

また、ヒドロ虫類において、卵母細胞 (あるいは、卵原細胞や卵原細胞に分化する間細

胞)が内胚葉細胞間を移動し外胚葉に接すること、それらの細胞が接した部位の体表側に生殖体が形成されること、生殖体の形成に伴って卵母細胞がその中に取り込まれることが判明した(下図)。



さらに、外胚葉に接触する卵母細胞の成長時期に違いがあり、それが生殖体の形態と関連していることが明らかとなった。

卵母細胞の成長に関しては、2タイプ確認された。1つは、ハタイヒドラのように、分化した卵母細胞のうち1つが周囲の卵母細胞を捕食して成長するタイプであり、もう1つは分化したすべての卵母細胞が内胚葉から栄養を摂りながら成長するタイプであった。周囲の卵母細胞を捕食して成長する卵細胞形成過程は、海産のクダウミヒドラ類(*Tubularia*)や淡水産のヒドラ(*Hydra*)で報告された現象であり、これら3種が属するAplanulata亜目(プラヌラ幼生をつくらない分類群)内に共通なものであることが示唆された。

最近の分子系統学的な研究では、刺胞動物において花虫類が祖先的でヒドロ虫類は派生的とみなされている。刺胞動物の中で、ヒドロ虫類のみが例外的に生殖巣を体表側に形成する。また、ヒドロ虫類は、他の刺胞動物に比べ非常に小型である。これらのことから、ヒドロ虫類では、ポリプのボディサイズの縮小によって生殖巣の形成部位が胃腔側から体表側に移り、また、生殖細胞の成長過程などに違いが生じ、結果として生殖体の形態や位置に多様化が生じたと考えられた。

今後は、自家蛍光をもつ種においても利用可能なマーカーを開発するとともに、花虫類も含めた刺胞動物において生殖細胞の起源となる細胞をさらに追及し、生殖細胞系列の分化様式が進化の過程でどのように多様化してきたのかを明らかにしたいと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Hiroshi Namikawa and Ryusaku Deguchi. 2013. A new species of the genus *Cytaeis* (Cnidaria, Hydrozoa) from Tateyama Bay, Japan. Bulletin of the National Museum of Nature and Science.

Ser. A, 39:63-67. (査読有)

[学会発表] (計 5 件)

- ① 並河 洋 ヒドロ虫類における生殖体制の多様化
日本動物学会第83回大会 2012年9月13日 大阪大学
- ② 並河 洋・出口 竜作 未知の付着基盤から得られたタマクラゲ属のヒドロ虫類についての分る学的検討 日本動物学会第83回大会 2012年9月13日 大阪大学
- ③ 並河 洋 単体性ヒドロ虫ハタイヒドラの生殖体形成
日本動物分類学会第48回大会 2012年6月10日 東邦大学
- ④ 並河 洋 群体性ヒドロ虫類タマウミヒドラ *Coryne pusilla* における生殖体形成
日本動物学会第82回大会 2011年9月21日 旭川
- ⑤ 並河 洋 ヒドロ虫類の生殖巣形成部位についての系統学的考察
日本動物学会 2010年9月23日 東京大学(駒場)

[図書] (計 2 件)

- ① 並河 洋 カイウミヒドラ類. 日本比較生理生化学会編、研究者が教える動物飼育第1巻ゾウリムシ、ヒドラ、貝、エビなど. 共立出版 5pp. 2012
- ② 並河 洋 たくさんのふしぎ クラゲは花 福音館書店 40pp. 2011.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

並河 洋 (Namikawa Hiroshi)

国立科学博物館・動物研究部・研究主幹
研究者番号: 40249909

(2) 研究分担者

立花 和則 (Tachibana Kazunori)

東京工業大学・バイオ研究基盤支援総合センター・准教授
研究者番号: 60212031

(3) 連携研究者

出口 竜作 (Deguchi Ryusaku)

宮城教育大学・教育学部・教授
研究者番号: 90302257