

ニホンベニクラゲ（ヒドロ虫綱、花クラゲ目）『若返り』現象の誘導

亀卦川樹^{1#}・北田洋平^{1#}・向井有理^{1*}・越中谷賢治¹・久保田信²

¹ 〒214-8571 神奈川県川崎市多摩区東三田 1-1-1

明治大学大学院理工学研究科電気工学専攻

² 〒649-2211 和歌山県西牟婁郡白浜町 459

京都大学フィールド科学教育研究センター瀬戸臨海実験所

Induction of “rejuvenation” phenomenon of *Turritopsis* sp. (Hydrozoa, Anthomedusae)

Tatsuki Kikegawa^{1#}, Yohei Kitada^{1#}, Yuri Mukai^{1*},
Kenji Etchuya¹ and Shin Kubota²

¹ Department of Electronics, Graduate School of Science and Technology, Meiji University, 1-1-1

Higashimita, Tama-ku, Kawasaki, Kanagawa, 214-8571 Japan

² Seto Marine Biological Laboratory, Field Science Education and Research Center, Kyoto University, 459

Shirahama, Nishimuro, Wakayama, 649-2211 Japan

Abstract. High rejuvenation rate was shown in *Turritopsis* sp. (Hydrozoa, Anthomedusae) collected from Tanabe Bay, Wakayama Prefecture, Japan in August 2017. Degeneration of medusae to dumplings was induced by isolation rearing, and succeeding transformation into polyps was controlled by seawater temperature.

Key words: *Turritopsis* sp., rejuvenation, polyp, dumpling, medusae, Tanabe Bay

（要約）

生活環の逆戻り現象（『若返り』）が可能なニホンベニクラゲ *Turritopsis* sp.（ヒドロ虫綱、花クラゲ目）における、高い若返り率を報告する。和歌山県田辺湾産ニホンベニクラゲ 22 個体の成熟個体を、ポリスチレン製細胞培養用マルチプレートを用いて止水飼育し、2017 年の 8 月から 9 月にかけて『若返り』に関する観察を記録した。16 個体については記録初期段階から一貫して水温 25℃ による飼育を行い、6 個体は水温 4℃ で一晩コールドショックを与えた後、水温 25℃ に戻して観察を続けた。この時、水温 25℃ 飼育の 16 個体の内、4 個体は同時にマルチプレートの 1 穴内で飼育したが、他の 12 個体については、マルチプレートの 1 穴ごとに 1 個体ずつ隔離飼育した。その結果、水温 25℃ 飼育の 16 個体の内の 12 個体において、ポリプ幼体への『若返り』が確認された（75%）。一方、コールドショックを与えた 6 個体のポリプ幼体への若返り率は 0% であった。また、マルチプレートで隔離飼育した 12 個体では、11 個体がポリプ幼体への『若返り』を示した（92%）。

*連絡先 (Corresponding author): yuri@meiji.ac.jp

本論文に対して同等の貢献がある

はじめに

不老不死は太古の昔より我々人類の究極的な夢であるが、ベニクラゲ *Turritopsis* sp. は幼体への『若返り』を成し遂げる希少な不老不死生物として広く知られつつある。ベニクラゲには、受精卵からプラヌラ幼生・ポリプ幼体を経て成熟個体となる有性生殖と、ポリプ幼体は何百倍程にも伸長する無性生殖のシステムとがある。これらに加えて、成熟個体から肉団子状個体への形態変化を経てポリプ幼体へ変態する『若返り』生活環を持つことが発見されて以来、南日本に分布する2種類のベニクラゲでは成熟個体のポリプ幼体への『若返り』が多数確認されている (Kubota, 2005, 2015; Miglietta *et al.*, 2007; 久保田, 2005, 2008, 2013, 2015, 2017)。また、ベニクラゲ成熟個体の針突による『若返り』現象の人為的誘導の成功例も存在する (久保田, 2016) が、『若返り』誘導の明確な要因は明らかになっておらず、これまで一定の成功率は得られていなかった。また、ベニクラゲの遺伝学的研究は2016年に報告されたトランスクリプトーム研究のみであり (Hasegawa *et al.*, 2016)、現時点ではベニクラゲの分子機構に関する研究はほとんど存在しない。ベニクラゲの『若返り』誘導をコントロールすることが可能になれば、『若返り』機構の分子生物学的研究の進展にもつながり、ヒトのアンチエイジング研究への応用も期待できる。

本研究では、和歌山県田辺湾産ニホンベニクラゲの成熟個体のポリプ幼体への『若返り』現象を、針突刺激を与えない条件でも高確率に引き起こすことが可能であった。水温、個体隔離など飼育環境を変化させ、ポリプ幼体への変態の過程を記録することにより、『若返り』を高確率に誘導する条件の検討を行った。

材料と方法

和歌山県西牟婁郡田辺湾沿岸で、2017年8

月16日に北田博一氏により採取されたニホンベニクラゲ *Turritopsis* sp. (ヒドロ虫綱、花クラゲ目) の成熟個体22個体 (体長2~4 mm) を用いた。採集後の数日間は25℃で餌を与えないで止水飼育し、和歌山県から神奈川県への輸送時のみ (約半日) クーラーで冷却して持ち帰った。

飼育容器として、ポリスチレン製細胞培養用マルチプレート6F (住友ベークライト, 日本) を使用し、クラゲの止水飼育を行った。飼育海水には、5 µm フィルターで濾過処理を行った和歌山県田辺湾の自然海水5 mLを用いた。マルチプレート穴の直径は35 mm、容量は16 mLであり、5 mLの海水を入れると水深5 mmとなる。恒温器 SIW-300 (アズワン, 日本) を用いて、マルチプレート内の水温を25℃ (コールドショックの際は4℃) に維持した。クラゲの飼料として、オキアミ類を中心とした混合飼料「クラゲのエサ」 (神畑養魚, 日本) を用いた。ホモジナイザーベッスル (アズワン, 日本) で粉碎後、1個体あたり8 mgを飼育開始より3日に1回の頻度で実験開始直前の日まで給餌した。

クラゲ22個体の内16個体については、水温25℃による飼育を行った。この内4個体は同一の細胞培養用マルチプレート内で飼育したが、他の12個体については個別の細胞培養用マルチプレートを用いて1個体ずつ隔離飼育した。なお、6個体は水温4℃で一晩コールドショックを与えた後、水温25℃に戻して観察を続けた。

結果と考察

和歌山県田辺湾産ニホンベニクラゲにおける成熟個体からポリプ幼体への変態の過程を記録し、『若返り』誘導の条件を調査した。飼育条件と『若返り』誘導成功率の関係を表1に示した。若返り成功率は、成熟個体から肉団子状形態を経て、ポリプ幼体まで変態した個体数と、観察開始時における全成熟個体数の比から求め

た. 今回の条件検討の範囲では, (i) 水温 25℃ による飼育, (ii) 隔離飼育の 2 つの条件が伴った場合において, ベニクラゲのポリプ幼体への『若返り』現象が, 最も高い確率 (92%) で観察された.

まず, 飼育水温に関する条件検討に関しては, 基本飼育水温を 25℃ とし, 水温 4℃ で一晚のコールドショックを与えるグループと, 与えないグループとに分け, 観察を行った. コールドショックを与えなかった 16 個体については, 細胞培養用マルチプレートでの止水飼育を開始してから 6 ~ 14 日間で, ポリプ幼体に変態する『若返り』現象が 12 個体 (75%) で見られた. その間, 人為的に若返りを誘導するための針突などの物理的刺激は一切行わなかった. その内の 1 個体について, 経時的に顕微鏡観察を行った結果を, 図 1 (A) に示した. まず肉団子状の形態に変態した後 (Day 3), プレートの底に接

着した (Day 5). その後, ポリプ幼体を伸長した (Day 6, 13). 一方, コールドショックを与えたグループの 6 個体の若返り成功率は 0% であった. その内の 1 個体の顕微鏡観察像を図 1 (B) に示した. コールドショックを与えた個体においても, コールドショックを与えていないグループと同様, まず肉団子状の形態に変態した後, プレートの底に接着した (Day 1). しかしその後, 30 日経過してもポリプ幼体を伸長せず, 死滅した (Day 30). 顕微鏡像からも, 中央に空洞が生じて死滅していることがわかる.

これらの結果から, 低温環境下においては, ベニクラゲの『若返り』の過程の内, 肉団子状形態からポリプ幼体への変態が起こりにくいことが示唆された. 従って, 自然環境下では, 海水温度が比較的高い地域において, 水温が低温になりにくい底浅の環境で『若返り』現象が起こりやすい可能性がある. 南日本型ベニクラゲ

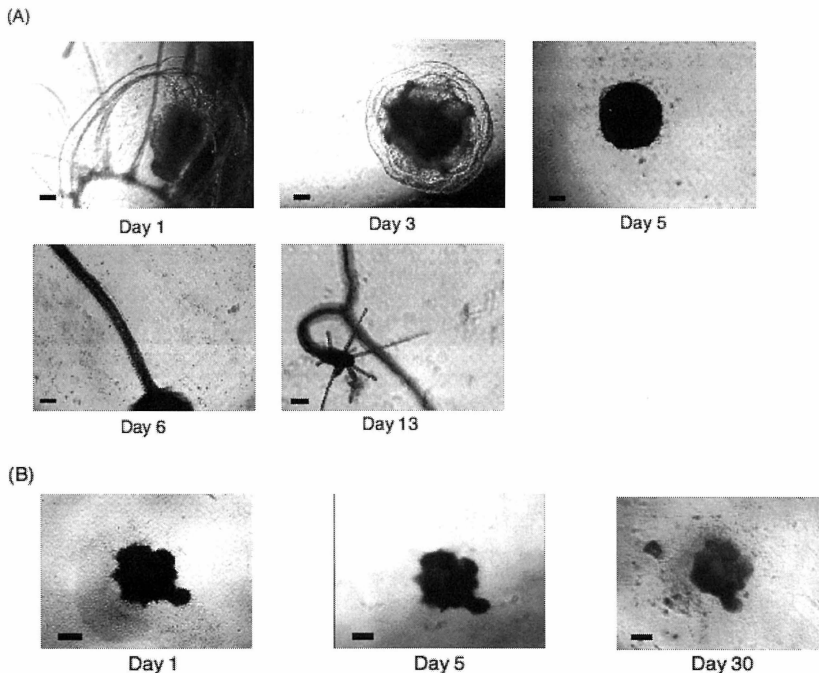


図 1. ニホンベニクラゲの形態変化, 隔離飼育下の個体 (A) コールドショックなし, (B) コールドショックあり, 写真の黒いバーは 100 μm を示す.

Fig. 1. Morphological changes of *Turritopsis* sp. cultured individually. (A) Non-coldshock, (B) Coldshock. black bar: 100 μm.

表 1. ニホンベニクラゲ（和歌山県田辺湾産）飼育条件と若返り成功率

Table 1. Rearing conditions and rejuvenation rates of *Turritopsis* sp. from Tanabe Bay, Wakayama Prefecture, Japan.

飼育条件	コールドショックなし		コールドショックあり*
	隔離	集団	隔離
成熟個体数	12	4	6
変態個体数	11	1	0
若返り成功率 (%)	92	25	0

*4℃で一晩

の若返り率が、北日本型に比べて高いという報告（久保田，2013）についても、海水温度との相関が考えられる。

また、コールドショックを与えていない 16 個体について、隔離飼育グループと、集団飼育グループとに分け、若返り成功率を比較した。12 個体については個別のポリスチレン製細胞培養用マルチプレートを用いて 1 個体ずつ隔離飼育し、他の 4 個体は同一穴のマルチプレート内で飼育した。その結果、隔離飼育のグループ 12 個体の内 11 個体（92%）において、細胞培養用マルチプレートでの止水飼育および給餌を開始してから 3～7 日で肉団子状形態に変態し、止水飼育開始 6～14 日目にポリプ幼体への『若返り』現象を起こしていた。『若返り』が起きなかった 1 個体は、肉団子状形態への変態過程で海水に溶解した。集団飼育のグループ 4 個体の内 3 個体は、肉団子状形態への変態過程で海水に溶解した。残された 1 個体のみが、15 日目にポリプ幼体への『若返り』に成功した。

これらの結果から、他の個体から隔離された環境、しかも浮遊・遊泳しにくい狭い空間（直径 35 mm、水深 5 mm）というストレスのかかったと推察される環境において、成熟個体から肉団子状形態への変態が起りやすいことが示唆された。この理由として、集団環境では遊泳をやめ肉団子状形態へ変化する過程で、他の個体に捕食される可能性が考えられる。また、性別の異なる個体との相互作用により、『若返り』ではなく有性生殖の戦略を選択している可能性も考えられる。いずれにせよ、他の個体との相

互作用が『若返り』現象を抑制している可能性が示唆されたため、今後は集団の構成を変化させて詳細な検討を行う必要がある。

本研究では、水温調節と個体の隔離により、高い確率でニホンベニクラゲのポリプ幼体への『若返り』現象を誘導することが可能であった。個体の隔離により、『若返り』の初期過程である成熟個体から肉団子状形態への変態が促され、水温調節により、肉団子状形態からポリプ幼体への変態を制御できることがわかった。さらに、肉団子状個体の接着とポリプ伸長の場としての飼育容器の材質、飼料の種類や給餌量などを検討することにより、より安定的な『若返り』誘導の条件を見出すことができると考えられる。

謝 辞

和歌山県田辺湾で採集したニホンベニクラゲを譲渡して下さった福島県在住の北田博一氏をはじめ、ベニクラゲ研究会の関係諸氏に深謝致します。

引用文献

- Kubota, S., 2005. Distinction of two morphotypes of *Turritopsis nutricula* medusae (Cnidaria, Hydrozoa, Anthomedusae) in Japan, with reference to their different abilities to revert to the hydroid stage and their distinct geographical distributions. *Biogeography*, 7: 41-50.
- 久保田信. 2005. 退化しないクラゲ口柄基部より走根を伸張しポリプに若返ったベニクラゲ（ヒドロ虫綱，花クラゲ目）の成熟雄. 日本生物地理学会会報, 60: 31-34.
- Miglietta, M. P., Piraino, S., Kubota, S. and Schuchert, P., 2007. Species in the genus *Turritopsis* (Cnidaria, Hydrozoa): a molecular evaluation. *J. Zool. Syst. Evol. Res.*, 45 (1): 11-19.
- 久保田信. 2008. 和歌山県田辺湾から採集された最少の触手数を有する日本産ベニクラゲ

- (ヒドロ虫綱, 花クラゲ目)のクラゲの形態とその成長. 南紀生物, **50** (1): 160-161.
- 久保田信. 2008. 高知県でのベニクラゲ(ヒドロ虫綱, 花クラゲ目)の初出現と旧体の口柄に接続してポリプへ若返った第2記録. *Kuroshio Biosphere*, **4**: 29-32.
- 久保田信. 2013. 日本産3種のベニクラゲ(ヒドロ虫綱, 花クラゲ目)の若返り率の相違. 日本生物地理学会会報, **68**: 139-142.
- Kubota, S., 2015. Morphology of newly liberated medusae of *Turritopsis* spp. (Hydrozoa, Oceanidae) from Japan and abroad. *Biogeography*, **17**: 129-131.
- 久保田信. 2015. 老衰したニホンベニクラゲ(ヒドロ虫綱, 花クラゲ目)の若返り. 日本生物地理学会会報, **70**: 189-191.
- 久保田信, 新稲一仁. 2016. 台風時の大雨で壊滅したベニクラゲ *Turritopsis* spp. (ヒドロ虫綱, 花クラゲ目)の飼育ポリプ. *Kuroshio Biosphere*, **12**: 49-52.
- 久保田信. 2016. ニホンベニクラゲ(ヒドロ虫綱, 花クラゲ目)の一般の方々による若返りへの物理的誘導実験での今後の注意. *Kuroshio Biosphere*, **12**: 53-56.
- Hasegawa, Y., Watanabe, T., Takazawa, M., Ohara, O. and Kubota, S., 2016, De novo assembly of the transcriptome of *Turritopsis*, a jellyfish that repeatedly rejuvenates. *Zoolog. Sci.*, **33** (4): 366-371.
- 久保田信, 新稲一仁. 2017. ニホンベニクラゲ(ヒドロ虫綱, 花クラゲ目)の初期ポリプの成長と群体から初めての若いクラゲの遊離. 日本生物地理学会会報, **71**: 289-292.
- (2017年10月4日受領, 2017年11月5日受理)