

37. ヒドラ解離再集合体からの神経系の形成

東北大・通研 板山 朋聡・沢田 康次

福岡女子大 小 泉 修

序)

ヒドラは淡水に住む腔腸動物で, 強い再生力を持つことが古来より知られている。ヒドラの再生現象に関しては, 反応拡散モデルにより説明がおこなわれていて, 我々の研究室でも, この方向からの研究を今までおこなってきた。ところが一方, ヒドラの神経系については, 生物の中でも最も簡単な散在神経系(中枢を持たない)であるにもかかわらず, 十分には研究されていない。進化的に見ても最初につくられたと思われる散在神経系を知ることは, より高度な中枢神経系, さらに我々の脳を理解するためにも重要であると考えられる。そこで我々はヒドラを細胞まで解離した後再集合させ, そこからの形態形成と神経系の形成過程を研究してみることにした。

ヒドラについて)

まずヒドラについて簡単に解説する。ヒドラは序でも述べたように再生力が非常に強い動物である。又, 通常は出芽と呼ばれる無性生殖により繁殖する。ヒドラを構成している細胞は, 大きく内胚葉性細胞と外胚葉性細胞に分けられる。外胚葉性細胞には神経細胞(さらに細かく見ると, 感覚細胞と神経節細胞とに分けられる)と間細胞(後述)が含まれている。ヒドラの体制について図1に示した。

ここで, 細胞が頭部, 足部の方向へ常に移動し続けていることに注意してもらいたい。次に, ヒドラの神経系の特徴について述べる。

(1)頭部と足部, 特に口丘, 触手に集中していて, 体幹部にはほとんど存在していない。(2)間細胞より分化して生

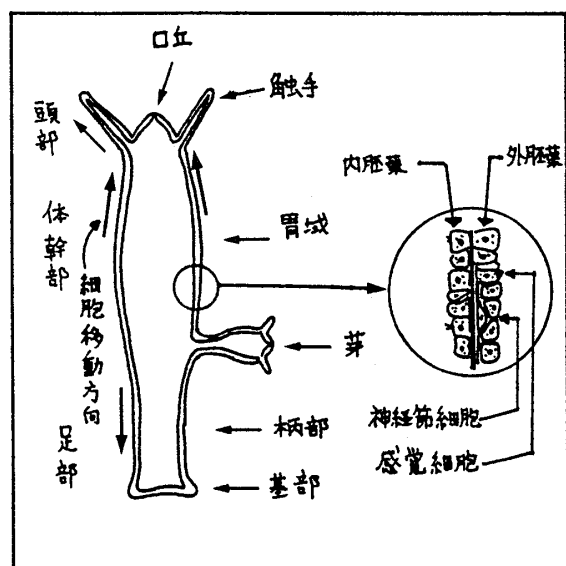


図 1

研究会報告

じ、常に生産され続けられている。(3)他の細胞とともに移動していて、体の先端より常に捨てられている。(4)神経ペプチドを持っていてその種類によりいくつかの Subclass に分類できる。(5)(3)に関連して、神経細胞の個体中での存在位置により、神経ペプチド等、表現型の変化がある。ヒドラの神経細胞の(1)のような分布は、(2)、(3)の性質により安定に維持されている。今回の実験では(3)の性質を利用した。

実験方法)

1) 神経系の観察方法

神経ペプチド(今回は RF amide と VASOPRESSIN の2種類)を抗原とする抗体を作り、これを用いて間接蛍光抗体法と呼ばれる方法を使い神経細胞のみを蛍光染色し観察した。図2に原理と手順を簡単に示した。(これらの抗体は小泉修氏を通じて、Grimmelikhuijzen より分けてもらった)今回使用した抗体で染まるものは、口丘、触手、足部の神経節細胞と口丘の感覚細胞である。

2) 解離再集合の方法

① Dissociation 液中でヒ

ドラを機械的に解離

② 53 μm のフィルターに通す

③ 解離細胞を遠心して固める

④ 適当な大きさに切る

⑤ 形態変化に応じて、飼育液(通常のヒドラを飼育している溶液)を用い、順次、1/2, 1/4, 飼育液と希釈していく。

①～③は 4℃ でおこない、④以降は 18℃ でおこなう。18℃ にした時点を開始とみなす。開始時より、適当な時間間隔で、Sampling して固定し、1)の方法で観察する。

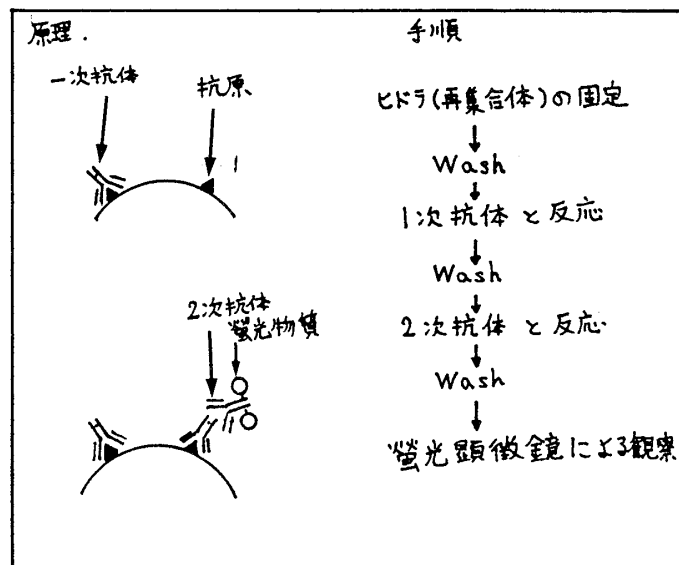


図2 間接蛍光抗体法の原理と手順

1次抗体……神経ペプチドを抗原として産生された抗体

2次抗体……1次抗体作るのに使用した動物の抗体(免疫グロブリン)を抗原として、別種の動物に産生させた抗体で、蛍光物質を結合させておく。

今回の実験における希釈と sampling の時期を表 1 に示した。

結果)

解離再集合体からの再生過程と神経系の発達の様子を表 2 にまとめた。又、蛍光抗体染色による写真を図 3 に示した。神経系発達の過程の一番大きな特徴は、構造（口丘、触手、足盤）の形成に伴い、その部分への局在化がおこなわれるという点であると言える。図 4 には神経細胞密度と密度が最大の部分と最小の部分との差の時間変化を示した。図 5 には平均結合数（周囲の何個の神経細胞と結合しているかの平均値）の時間変化を示した。神経細胞の周囲との結合数は、最大で、神経節細胞では 6～7 個、感覚細胞では 3～4 個程度である。又、図 5 を見ると、平均結合数は開始時点

表 1

Start 時の時間	
7 (hr)	1/2 希釈, Sample 1
17	Sample 2
26	1/4 希釈
30.5	飼育液, Sample 3
45	Sample 4
56.5	Sample 5
75	Sample 6
103	Sample 7
124	Sample 8

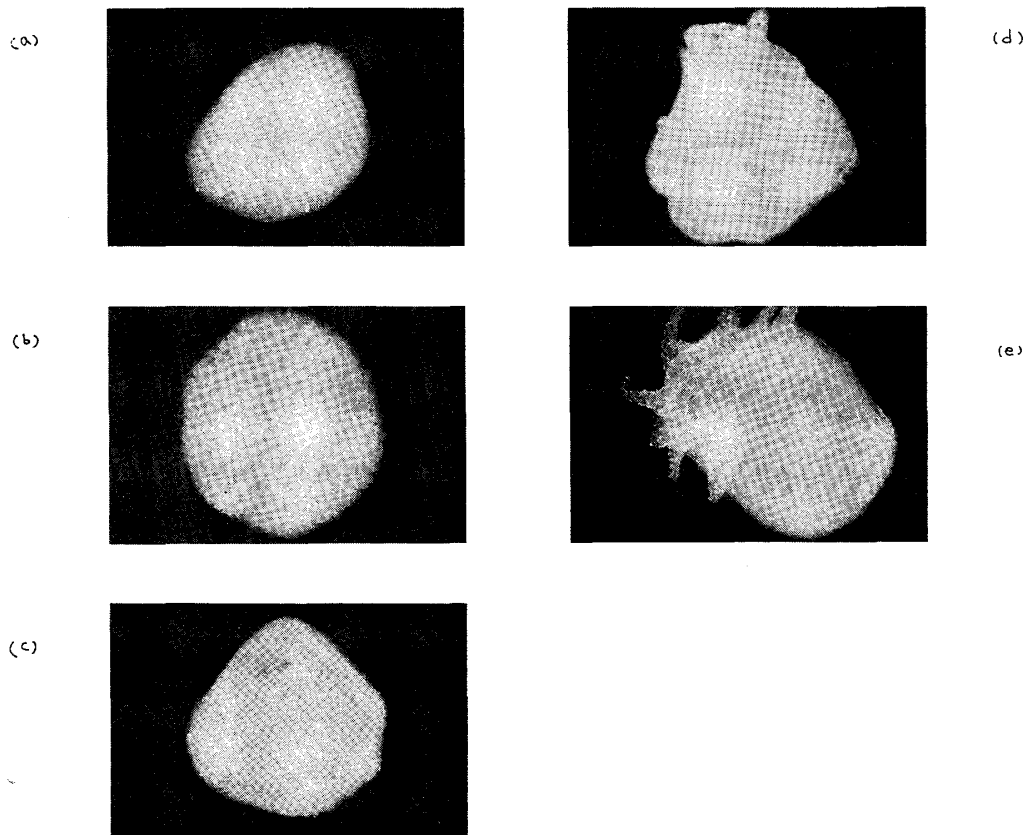


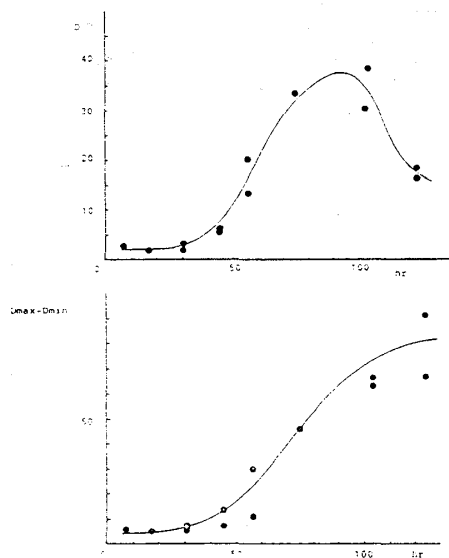
図 3 再集合体の蛍光抗体染色写真。

(a)開始時より 5 時間後, (b) 20 時間後, (c) 47 時間後, (d) 62 時間後, (e) 105 時間後。白く強く光っているものが神経細胞である。

表 2

開始時刻の 時間	主な形態変化	神経系の発達程度
2~5 時間後	表面がなめらかになってくる。	捨てられずに残っているものが 散在している。突起はあまり伸び ていない。
半日後	内部に空洞が生じ始める。 (2層化の開始)	神経細胞の数はほとんど変化 していないが、突起が伸びてきている。
1日後	内部がほとんど空洞化し、内部 の細胞塊のはき出しが見られる。	神経細胞が増加し始める。 突起が伸びて、近くの神経細胞と 結合している。
2日後	形がいびつになり、突出部が 見られる。	神経細胞の増加が激しく なりだす。結合数も増加が多 くなる。突出部への集中が生じてくる。
3日後	触手、口丘がはきりしてくる。	神経細胞数はほぼ最大となる。 触手、口丘への集中もあるが、再全体 全体にネットが広がっている。
4日後	足盤もはきりしてくる。	神経細胞数はあまり変化せず、 むしろ局在化が顕しい。
5日後	触手の長さがかなり長くなり、 正常なヒドゥに近い。	口丘、触手、足部以外の神経 細胞の減少が顕しい。結合数 も正常なヒドゥに近い。
6~7 日後	ほぼ、正常なヒドゥと同じ である。但し、数個体がつきがた 状態のものもある。	

2 →

図4 a) (上) 神経細胞の平均密度 (D) の時間変化b) (下) 密度最大の部分と最小の部分の差 ($D_{\max} - D_{\min}$) の時間変化

a), b) 両方とも横軸は開始時よりの時間。縦軸は密度の相対的な値。

より立ち上がり，1度最大に達した後，少し減少する傾向がある。

考察)

平均神経細胞密度が約1後から増加を始める事実は，間細胞が神経細胞への分化の決定を受けてから約12～24 hr後に神経細胞になることと合致している。但し初期の段階(24 hr以内)で神経細胞は大半が捨てられてしまう。初期に見られるものは捨てられずに残ったものである。神経細胞密度が一時的に増大した後減少し，同時に局在化

が進行するという現象は，Head activator(頭部形成に関していて，拡散性でない)が間細胞から神経細胞への分化を規定している可能性を示唆している。具体的に言えば次のようなことになる。

再集合体形成時にはHead inhibitor(Head activatorの増加を抑え，拡散性である)が流出し，その結果，Head activatorの全体的な増加が一時的におこる。濃度がある閾値以上に達したとき間細胞から神経細胞への分化決定が起る。このことが神経細胞の全体的増加を招くことになる。その後Head activatorが局在化してきて，同時にその濃度が高い部分(頭部となるところ)への細胞移動が開始される。それに伴い神経細胞も移動し，さらに体の先端部分より捨てられるようになる。その結果，定常的な神経細胞の分布が決定される。

次に平均結合数の変化について考える。開始時点より立ち上がることから，再集合体が形成された後すぐに，神経細胞は突起を伸ばし始めると考えられる。後半に平均結合数の減少が見られるのは，神経細胞数が多い口丘付近で感覚細胞が増大し，放射状に突起を出すので，結合できる範囲が小さくなるためだと考えられる。

今後は，神経系の発達程度から推定される情報処理能力と，ヒドラの行動回復との関連を調べてみる予定である。

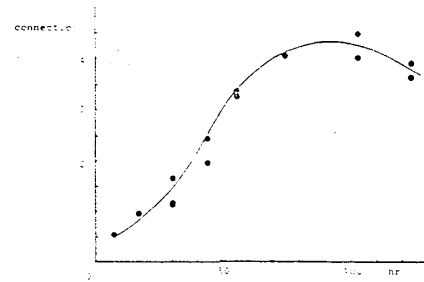


図5 平均結合数(connection)の時間変化。
横軸は図4と同じ。縦軸は結合している周囲の神経細胞の数。