

ヒドラの形態形成と周期信号

安 藤 浩 司*

The Relation between Morphogenesis of Hydra
and Periodic Signal

Hiroshi ANDO

Abstract

The tissue of hydra without head and foot of the mutant strain of Hydra magnipapillata (reg-16) which has a reduced head regenerative capacity was subjected to repeated electrical pulse stimulation during the first 24 hours of regeneration. Pulses with the interval of about 30seconds significantly increased the rate of normal head regeneration of reg-16. Pulses with shorter or longer interval had virtually no effect.

This observation suggests that some type of periodic signal(Goodwin, 1976)plays a role in hydra regeneration, and that the mutant strain reg-16 has a defect in this signaling mechanism. Depending on the mode of its application, periodic electrical pulses may repair this defect and improve head regeneration in reg-16.

1. はじめに

生物における形態形成(morphogenesis)過程は、最近の生物学において最も注目されている研究課題の1つである。この形態形成機構の統一的解明を目的とした「位置情報」(positional information)という概念が、1969年にWolpert¹⁾により提出された。位置情報というのは生体内での個々の細胞の相対的位置関係を与える情報であり、形態形成過程において個々の細胞は、その位置情報に応じて自己の遺伝子から伝えられる遺伝情報を解釈して、様々な分化を起こすと考えられている。

この位置情報の実体の解明を目的として、2種類の異なる理論モデルが提出された。1つは反応拡散モデルと呼ばれ、Turing²⁾が1952年に初めて提出

平成元年12月15日受理

* 情報システム工学研究所講師

したもので、反応拡散系におけるチューリング不安定性を基礎とするものであり、2種類以上の形態形成因子 (morphogen) が自己・相互触媒反応を起こし、拡散により系内に広がることにより、形態形成因子が系内で不均一な分布を形成し、それが位置情報になるというモデルである。もう1つは Goodwin と Cohen³⁾ により1969年に提出された phase-shift modelで、これは様々な細胞に広く見られる周期現象に注目したもので、異なる速度で伝播する2つの周期事象の位相の差が空間内で分布を形成し、これが位置情報を与えるとするモデルである。

ヒドラは、形態形成研究におけるモデル系として古い歴史を持つ生物である。ヒドラは簡単な体制をしており、再生力が強いことで有名である。頭部と足部を切り落としても、ヒドラは数日で頭部と足部を再生する。この再生の過程では、必ず頭部は元の頭部側に、足部は元の足部側に形成される。即ちヒドラは体軸に沿って強い極性を持っている。

この極性を作り出す機構に関しては現在のところ余りはっきりとは分かっていない。しかし一方では、極性は反応拡散機構により体軸に沿って分布する拡散物質の濃度勾配により保たれている、という見解を示唆する多くの実験結果が得られている。

また一方では、ヒドラの再生の際の極性の決定には、phase-shift 機構が関与している可能性を示唆する実験事実もある。Goodwin⁴⁾ は1976年に、頭部と足部を除去したヒドラ (*Hydra littoralis*) に電気パルスを加えることにより、その再生過程に強い影響を与え、多くの再生異常を引き起こさせた。再生異常はある限られた周期 (周期150秒) の電気パルスによってのみ起こるということから、ヒドラにおいては何等かのペースメーカーが働いている可能性が考えられる。

本研究では、この Goodwin の研究結果に基づき、更に周期信号とヒドラの頭部再生との関係を調べるために、より頭部再生に対する影響が現れやすいと考えられる、頭部再生能の低い日本産チクビヒドラの突然変異系統 reg-16を用いて、周期的電気パルスの頭部再生における影響を調べた。

2. 実験材料及び実験方法

2. 1 使用した系統と飼育方法

本研究に用いたヒドラは、日本産チクビヒドラ (*Hydra magnipapillata*) の突然変異系統 reg-16である。reg-16は特に頭部再生能が低い系統であり、頭部を切除した場合、全体の20%程度の個体しか頭部を再生しない⁵⁾。しかし足部再生や出芽はほぼ正常である。この reg-16の親から分離した個体10匹程度を150ccの飼育水を入れた200ccのビーカーで飼育し、この中から最初の芽体突起を有するもの (standard-polyp) を実験材料として選出した。

2. 2 周期的電気パルス刺激方法

前述の standard-polyp の体軸に沿った部位に、図 1 に示すように頭部から出芽帯までを 4 等分して、頭部側から順に 1 から 3 までの番号をつける。1 の部位で頭を切除し、更に足盤を除去した個体に対して図 2 に示すように直径 0.05mm の白金電極を通じて、元の頭部側あるいは元の足部側からパルス刺激を行った。用いた電気パルスは電圧が 1.5 V、パルス幅が 150 msec. の直流パルスであり、パルスの周期をパラメータとして変化させた。24 時間にわたる刺激の後、電極から個体を外し、飼育水を入れた別々のシャーレに移して 7 日間にわたって 1 日 1 回頭部再生の様子を観察・記録した。全ての飼育と実験は、 $18 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保った恒温室内で行った。

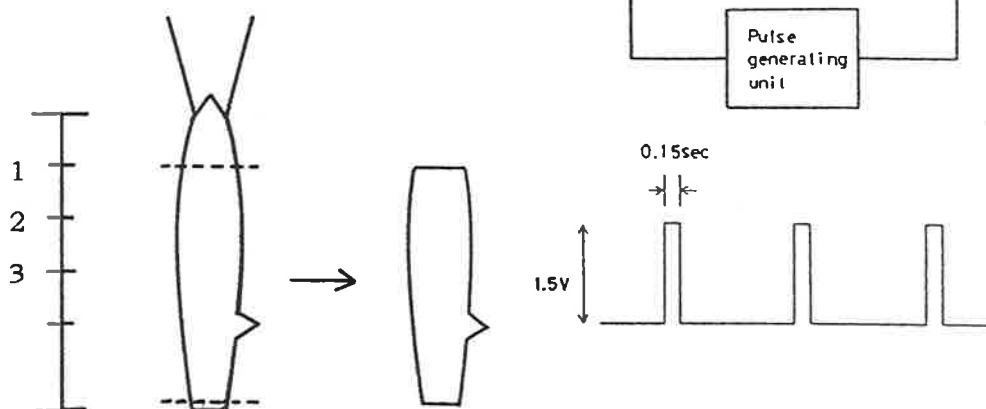


図 1 電気パルス刺激用個体

図 2 電気パルス刺激方法
(足部側刺激)

3. 結果

3. 1 reg-16の頭部再生能

日本産チクビヒドラの標準野生系統 105 と突然変異系統 reg-16 の頭部再生能の違いを図 3 に示す。これは部位 1 で頭部を切除した個体 15 匹について、頭部切除後 7 日間にわたって 1 日 1 回再生した触手の本数を観察記録し、その平均値の時間変化を示したものである。105 の場合は、頭部切除後 2 日目で既に元とはほぼ同じ本数の触手を再生しており、その後徐々に触手の数は増加していき、7 日目においては元の約 1.5 倍もの触手が再生している。これに対し reg-16 の場合は、4 日目までは殆ど触手は再生せず、7 日目においても元の約 1/10 の本数の触手しか再生していない。

3. 2 reg-16の頭部再生に対する周期的電気パルスの影響

図4に周期的電気パルス刺激のreg-16の頭部再生に対する影響を示す。電気パルスの影響は、電気パルス刺激終了後6日目における平均の触手の本数で表してある。controlとは、24時間頭部側あるいは足部側に電極を刺したただけで、電気パルス刺激は行わなかった場合である。

図から分かるように、頭部側刺激では周期30秒付近で再生触手本数の著しい増加がみられる。これに対し足部側刺激では、再生触手本数の変化は余りみられない。また何れの刺激でも再生異常は発生しなかった。この結果からreg-16の頭部再生には周期30秒付近の周期信号が関与している可能性が示唆される。

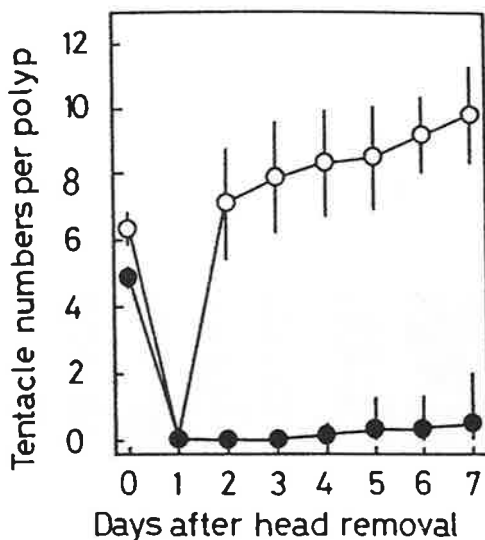


図3 105とreg-16の頭部再生能の違い
(○: 105、●: reg-16)

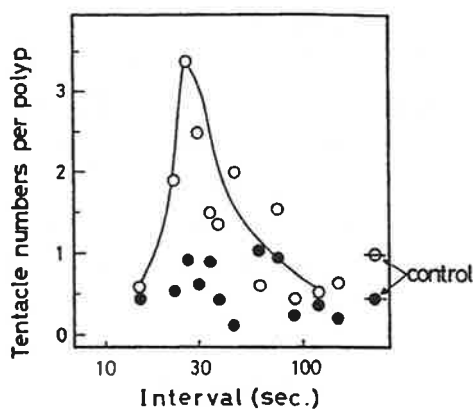


図4 周期的電気パルス刺激のreg-16の頭部再生に対する影響
(○: 頭部側刺激、●: 足部側刺激、control: 24時間電極刺入無刺激)

4. 考察

H. littoralis における周期150秒の足部側電気パルス刺激による再生異常の結果や、本研究における reg-16の周期30秒付近の頭部側電気パルス刺激による頭部再生力の回復という結果から、ヒドラの頭部再生には何等かの周期信号が関与している可能性が考えられる。

そこでこれらの結果の、前述の phase-shift model を用いた解釈を試みる。まず頭部付近から発生して足部方向に伝播する周期信号により、ヒドラの極性が維持され正常な再生が起こるという仮定をおく。即ち phase-shift model におけるペースメーカーが、ヒドラの頭部付近に存在すると考える。Goodwin は、*H. littoralis* の極性変化を phase-shift model を用いて次の

ような解釈を行っている。電気パルス刺激による極性変化では、足部側刺激の方が頭部側刺激に比べて効果が大きかったということから、足部側刺激は通常の伝播の方向と逆行するためにその伝播が妨害され、結果として極性の変化が生じたという解釈である。そこで本研究における reg-16 の場合では、reg-16 は元々周期信号の発生機構あるいは伝播機構に欠陥があり、頭部を切断すると周期信号の発生・伝播が正常に行われなくなるために頭部を再生できないのであるが、頭部側電気パルス刺激を行うと、その周期がペースメーカーの周期と近いときは、その刺激が信号の正常な伝播を助けることになり極性が正常に維持され、頭部を再生することができるようになる、と考えることができる。

このような機構が実際にヒドラの中で作用しているかどうかを確かめるためには、何等かの周期信号がヒドラから検出される必要がある。ヒドラにおいては体の収縮の際に、Ca イオンがパルス状に細胞内に流れ込むことが知られている。そこでガラス微小電極を用いて、reg-16 の再生体内の電気信号の測定を行ってみた。その結果 reg-16 からは周期的な電気パルスが発生しており、再生しない場合はその電気パルスの発生頻度が低くなる傾向にあった。しかし周期30秒付近の信号は測定できなかった。

一方 Marcum⁶⁾ 等により、薬品によって人工的に神経細胞を完全に除去したヒドラが作られている。このヒドラは自力では収縮することができないため、前述の神経細胞由来の収縮電気パルスは自発的には発生しない。しかしこのヒドラは正常に再生を行うことができるということから、収縮電気パルスは再生には直接は関与していない

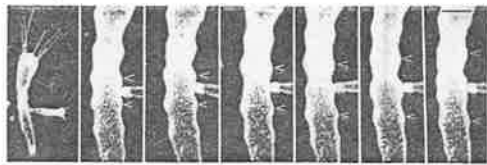


図5 神経無ヒドラ (*H. attenuata*) における内胚葉の収縮波の伝播
(bar=0.5mm、1分間隔、文献7より転載)

ということが考えられる。更にこの神経の無いヒドラ (*Hydra attenuata*) の様子が、Campbell⁷⁾ により微速度写真撮影装置を用いて観察され、図5に示した様な神経細胞によらない内胚葉自身 (筋肉繊維は環状に伸びている) の収縮の波が伝播していく様子が明らかになった。その周期は数分で、伝播速度は10~100 $\mu\text{m}/\text{min}$. であった。このように神経の無いヒドラでも再生することができるということから、この内胚葉の収縮の波の伝播が再生に関与している可能性が十分に考えられる。

そこでこのような収縮の波が通常の神経を有するヒドラでも発生しているのかどうかを調べるために、reg-16 の再生体を微速度撮影ビデオを用いて撮影してみた。その結果、reg-16 においても前述の内胚葉の収縮の波の伝播が観測され、更に頭部再生が起こらない場合はその収縮の波の発生が次第に減少していき、遂には全く発生しなくなっていた。この結果から、この内胚葉の収縮の波がヒドラの頭部再生に関与している可能性が示唆される。そ

ここでこの内胚葉の収縮の波の更に詳しい解析（画像処理等による）を行うことにより、ヒドラの頭部再生機構に関する理解がより深まることが期待される。

5. おわりに

頭部再生能の低い突然変異系統 reg-16 に対して周期的電気パルス刺激を行った結果、周期30秒付近の頭部側刺激により著しい頭部再生能の回復がみられた。従って reg-16 の頭部再生には、周期30秒付近の何等かの周期信号が関与している可能性が考えられる。

参考文献

- 1) L.Wolpert, J. Theor. Biol., 25, 1 (1969).
- 2) A.M.Turing, Phil. Trans. Roy. Soc. B, 237, 37 (1952).
- 3) B.C.Goodwin and M.H.Cohen, J. Theor. Biol., 25, 49 (1969).
- 4) B.C.Goodwin, In: "Analytical Physiology of Cells and Developing Organisms", Academic Press, pp 150 (1976).
- 5) T.Sugiyama and T.Fujisawa, J. Embryol Exp. Morph., 42, 65 (1977).
- 6) B.Marcum and R.D.Campbell, J. Cell Sci., 29, 17 (1978).
- 7) R.D.Campbell, In: "Developmental and Cellular Biology of Coelenterates", Elsevier/North-Holland Biomedical Press, pp 421 (1980).