

氏名 村 手 源 英

学位（専攻分野） 博士（理学）

学 位 記 番 号 総研大甲第205号

学位授与の日付 平成8年3月21日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学専攻
学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 ヒドラのエピボリーにおける上皮組織の超微細構造

論文審査委員 主 査 教 授 今 村 孝
教 授 中 辻 憲 夫
教 授 桂 勲
教 授 江 口 吾 朗
助教授 城 石 俊 彦

論文内容の要旨

淡水産の腔腸動物チクビヒドラは、単純な体制をもつ。その体は、筒状の体幹部とその上端の頭部、下端の足部からなる。体幹部は、細胞外基質に相当するメソグリア（中部）をはさんで、自由空間に面して1層に並ぶ外胚葉上皮層と、腔腸に面して1層に並ぶ内胚葉上皮層からなる2層性上皮構造からなる。また、ヒドラは、強い再生力をもつ。頭部や足部を除去しても、数日以内に元と変わらない頭部や足部が再生される。この再生過程は、3つの段階に区分される。最初は、傷口の修復とそれに伴う2層性上皮構造の回復である。2番目は、パターン形成過程であり、3番目は、形態形成過程である。

私は、再生の第1段階としての傷口の修復、とくに、いったん連続性を消失した2層性上皮構造の再形成過程に注目した。上皮構造の形成と維持は後生動物全般にわたって発生の基本となる重要な過程である。それにもかかわらず、これまでになされたヒドラ再生の研究において、上皮構造がどう変化するかという視点が欠けていた。その一方、再生においては外胚葉上皮層を構成する外胚葉上皮細胞と内胚葉上皮層を構成する内胚葉上皮細胞が、第1義的に重要であることがわかっている。しかし、再生の過程でそれぞれの上皮細胞がどういう役割を果たすのか、また、お互いにどういう相互作用をするのかについては明らかでない。その理由の一つは、これら2種類の上皮細胞を区別するための特異的、かつ有用なマーカーが少ないことによる。そこで私は、形態学的手法を用いてこれらの問題を明らかにすることを考え、実験系としてヒドラのエピボリーの系（岸本、1995）を用いた。ヒドラの体幹部組織をプロカインで処理すると、外胚葉上皮層と内胚葉上皮層に分離することができる（Eppら、1979）。分離した外胚葉組織を6-8個の断片に切り分け、そのうちの1個を分離内胚葉組織の上に置くと、両者はすみやかに強固に接着し、外胚葉組織片は、その下縁から薄くなって内胚葉を覆いはじめた。やがて、外胚葉は内胚葉を完全に包みこみ、球型の構造体を形成した。この構造体は、2-3日後に完全なヒドラに再生した。この方法は、あらかじめ外胚葉上皮層と内胚葉上皮層が明確に分離されているため、両胚葉上皮細胞のそれぞれの役割と、それらの間の相互作用を明らかにするよい実験系であると考えられる。そこで私は、プロカインによる両胚葉の分離、接触から外胚葉が内胚葉を完全に包みこむまでの過程（エピボリー）の間に起こる細胞の形態的变化を、光学顕微鏡、走査型および透過型電子顕微鏡を用いて観察した。

その結果、外胚葉はエピボリーの全課程を通して単層上皮構造を保っていると考えられた。それは次のような観察に基づく。外胚葉上皮細胞の表面は粘液で覆われ、細胞質の表層部には粘液顆粒が集積していた。隣り合う外胚葉上皮細胞同士は、上端面の近くで中隔結合を作って接着していた。内胚葉に接した外胚葉上皮細胞の基底側に筋フィラメントの集積が見られた。これらの特徴は、本来のヒドラの外胚葉上皮細胞のそれと基本的に一致する。一方、内胚葉は、いったん単層上皮構造を壊して乱雑な細胞塊を形成し、その後、新たな上皮構造を作り直した。外胚葉から分離直後の内胚葉上皮細胞は、上端面近くで中隔結合をつくって接着した。細胞内にきわめて大きな空胞をもち、基底側では筋フィラメントの集積がみられた。しかし、外胚葉との接触後数時間で内胚葉は上皮構造を壊して乱雑な細胞塊となり、細胞基底側にあったメソグリアをその中に取り込む。内胚葉塊を構成する上皮細胞は、繊毛や微繊毛を消失し、細胞内の空胞や筋フィラメントも消失し、周囲

の細胞と乱雑に接着した。腺細胞も上皮細胞と同様に、繊毛や微繊毛を消失し、周囲の細胞と乱雑に接着した。その後、内胚葉は、外胚葉に接したごく一部の細胞だけが単層の細胞層を形成した。この細胞層を構成する内胚葉上皮細胞は、上端面から繊毛や微繊毛を伸ばさず乱雑な細胞塊に接しているものの、円柱状構造となり、隣り合う細胞同士側面で接着した。細胞内に小さな空胞を持ちはじめ、外胚葉との接着面に面した一部の内胚葉は、それと反対側に形成された空胞に面した上端面から繊毛や微繊毛を伸ばし、本来のヒドラの内胚葉とほぼ同じ単層円柱上皮構造を形成した。

本研究において初めて、2層性上皮構造の再形成過程における外胚葉と内胚葉の上皮構造の安定性の違いが明らかになった。外胚葉は、上皮構造を常に維持、安定させておくことができるが、内胚葉の上皮構造はきわめて不安定であった。この内胚葉上皮構造の不安定性が、ヒドラの再生力の強さと深く関わっていると考えられる。また、内胚葉上皮構造の再構築は、外胚葉に接していた内胚葉上皮細胞でのみ始まったことから、外胚葉が内胚葉の上皮構造の維持のみならず、再構築にも重要な役割を担っていることが示された。これまで、外胚葉上皮細胞と内胚葉上皮細胞の間に働く相互作用については全く知られていなかったが、今回、初めて形態学的見地から解析することができた。

論文の審査結果の要旨

腔腸動物ヒドラは2胚葉動物であり、その単純な体制は筒状の体幹部と上部の頭部、下端の足部とからなる。体幹部は、メソグリア（中層基質）を基底層として、自由空間に面して一層に並ぶ外胚葉上皮組織と、消化管に相当する腔腸に面して一層に並ぶ内胚葉上皮組織とから構成されている。ヒドラの体幹部・横断切片をプロカインで処理することによって、外胚葉上皮組織と内胚葉上皮組織を分離したあと、再度、両組織切片を接触させると、外胚葉組織は薄い細胞層として内胚葉組織の上に徐々に広がりはじめ、やがて内胚葉組織全体を包みこむ。その後、頭部と足部を持つヒドラに再生する。

出願者は、この外胚葉組織が内胚葉組織上に広がり包みこむ過程（エピボリー）における両胚葉組織細胞の相互作用と微細構造上の変化を光学顕微鏡、走査型ならびに透過型電子顕微鏡を用いて追跡し、両胚葉組織がともによく似た上皮構造をもちながら、再生過程では非常に異なる特性を示すことを明らかにした。外胚葉上皮組織細胞は、エピボリー過程の初期から終期までの間、内胚葉細胞との接触面を広げるように扁平化し移動しながら、常に一層に並ぶシート状構造を維持する。一方、内胚葉上皮組織は、はじめシート状構造を持っていたものが、中期において一度、この上皮組織構造が失われ、上下の極性をもたない不定形細胞の細胞塊に変化する。その後、内胚葉組織細胞は徐々に広がる外胚葉層との接触面で再び一層に並び、やがて内・外胚葉細胞の間にメソグリアが出現し、終期にはそれを基底層とするヒドラの内・外上皮組織構造が回復する。内胚葉上皮細胞が上皮組織構造を失い、細胞塊状態にある時期は比較的短い。この状態は再生力の強い両生類の四肢再生組織の先端にみられる再生芽組織（プラステマ）と類似しているところから、内胚葉上皮細胞のもつ上皮組織構造の脱構築・再構築特性が、ヒドラをつよい再生力と密接に関連していることが考えられた。

本研究は、ヒドラのエピボリー再生系の微細構造の変化を経時的に観察した結果、上皮構造の再生過程と安定化には、内外上皮組織細胞の特性とともに、それら細胞間の接着と相互作用がつよく関わることを明確に示した。これらの実験結果は、ヒドラのエピボリー・再生過程のみならず、ひろく初期発生における上皮組織の構築と安定化ないしは形態形成過程に関する発生学研究領域に興味ある新知見をもたらしたと考えられ、博士論文として相応しい内容をもつものであると審査員全員で一致して判断した。

試験結果

博士論文審査は、公開セミナーならびに質疑応答と審査委員による面接試験により行った。出願者は、ヒドラのエピボリーの実験方法と結果に関する考え方、形態形成の研究モデルとしてとらえたとき、この実験系の利点と制約、内外胚葉細胞の運動のしくみ、筋フィラメント生成の時期、上皮構造の構築と再生過程におけるメソグリアの役割と意義、などについての質疑に対して、自らの観察結果にもとづいて、また、研究対象や方法論上の制約にも理解をしめしながら適切に応答した。

なお、この研究成果は3編の英文原著論文として公表されることになっており、そのうち1編はすでに印刷され、本人筆頭の論文2編は投稿中である。これらを審査した結果、英語学力は博士学位に相当する水準に達するものと思われた。