

## イトマキヒトデ発生の特徴

白井浩子\*

## 1. はじめに

イトマキヒトデ (*Asterina pectinifera*) の発生を、いろいろな観察や実験を通して紹介する。このヒトデは日本各地で産卵期が異なり、ほぼ年間通して実験が可能である(神奈川5月, 三重6月, 広島・山口8月, 青森9月, 鹿児島11月, 岡山12月)。卵はほぼ球形で直径150-180  $\mu\text{m}$ , 透明で未成熟卵は卵核胞 (germinal vesicle, GV) をもつ。未成熟卵, 成熟卵 (未受精卵), 受精卵を任意に扱うことができる。これは, 生殖巣刺激物質 (GSS) および卵成熟誘起物質 (MIS) の作用による卵成熟や排卵の機構が詳しく解明されていて, GSS や MIS を誰でも容易に使用できることによる。他にも生殖細胞・生殖巣の分化, 後期発生などいろいろなテーマで観察や実験がなされている。

紙数に制限があるので個々の文献は割愛した。より詳しく知りたい場合には, 岡山大学牛窓臨海実験所業績 (vol.34, no.385, 1996) を参照されたい。なお, 本論文の図番号は, この文献中のものと同一である。今回は主として初期発生の特徴をまとめ, 脊椎動物のそれとの共通性を強調しつつ, 多様な動物発生についての統一的理解の一助にしたい。

正常発生は, 20°Cで次の通りである。受精14時間で受精膜内にて回転の開始。14.5時間孵化(受精膜から脱出)。17時間原腸形成の開始。細胞数は孵化直後の胞胚で3,500個, 初期囊胚4,500個, 中期囊胚5,300個, 後期囊胚7,700個, 初期ビピンナリア10,000個。受精2日で幼生が開口して初期ビピンナリア(遊泳幼生)になり, 以後, 珪藻を餌として飼育が可能。卵バッチにもよるが3-4週でプラキオラリア(匍匐幼生)になり, 5-6週で変態。その後の長期飼育も可能で, 餌も工夫されている。変態後の体内構造の発達は, 生育令よりも稚ヒトデのサイズ(直径)により予測が付き, 10mmで生殖巣が形成され, 30mmで雌雄の区別がつく(雌生殖巣には直径30  $\mu\text{m}$ 以上の生殖細胞が認められるようになる)。

## 2. 卵割というもの

未成熟卵 (GV卵) のGVは一局に偏り, そこを目印にどの表層も任意に生体染色でマークを施せる。GV

に最も近い表層およびその反対側にマークした場合, その卵を発生させた原腸胚でマークがそれぞれ遊泳方向の前端もしくは原腸陥入部に認められる。従って, 卵時代にすでに動物極 (GV偏在側), 植物極の別があること, これが卵割を通して維持されることがわかる(図1)。割球は初め接着性が乏しく, 受精膜を除いてから, 割球を分離したり(後述), いくつかの卵や割球を接触させて培養できる。卵割の進行に連れ増えた割球は基盤上で一層をなし, やがて接着性が増してひとまとまりの細胞シート(上皮構造)を構成し, さらにシートが閉じ胞胚様になり発生が進行する。

また, 後述のように卵の一部を一旦切断し, 切断卵片を電気的に融合して卵を再構成させられる。この際, 片方の切断卵片を色素などでマークしておく融合後, それぞれの細胞質を区別して追跡できる。驚いたことに融合後, 両卵片の細胞質は混合することなく卵割が進行する。細胞質は細胞骨格やオルガネラや膜系が充実して在り, 液状態で構造物が散在しているようなものではないと理解される。こうして卵割はヒトデでは,

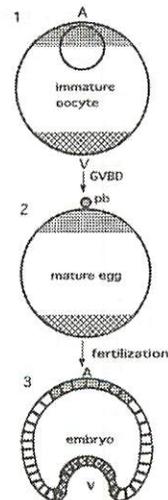


図1: 卵母細胞の生体染色。卵母細胞(1)の極(もしくは任意の部域)をナイルブルーと中性レッドで染めて発生させるとそれぞれの染色マークが卵(2)や胚(3)の極に認められる。

Hiroko Shirai

: Properties of starfish eggs and larvae.

\*岡山大学理学部附属臨海実験所

予め配置された細胞質が乱されずに新しい細胞膜形成が起こって卵が区画化され、結果として異なる細胞質を含んだ異種の細胞が出現する過程と捉えられる。この点は、昆虫卵の細胞性胞胚形成における細胞膜形成が、やはりあらかじめ卵に備わる因子（遺伝子nanosやbicoidの産物）の配置を乱さずに進行する過程に匹敵するものとみなされよう。これに対して哺乳類では、卵割初期に形成された割球間には差異が認められない。

### 3. 卵の動物極、植物極の特性

卵を動・植物極を分離するように2分し（細いガラス針で卵を切る）、分離された各々の半卵片を発生させる（図5および図6の1）。動物極半卵片はいわゆる永久胞胚になり、およそ5日で死ぬ。植物極半卵片は発生が継続し、変態も可能である。卵の植物極から全卵の7-15%を除去して発生させると永久胞胚になる。植物極に、原腸形成の決定因子（determinantの意味でDとよぶ。発生進行に必須。Dをもつ細胞は自律的に原腸を構成し、つづいて中胚葉や間充織になる）が局在することが示唆される。

動物極半卵片由来の細胞群に、別の割球を添えて発生させるとき、それがDを含む場合のみ、やがて原腸陥入が起こり、かつその後の発生も進行する。このように、或る割球（被検定割球）がDを持つかどうかを検定できる（図6, 7）。8細胞期の植物割球を被検定割球（生体染色しておく）とした場合、試みの97%は原腸形成して、その原腸近傍の外胚葉、原腸の全域および原腸から由来する食道、胃、腸、体腔囊、間充織細胞が染色陽性であった。16細胞期もしくは32細胞期の植物割球を被検定割球にした場合は試みの70%が原腸形成し、永久胞胚の場合は残り30%は永久胞胚になった。どこか一領域にまとまって染色陽性の細胞群が認められた。これは動物極割球を検定した場合と同様であつた。

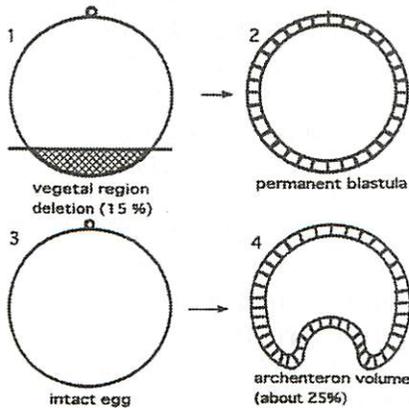


図5：卵母細胞の植物極の除去。7-15%除去で原腸形成が起こらなくなり、永久胞胚となる。

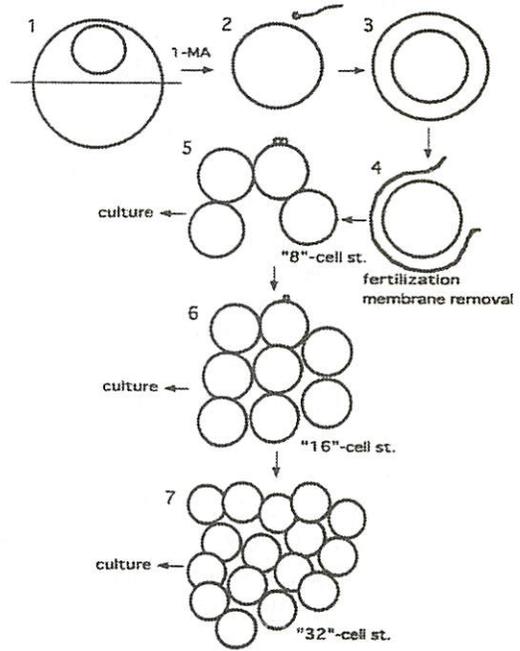


図6：動物極半卵片由来の細胞群の準備。卵母細胞の植物極半を除去して発生させる。

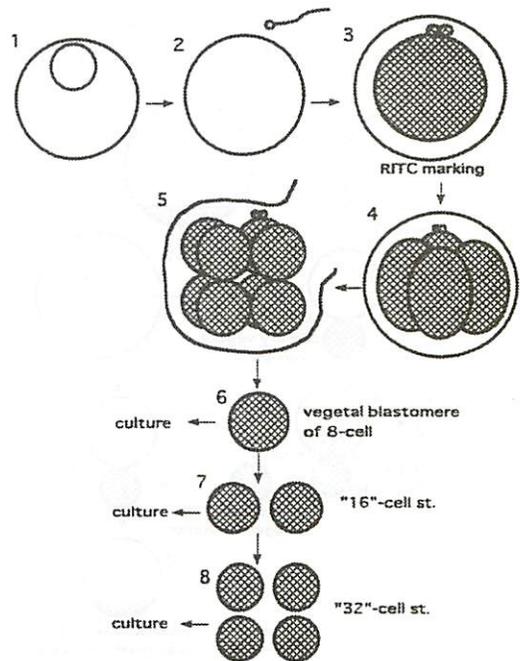


図7：検定細胞の準備。8細胞期に割球を分離して、任意の割球を選ぶ。RITC：ローダミンイソチオシアネート（生体染色用色素）

た。従って8細胞期はもちろん、16細胞期や32細胞期の卵割でも、外観上区別はできないがDを受け継がない細胞も出現することがわかる。自らDをもち、もはや外胚葉になる細胞を産まない細胞をD細胞とよぶ。

細胞融合法によって、Dが細胞表層域に濃縮していることが次のようにしてわかる(図9)。ナイルブルーを用いて主として卵表層にある顆粒を生体染色できる。受容体としての動物極半卵片にこれよりも小さい卵片(1次小卵片とよぶ。生体染色マークしておく)を融合するときは、融合直後の2球体状の時期に、必ず1次小卵片から内部細胞質が大卵片に流入する(両側の卵片の球径測定により、小卵片の卵径が一旦小さくなることでわかる)。このこと自体は、卵片作成につれて卵の細胞膜に張力がかかり、これは卵片が小さいほど大きいこと、かつ、このために融合と同時に流動可能な細胞質が張力の小さい側に押し込まれることによるものと理解される。この内部細胞質が流入し、かつ、まだ表層域が2球状である時に再び両卵片の融合面を切断でき、分離した小卵片を2次小卵片とよぶと、これには1次小卵片時の表層域のほとんど全部が残っている。この2次小卵片を改めて別の動物極半卵片に融合することができる。このようにして、植物極の小卵片から内部細胞質だけを受け取った再構成卵(内部のみ、とよぶ)と、内部細胞質の残りとも表層域の全部を受け取った再構成卵(内部と表層域)との発生を原腸形成能について調べると、内部のみの場合は原腸形成のためには全卵体積の10%以上の流入が必要

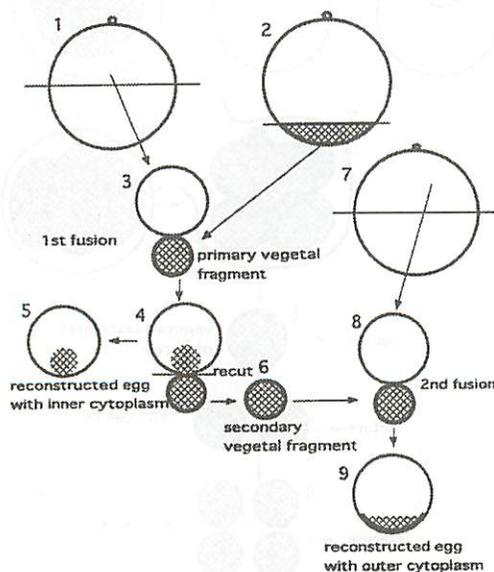


図9: 植物極表層域に濃縮して存在するD。植物極細胞質を切断して作成した1次卵を一旦動物極半卵片に融合させ、再び切断分離し、新たな動物極半卵片に融合する手順を示した。

であるのに対し、内部と表層域の場合(2次小卵片体積)は全卵の5%以下であった。従ってDは、表層域に濃縮していると理解される(図9)。

#### 4. 動物極側の細胞に対するD細胞の誘導作用

動物極半卵片由来の割球集団に対して少量のD細胞(マークを持たせる)を接して培養すると原腸形成が起こるが、マークは原腸の先端域のみに認められ、形成された原腸の殆どは動物極半卵片由来の細胞からなる。正常発生では動物極半球由来の細胞は外胚葉を構成するので、D細胞が予定外胚葉細胞に誘導作用を発揮し予定運命を変更(外胚葉から原腸へ)させたことがわかる。正常発生では、原腸域の体積割合はおよそ全卵の25%である。また前述のように卵の植物極7-15%切除で残された動物極側卵が原腸形成できなくなるので、残された領域にはDが無いとみなし得る(図5)。従って正常発生の原腸域細胞のうち、Dをもたない細胞の体積割合は10-18%と算定され、これらの細胞はD細胞に接触され誘導を受けて原腸細胞になると理解される。

#### 5. 卵のもつエネルギー的余剰

前述のように分離された動物極半卵片は胎胚構造までしか発生せず、およそ5日で死亡する。正常胚において動物極半球由来の外胚葉の細胞は当然死なずに然るべき分化を示すので、中胚葉もしくは内胚葉との相互作用が外胚葉細胞の生存に必須であることがわかる。これに対して、動物極域を除去された植物極側卵片の発生は、初期において正常胚に比べて口域が小さいが、ブラキオラリア期にはほとんど正常胚と変わりが無く、変態もして稚ヒトデになる(図12)。従って、動物極半球域(Dをもたぬ細胞質域)は発生に必須でないことがわかる。ただし、D細胞の誘導作用を受けるもの(運命が外胚葉から原腸域の細胞に転換)および誘導を受けずに予定運命のまま外胚葉になるものとして、Dを含まぬ細胞質は一定量存在しなければならない。このようにヒトデ卵の体制は、ともに必須である2極を備えた軸構造とはみなせず(ウニの二重勾配説と異なり)、Dの局在とそれ以外という一局センター型とみなし得る(図13)。発生の進行に連れ後成的に軸構造が形成されると理解される。モザイク性の強い種(前口動物に顕著)と甚だしく異なる特徴である。

一方、2細胞期や4細胞期(卵割は経割)に割球を分離してそれぞれを別々に育てると、各々から幼生もでき、変態もする(双子、四つ子の形成)。即ち、DもD以外の細胞質も正常卵に比して、1/4しかなくても発生は変態を含めて全うされる。従って、正常全卵には、必須でない細胞の生存までも支え得るエネルギー的余

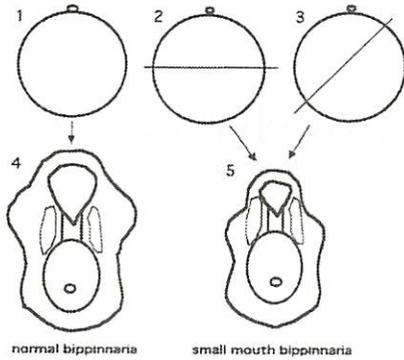


図12：動物極側を除去された卵由来の幼生の形態。初期において動物極外胚葉および口開口域が小さい。

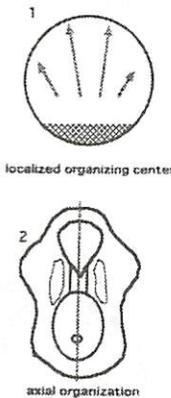


図13：イトマキヒトデ卵の体制。分化が自律的に決定されているのは植物極D域のみなので一局センター構造とみなされる。後成的に軸構造が構築されると理解できる。

剰が備わっていることがわかる。なお、8細胞期（緯割により形成される）に分離した植物極側割球では、ビピンナリアまでにしかならず変態はできない。現生のイトマキヒトデでは発生に必須量のおよそ4から8倍量の余剰を含んだ卵となっていて、発生の中止のような不都合は決して起こらないように保障されていることがわかる。

この点は、直接発生のヒトデとの比較考察において興味深い。直接発生のヒトデの卵は一般に多量の卵黄を含み、サイズが一層大きく、幼生を形成せずに成体が形成される。従って間接種においては現在では幼生の主たる機能が、成体（成体芽としての細胞塊として出現し、育つと変態時に一転して幼生部の大半を消化・吸収する）を養うためのエネルギーの獲得および蓄積にあること、もし成体芽へのエネルギー供給が何らかの手だてでなされるなら幼生形質は退化しうると理解される。直接発生種では、間接発生種の幼生で発現する遺伝子が潜在（劣化もしくは発現調節段階の変更など）していることが予測される。

## 6. ヒトデ幼生の特徴

前述のように変態期になると、成体芽が幼生の大半を消化・吸収する。こうして親の遺産としての卵構造から直接由来する幼生体制（特に外胚葉）は殆ど消化され、成体はその一部から構成される。この事情も、爬虫類やトリアや哺乳類など脊椎動物のそれに匹敵する。周知のとおり、卵殻や子宮を裏打ちする膜構造（漿膜や胎盤）も卵自身に由来するが、胚体にはならない。いずれも防乾機能を含めてエネルギー獲得用の手だてとみなしうる。

口・消化管の形成について、ヒトデは外胚葉と内胚葉の上皮間相互作用の結果として開口し、この点も後口動物に共通の特徴である。興味深いのは触手動物である。このアクチノトロカ幼生ではヒトデと同様、内外の上皮性胚葉の相互作用による開口により消化管が貫通する。ただし食物の流れはヒトデと反対で原口側から入りこれが終生変わらない。刺胞動物や扁形動物では消化管は貫通せず、食物（食べかす）の流れは両方向である。後口動物で、どちらかの流通が退化した経緯があったと見るのがよさそうである。

一方、前口動物（環形や昆虫）の消化管は貫通しているが形成機構が著しく異なる。これは、広く窪んだ原口域を動物極側からの細胞が増えて被うことに依る。即ち、動物極側からの同質の細胞が原口を被いつつ中央域で接着することで両側に空きが残るもので、上皮を構成した外・内胚葉の相互作用の結果としての開口ではない。また外胚葉は卵構造から直接由来しており、頭尾にわたっての分化の必須情報が卵時代の表層に刻印されている。新たに出てくる中胚葉（主として間充織性の細胞。ちなみに、環形動物の血管は従来「閉鎖系」といわれるが、細胞性上皮の血管はない）は、走化性に依り然るべき外胚葉域に定位する方式が形態形成の主要な方式と観察される。かくして昆虫では変態がアオムシ、蛹、成体とどのように目覚しくても、外郭の全ての局所が元を質せば直接的に卵の各局所に対応する。親の遺産としての卵成分の不均一配置が全生活史を規定し、この規定は前口動物において連続と継続するので、この類の発生にとって本質的なもの（エネルギー代謝と供役したもの）と捉えられる。

前述のようにイトマキヒトデ卵は、エネルギー的余剰を含んだ一局センター型である。中胚葉細胞を規定するDが卵に局在する事情は、カエルなど脊椎動物（親に胎盤で寄生する哺乳類を除き）に似ている。分化の主導権は誘導源としてこの中胚葉（形成中心、両生類では形成体）にある。卵の余剰蓄積についての相違が前口・後口動物でどのような契機で備わり、以後どのように特殊化したか、さらにゲノムDNA増量の経緯とどのように関係するか、発生学、進化学の課題は多い。