

ヤマトタマヤスデ *Hyleoglomeris japonica* における濾胞上皮の形態学的研究

千頭 康彦 (筑波大学 生物学類) 指導教員：八畑 謙介 (筑波大学 生命環境系)

背景および目的

昆虫類や多足類などの節足動物では、卵母細胞が体細胞の上皮に囲まれている。この上皮組織は両分類群で形成過程や構造が異なるが、どちらも共通して濾胞上皮と呼ばれている。昆虫類では比較形態学的研究から、濾胞上皮の構造や機能は上位分類群間で異なっており (Jedrzejowska et al., 2014)、濾胞上皮の構造および機能を解明することは昆虫の進化に関するテーマの 1 つになっている。

一方で、多足類の濾胞上皮については、唇脚綱 (e.g., Miyachi & Yahata, 2012) や 倍脚綱 (e.g., Kubrakiewicz, 1991) に組織学的研究および微細構造学的研究があり、濾胞の構造に共通した特徴が見出されている。しかしながら、これまでに知見のある分類群は限られており、また、機能面については推測の域を脱していない。すなわち、多足類の濾胞上皮に関する知見は、その構造および機能の多様性や共通性の議論を進めるには未だ不十分である。このような状況の中で、本研究で用いたヤマトタマヤスデはこれまでに卵巣構造に関する組織学的研究が行われており (Yahata & Makioka, 1997)、その過程で濾胞上皮の一部に他の領域とは異なる特徴を持つ特殊な領域が発見されている (Yahata unpublished data)。このような濾胞上皮の特殊な領域の存在は、他の多足類では知られていないが、多足類における濾胞上皮の機能を探るうえでの足掛かりの 1 つになると期待される。

そこで、本研究ではヤマトタマヤスデの濾胞上皮およびその一部の特殊な領域における形態学的特徴および機能の解明を目的とした。

材料および方法

ヤマトタマヤスデ *Hyleoglomeris japonica* Verhoeff, 1936 (倍脚綱タマヤスデ目) (図 1) を 2014 年 5 月から 11 月にかけて茨城県と宮城県で採集した。生理食塩水またはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中で成体雌から背板と消化管を取り除き、卵巣を摘出して、以下の方法により観察した。

1. パラフィン連続切片法および樹脂切片法

試料をブアン氏液または 4% パラホルムアルデヒド (PFA) 溶液で固定し、パラフィンまたは親水性樹脂 (Technovit 7100) に包埋後、切片を作製した。切片はヘマトキシリン-エオシン染色を施し、光学顕微鏡で観察した。

2. 蛍光染色法

試料を 4% PFA 溶液で固定後、核を YOYO-1 で、アクチン繊維を Phalloidin でそれぞれ染色し、蛍光顕微鏡で観察した。

3. 免疫抗体染色法

試料を 4% PFA 溶液で固定後、5% Skimmilk 溶液でブロッキングを行なった。その後、*Drosophila* の Vasa タンパク質の一次抗体を用いた一次抗体反応および二次抗体反応を順次行ない、DAPI を用いて核を染色して、蛍光顕微鏡で観察した。

結果および考察

ヤマトタマヤスデの濾胞細胞は核周辺部以外が薄く伸ばされた状態であるが、濾胞が血体腔へ開口する濾胞孔の反対側の濾胞上皮に、他の領域と比べて厚くなった特殊な領域が観察された (図 2)。この特殊な領域は通常の領域と比べて、エオシンで強く染まることから、タンパク質が豊富に存在することが示唆された。また、特殊な領域は他の領域よりも Phalloidin で強く染まることから、アクチン繊維が豊富にあることが示唆された。また、これらの結果および核染色から、特殊な領域は複数の細胞からなる細胞塊であることも明らかになった。

特殊な領域は長径が 70 μm 以上の卵母細胞 (前卵黄形成期前期の中頃) を囲む濾胞上皮において他の領域と明瞭に区別でき、卵形成の進んだ卵黄形成期後期の濾胞上皮でも確認することができた。このことから、この特殊な領域は卵形成過程のごく初期を除く、ほとんどの段階で卵母細胞の近傍に存在していることが明らかになった。

濾胞上皮の特殊な領域が常に濾胞孔の反対側という特定の位置に存在する点やタンパク質を豊富に有しているという示唆から、この特殊な領域は卵母細胞に対して卵形成に関わる物質を供給する機能を担っている可能性が考えられる。そこで、Vasa タンパク質に着目して免疫抗体染色を行なった。Vasa タンパク質は、ショウジョウバエなどの昆虫では哺育細胞で作られた後に卵母細胞へ輸送され、生殖細胞分化に関わる。また、その変異体では卵形成に障害が生じることが知られている。ヤマトタマヤスデの観察の結果、濾胞上皮では特殊な領域にのみ Vasa タンパク質の分布が認められた。この特殊な領域に Vasa タンパク質が分布していることから、この特殊な領域が卵形成に関する重要な機能を果たしている可能性がさらに高くなった。

今後は透過型電子顕微鏡や *in situ* hybridization などの手法を用い、ヤマトタマヤスデの濾胞上皮における形態学的特徴および機能の解明をさらに進めてゆく予定である。

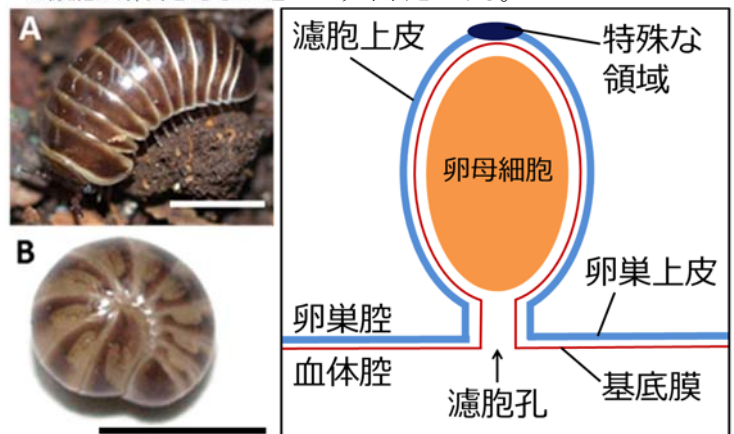


図 1

図 2

図 1. ヤマトタマヤスデ *Hyleoglomeris japonica*. A 通常時. B 防御姿勢. Scales: 10 mm.

図 2. ヤマトタマヤスデの卵母細胞と濾胞上皮の概略図.