

琉球大学学術リポジトリ

イシサンゴにおける組織適合性の発現とその遺伝的制御

メタデータ	言語: 出版者: 日高道雄 公開日: 2009-07-27 キーワード (Ja): 組織適合性, イシサンゴ, キメラ, アロザイム, 自他認識, 刺胞動物, サンゴ キーワード (En): ALLOZYME, CHIMERA, HISTOCOMPATIBILITY, CORALS 作成者: 日高, 道雄, Hidaka, Michio メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/11488

目的

海産の底性無脊椎動物には群体性のものが多くみられるが、群体性の動物は、他の群体と癒合することがあるという点で、単体性の動物と大きく異なる。たとえば無性生殖の結果生じたクローンのイソギンチャク同士を接触させても癒合することはないが、遺伝的に等しいイシサング群体同士を接触させると、すぐ癒合してしまう。一方遺伝的に異なる群体との癒合を防ぐ、群体特異性がホヤやサング、海綿などで知られている。

Hildemann et al (1980)は、イボコモンサング *Montipora verrucosa* の異なる群体からとった破片同士を接触させる実験を行い、一方または両方のサングの組織が、境界部から1から数mmの範囲で死ぬという組織非適合反応を発見した。約1400もの組み合わせのすべてにおいて組織非適合反応がみられたことから、彼らは、イシサングは、脊椎動物の免疫系のように、自分以外の群体はすべて他と認識して拒絶できると考えた。

ところが1985年になって、アイソザイムの電気泳動パターンの異なる、すなわち遺伝的に異なる群体同士でも癒合する場合のあることが数種のサングで報告された(Heyward and Stoddart, 1985; Willis and Ayre, 1985; Resing and Ayre, 1985)。このようにイシサングでも群体性ホヤと同様に、遺伝的に異なる群体をすべて他と認識して拒絶するわけではないことが分かってきた。しかし、遺伝的に異なる群体同士が癒合した場合、そのキメラ群体は将来どうなるのかについてはまだ調べられていない。

イタボヤ類では、群体特異性をコントロールする一对の対立遺伝子のうち一つを共有すれば癒合することが知られている。しかし、遺伝的に異なる群体同士の癒合によって生じたキメラ群体を長期間飼育すると、一方または両方の個虫が吸収されてしまったり、再分離する例のあることを報告されている(Rinkevich and Weismann, 1989; Sabbadin and Astorri, 1988)。このような一時的な癒合はIncompatible fusionと呼ばれる。また個虫が吸収される現象はColony resorption と呼ばれる。

Shenk and Buss (1991)は、群体性のヒドロ虫 *Hydractinia symbiolongicarpus* で、未成熟な時には癒合するものの、成熟後は分離してしまうという一時的癒合の見られる場合のあることを報告している。彼らは、キメラ群体内では、どちらの生殖細胞を形成するかという細胞レベルの競争が起こる可能性があり、一時的癒合という現象は、初期の生存率を高めながら、体細胞乗っ取りを避けるうまいメカニズムであると考えた。

イシサングにおいては、今まで癒合、非癒合、組織非適合の3つの接触反応が知られていた(e.g., Chadwick-Furman and Rinkevich, 1994)が、今回イシサングにおいても不適合癒合または一時的癒合と呼ぶべき現象が見つかったので報告したい。

方法

沖縄本島北部の本部アクアカルチャーセンター前（AC）、瀬底ビーチ（SB）、備瀬（B）、本部橋（MB）、屋部（Y）の5地点からハナヤサイサング *Pocillopora damicornis* の群体を採集し、瀬底島の熱帯海洋科学センター内のサング飼育水槽に運んだ。採集した群体を、2 lのプラスチック容器に入れ飼育し、放出されたプラヌラをオーバーフローする海水ごとプラヌラコレクターに集めた。プラヌラコレクターは、底部はカップ状をしているが、上部側面はナイロンメッシュ（60または180 μ m）で覆われ、プラヌラを濾し集めることができる。採集したプラヌラは別のプラヌラ飼育容器内で飼育し、容器内側面のプラスチックシートに定着させた。定着後、変態した1次ポリプをプラスチックシートごと切り取り、同群体由来のポリプ同士、あるいは異群体由来のポリプ同士を接触させた。接触実験は、2つのポリプが接触するようにポリプの載った2片のプラスチックシートをスライドグラス状に並べ、シリコンチューブとナイロン糸で固定することにより行った(Hidaka, 1985a)。接触反応は、約2週間おきに観察し、さらに写真撮影を行った。一部のポリプペアについては、10%ハイターで処理し、水洗後風乾し、金で蒸着した後に、境界部の骨格を走査電子顕微鏡で観察した。

結果

(1) 接触反応

同じ親群体由来のポリプ同士はすべて癒合したが、異なる親由来のポリプを接触させた場合でも癒合する場合があった。Fig.1Aは異なる親由来の一時ポリプが癒合して1つの群体を形成したものを示す。癒合群体では、共生藻は均一に分布していた。このように癒合した群体を約6ヶ月間飼育したが、その間、2つに分かれたり、組織非適合の兆候を示すことはなかった。このような癒合は安定した状態であると思われる。

Fig.1Bは、非癒合の例で、2つのポリプの組織の境界がはっきりと見える。両群体が境界部に骨格を分泌し、間に骨格の壁ができています。Fig.1Cは、上と同じペアの3ヶ月後の写真である。このように壁が垂直のままであるのは希で、ふつうはどちらか一方が他方を覆うように成長する。非癒合を示したペアは、長期間飼育しても接触反応が変化することはなかった。

Fig.2は、今回非適合癒合 (Incompatible fusion) と呼んでいる反応で、組織は連続しているものの、境界部に共生藻の少ない白い帯域が存在する。この白い帯域は、少しずつ幅が拡大したりペアの一方の方へと移動したりすることがあるが、そのような場合、境界部の白い帯域の近くに出芽した若いポリプが吸収されてしまうことがよく観察される。

Fig.3Aの中央部のポリプは、一部吸収されかかっているが、1ヶ月後には、完全に吸収され、消失してしまった (Fig.3B)。このようなポリプの吸収はイタボヤ類で Rinkevich and Weismann (1987a, b, 1989, 1992) が見つけた colony resorption という現象とよく似ている。群体 AC1 と B2 に由来する

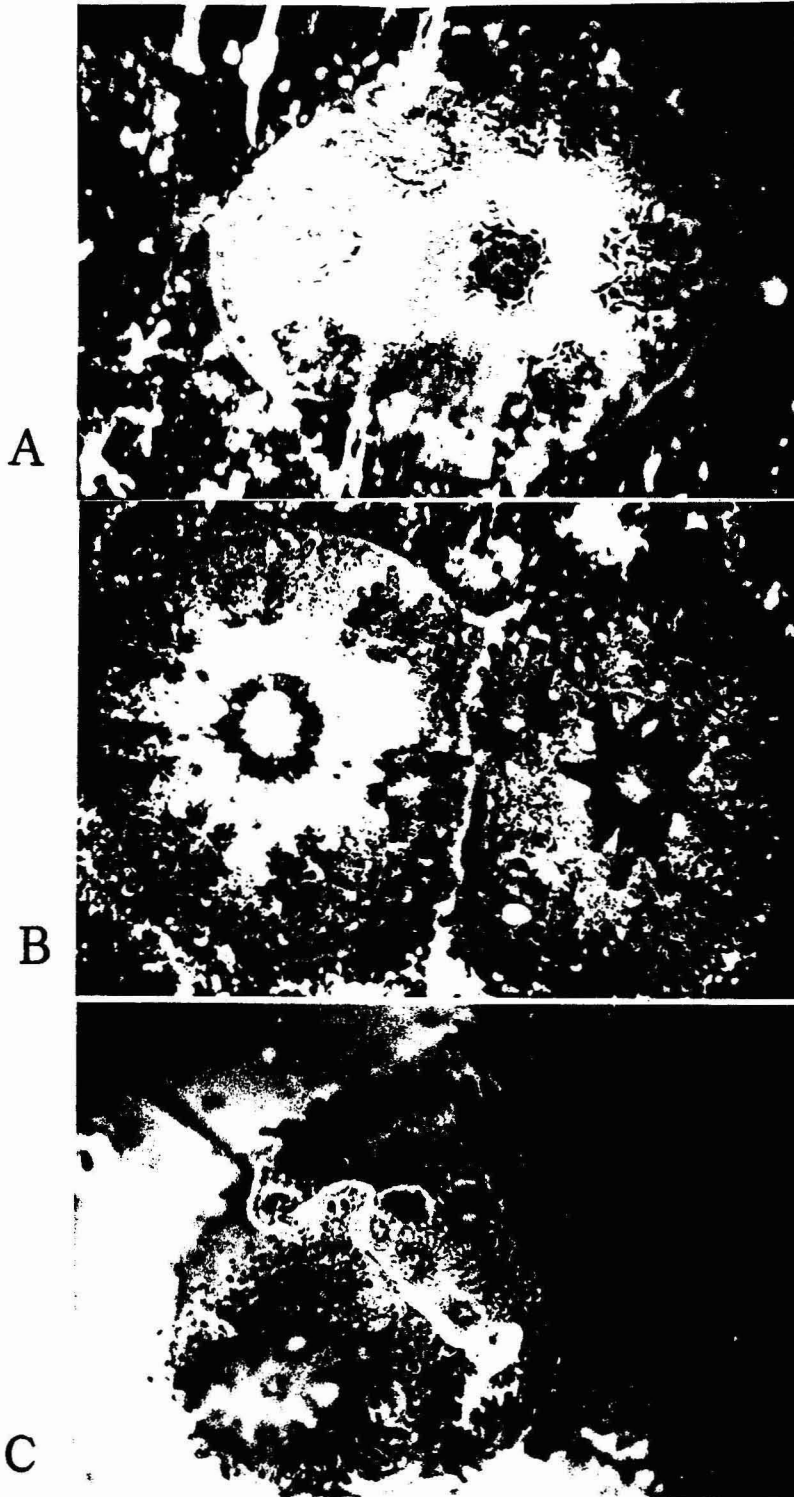


Fig. 1. Contact responses between young colonies derived from different colonies of *Pocillopora damicornis*. **A**, Fusion. **B**, Non-fusion response. There is a clear border line between the paired young colonies. **C**, the same pair as shown in **B** observed 4 months later. A skeletal ridge was formed at the interface.

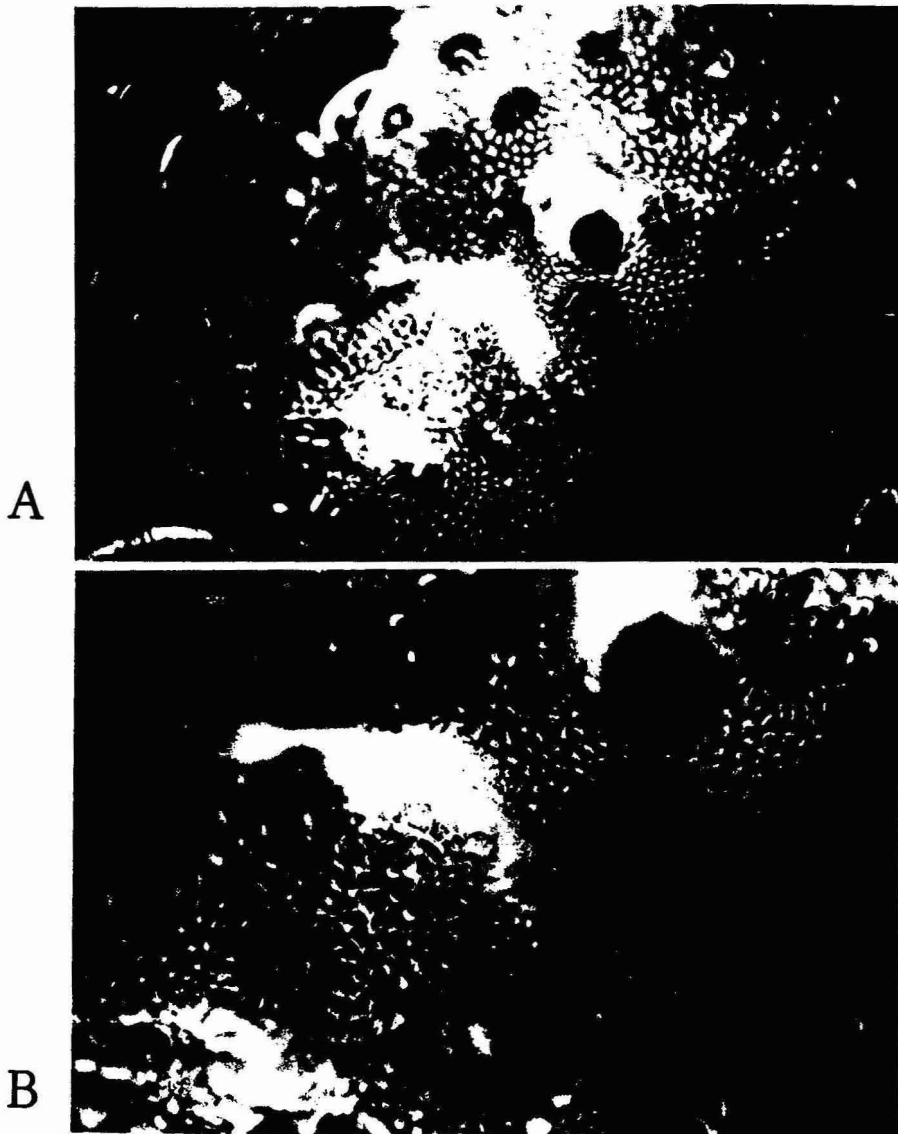


Fig. 2. Incompatible fusion response. Tissue appears to be continuous but there is a white zone at the interface.

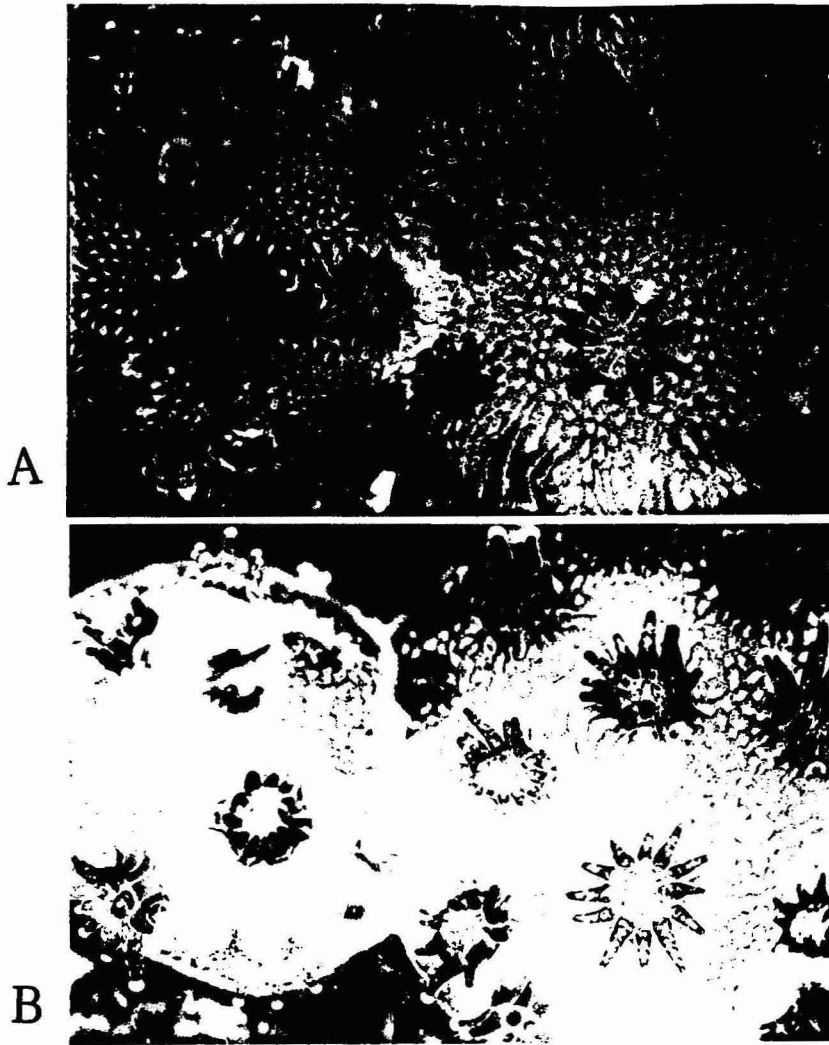


Fig. 3. Polyp resorption in an incompatibly fused pair. **A**, A polyp located near the white zone is partially resorbed. **B**, One month later, the polyp disappeared almost completely.

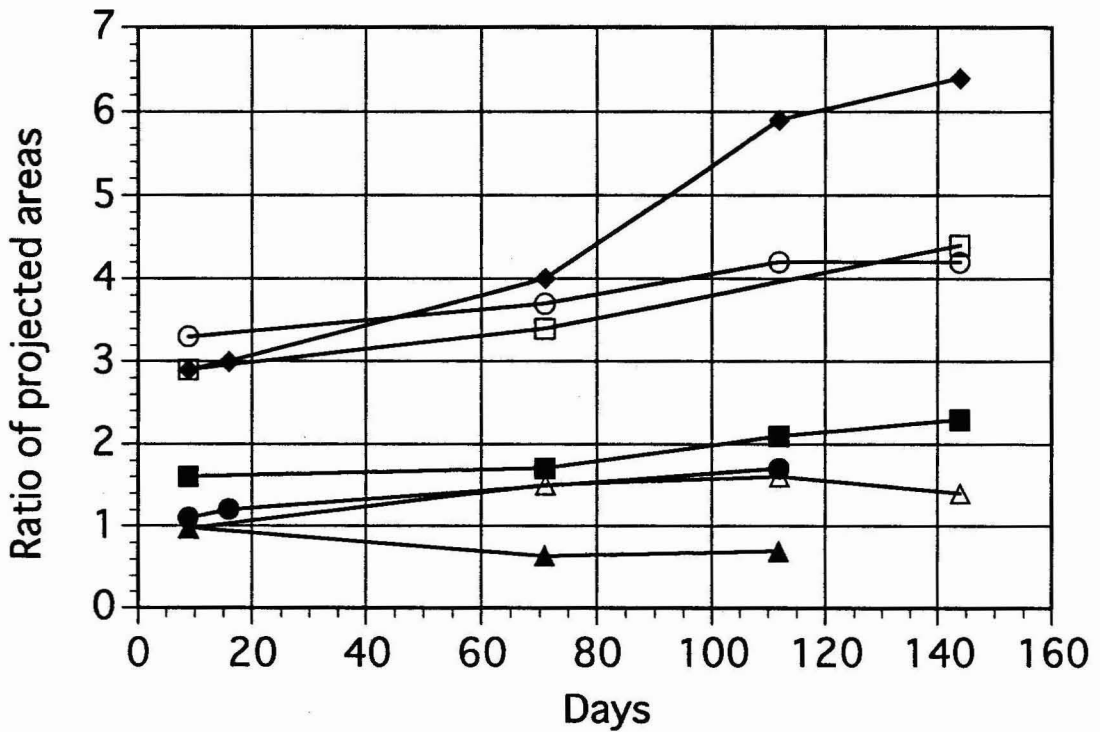


Fig. 4. Relative growth rate of the paired colonies which showed a hierarchy in polyp resorption. The ratio of projected areas of colonies derived from AC1 to that of colonies derived from B2 is shown. Polyp resorption was observed in five pairs except two pairs shown by closed circle and closed triangle. Young colonies derived from AC1 always resorbed polyps of colonies derived from B2. Dominant colonies tended to grow faster than subordinate colonies.

	Observ. period (days)	F	NF	ICF	ICF→NF	ICF→DC
B16-SB10	162				3	
B15-SB10	159				3	(1)*
AC1-MB2	143-283				1	1
AC1-B2	101-241			7	(2)	
AC12-B2	117				1	
AC32-B14	55-135		1	2	3(1)	
AC32-B9	42-183			4		2
B15-AC2	29-147			2		1
AC32-AC12	48-176			4		
AC1-B3	235			1		
SB10-AC1	19-151		7			
SB10-AC2	19-151		4			
SB12-AC2	147		1			
AC12-AC1	117		1			
B2-B5	145-193	3				
B9-B14	96	1				
AC5-Y1	11-186	5				

Table 1. Patterns of contact responses between young colonies of *Pocillopora damicornis*. F, fusion; NF, nonfusion; ICF, incompatible fusion; ICF–NF and ICF–DC represent pairs that transformed from incompatible fusion into nonfusion and into disconnection, respectively. The number in the parentheses represents the pairs in which the region of contact became narrower but the paired colonies were not completely separated. The pair marked with * once transformed into disconnection but displayed incompatible fusion on the second contact.

幼群体同士を接触させた場合、7例中5例でポリプの吸収がみられ、その場合には常に一方の親由来のポリプが他方のポリプを吸収していた (Fig.4)。このことから colony resorption には強弱の序列があり、どちらが相手を吸収するかが遺伝的に決まっていると考えられる。またこの場合 Colony resorption される方より、する方が成長が早い傾向がみられた。ただし、他の組み合わせでは、colony resorption が双方向に起こる例、つまり両方の群体のポリプが吸収される例も観察された。このように境界部に白い帯域が生じる反応は、組織が一見連続に見えるものの、片方のポリプが吸収されてしまうことから、非適合癒合と呼ぶのが適当であると考えられる。

ハナヤサイサンゴ幼群体間の接触実験の結果をまとめたものをTable1に示す。左端のカラムは実験に使用した群体の組み合わせを示し、BやSBなどの英文字は、ハナヤサイサンゴの採集地を示す。接触反応は群体の組み合わせによって決まり、癒合 (fusion、Fと略記)、非癒合 (non-fusion、NFと略記)、非適合癒合 (incompatible fusion、ICFと略記) の3種類が観察された。しかし非適合癒合を示したポリプペアは、長期間飼育すると、間に骨格の壁を作って2つの群体に分かれてしまう場合 (ICF→NF) と、分離 disconnection といって、境界部の組織が死んで骨格が露出し、2つの群体に分かれる場合 (ICF→DC) とがよく見られた。一番上の例では、B16とSB10の群体から採集したプラヌラを変態後接触させたものを162日間観察した結果、3例とも非適合癒合から非癒合に変化した。カッコ内の数字は、非適合癒合から非癒合に移る途中段階で、境界部の両端から切れ込みが入り、狭くなっているものの完全には分離しなかった例を示す。また、非適合癒合から一度DCになった後再度接触してまた非適合癒合になったものが1例観察された。

長期間非適合癒合の状態が続く場合も観察された。AC1とB3の組み合わせでは、235日間も非適合癒合が続き、しかも白い帯域が徐々に狭くなって、安定したキメラを形成した。

このように、ハナヤサイサンゴの幼群体の接触反応は、癒合、非癒合、非適合癒合の3つのパターンがあり、非適合癒合の多くは、数カ月後に非癒合や分離に移行することがわかった。どのパターンの接触反応を示すかは、サンゴの組み合わせによって決まると考えらる。

(2) 癒合、非癒合、非適合癒合を示すペアの骨格構造

癒合した幼群体間の境界部分の骨格を走査電子顕微鏡写真で観察すると、骨格は連続で境界はもはや見られない。莢以外共同骨格の部分にはspineと呼ばれる突起が出ていますが、突起も一様に分布している。また周辺部の骨格も連続しており、1つの群体の骨格と区別がつかない (Fig.5A)。

非癒合を示す幼群体の骨格では、境界部に両方の群体が互いに骨格を分泌し合うようにして骨格の壁を作っている (Fig.5B)。

Fig.6は、非適合癒合を示している幼群体のペアとその骨格の走査電子顕

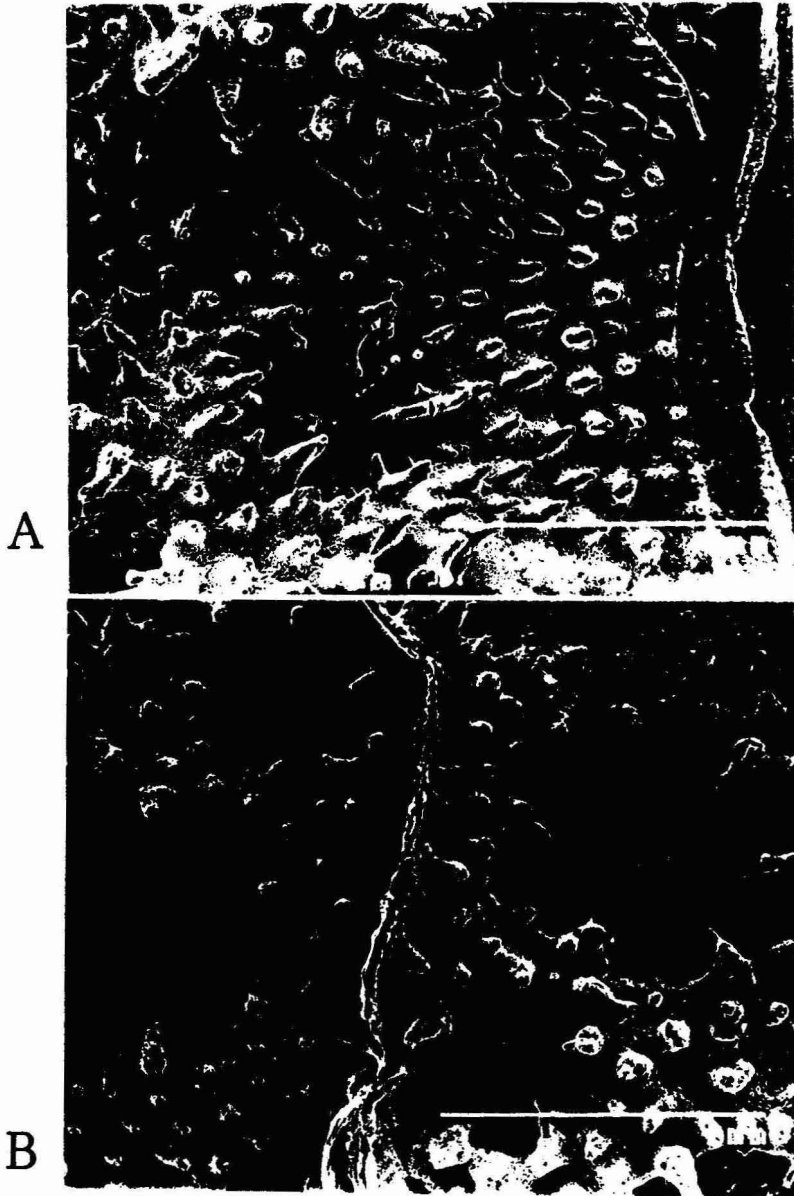


Fig. 5. Scanning electron micrographs of skeletons of fused and non-fused pairs. **A**, Skeleton at the interface region of a fused pair. The skeleton is continuous with smooth margin. Skeletal spines distributed in a normal pattern. **B**, Skeleton at the interface region of a non-fused pair. Both colonies secreted skeleton at the interface forming a skeletal ridge.

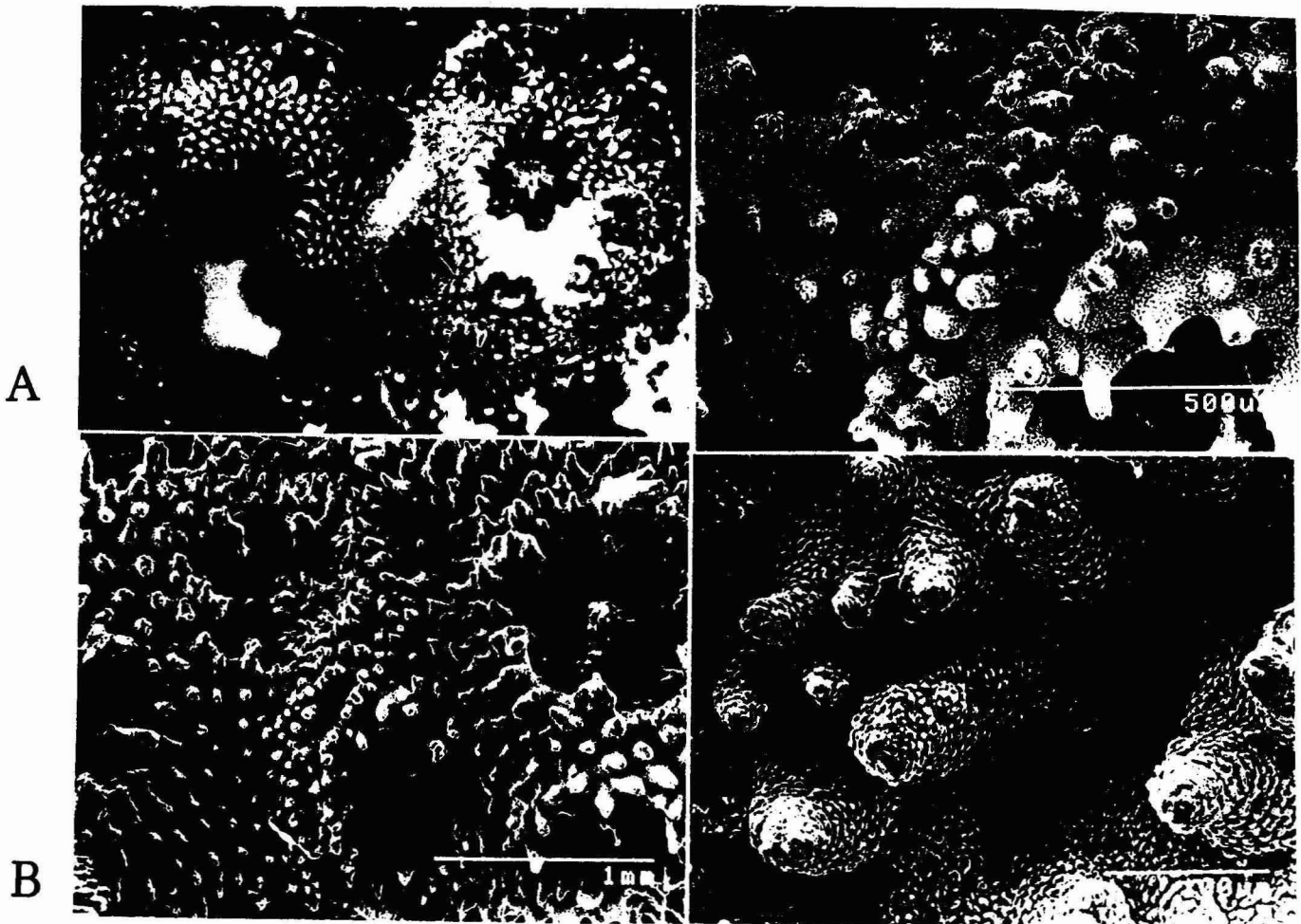


Fig. 6. **A**, an incompatibly fused pair with a white zone. **B**, Skeleton of the pair shown in **A**. There is a groove under the white zone and the groove is surrounded by many skeletal spines. **C**, An enlarged view of the skeleton at the interface. **D**, Surface structure of the groove and surrounding spines.

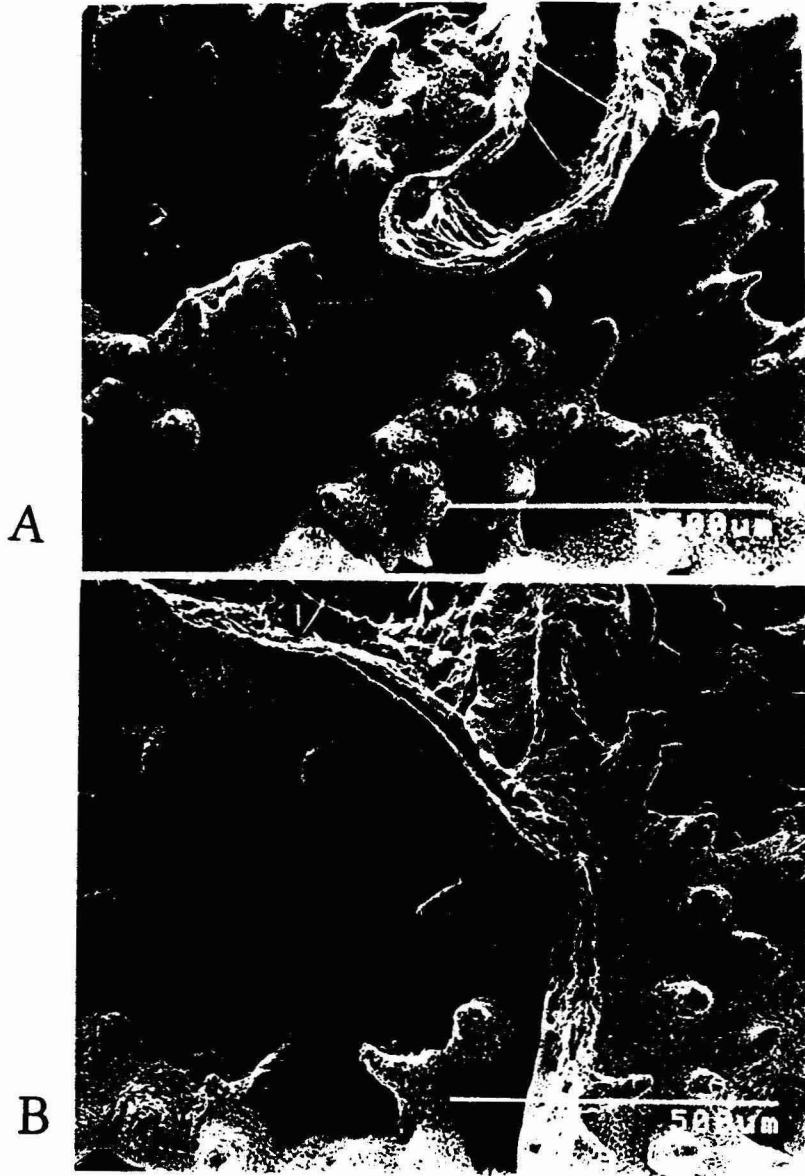


Fig. 7. Skeletons of the pairs that is transforming or has transformed from incompatible fusion into nonfusion. **A**, a margin of the skeleton of an incompatibly fused pair. **B**, skeleton of a pair which has transformed from incompatible fusion into nonfusion. The margin of the skeleton further convoluted and a skeletal ridge is formed instead of a groove.

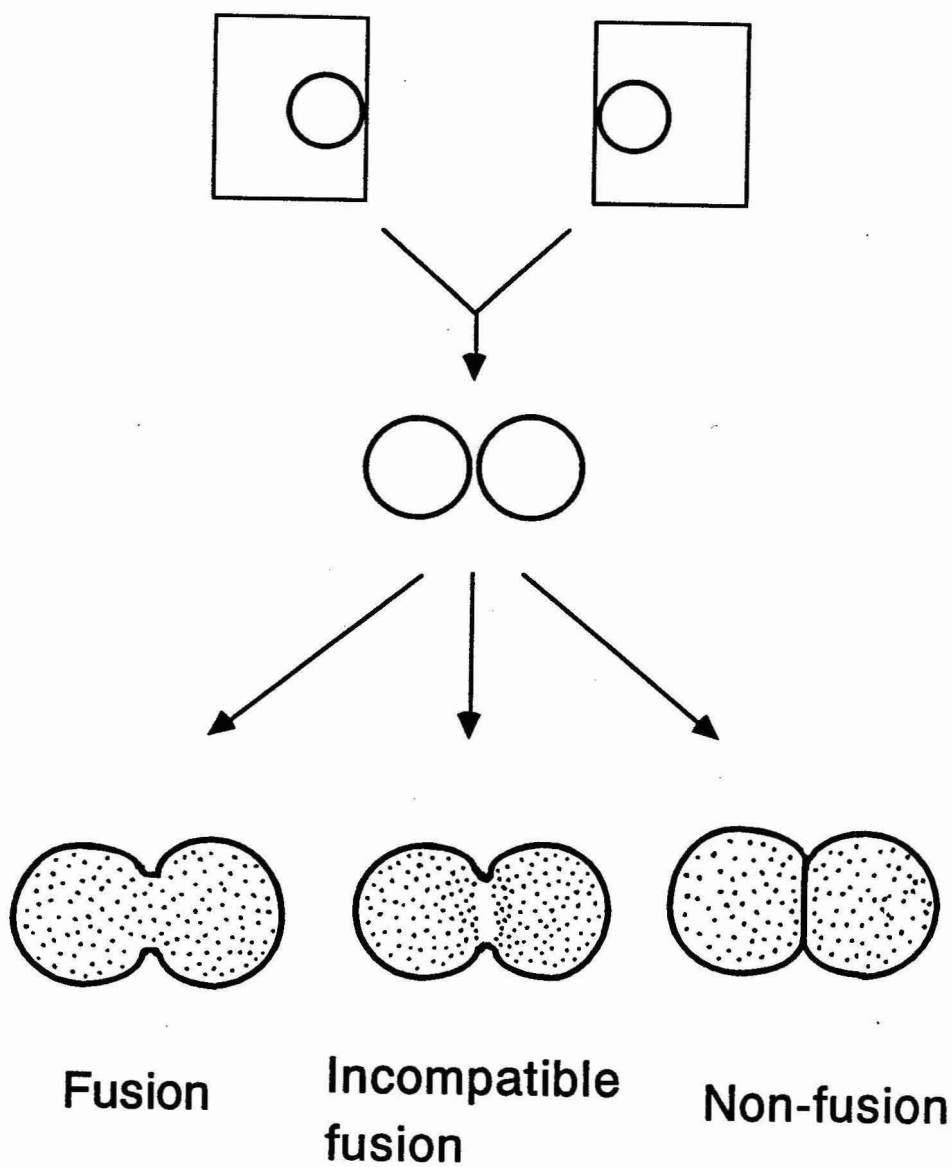


Fig. 8. Pattern of contact responses between young colonies of *Pocillopora damicornis*.

微鏡写真を示す。非適合癒合ペアの骨格は、非癒合や癒合を示すペアの骨格とは明らかに異なる形態を示していた。境界部の白い帯域の下には、骨格が窪んで溝となっており、その両側にspineが互いに向き合う形で並んでいる。境界部ではspineは非常に密に並んでおり、他の共同骨格の様に一様に分布していない。溝の部分拡大すると突起状構造も溝の底面も、fasciculusと呼ばれる鱗状の構造からなっており、骨格は連続していることがわかる。

それではこのような非適合癒合はどのようにして非癒合に移行するのだろうか。非適合癒合を示している群体の骨格では、境界部分の両端から切れ込みが入り、連結部が狭くなりつつあるものが観察されることがある (Fig.7A)。このようなペアでは、周辺部の骨格は連続しているが、spineの向き合った谷間に向かってスリットが入ってきている。このようなペアは、非適合癒合から非癒合へと移行する途中段階であると思われる。非適合癒合から非癒合に移行し終わった群体の骨格では、境界部の両端から中央部へと細いスリットが伸びていき、骨格がめくれ上がる様にして溝の中央部に壁が作られる (Fig.7B)。このようにして非癒合の場合と同様に、境界部に両方の群体を分ける骨格の壁が作られる。

考察

今回イシサンゴにおいても、ホヤ類で見られるのと同じような非適合癒合という現象が見られた。非適合癒合は、組織、骨格とも連続しているものの、境界部に共生藻の少ない白い帯域が生じること、spineが互いに向き合い、間に谷のような溝を作るという点で通常の癒合とは異なる。また非適合癒合では、ポリプの吸収という現象が見られ、これはやはりホヤ類で報告されたColony resorptionによく似ている。また非適合癒合を示す群体の多くは、境界部の両端から切れ込みが入り、間に骨格の壁を形成することにより数カ月後には非癒合に移行した。

非適合癒合という反応は、接触後の第一段階では、組織の癒合がおこってしまうものの、癒合したキメラ群体内では、細胞間の何らかの非適合反応が起こり、徐々に非癒合へと変化する一時的癒合であると考えられる。イシサンゴは、同種間でも互いに刺胞射出をする場合としない場合とがあり、刺胞射出のレベルでも自他認識をしている。また組織適合性の自他認識は、刺胞射出レベルの自他認識より感度が高く、イシサンゴには少なくとも2種の自他認識システムがあると考えられる (Hidaka, 1985b)。今回組織が癒合した後にポリプの吸収など非適合反応が起こることから、イシサンゴには、刺胞射出、組織適合性、そしてColony resorptionという3つのレベルの自他認識システムが存在することが示唆される。

ハナヤサイサンゴの幼群体間の接触反応には、癒合、非癒合、そして非適合癒合の3種類のパターンが見られた。これらのどの反応が現れるかは、接触させる幼群体の組み合わせによって決まると考えられ、従って遺伝的關係が接触反応を決定すると考えられる。Hidaka(1985)は、ハワイ産のハナヤサイサン

ゴで、親群体同士が互いに組織非適合反応を示す場合でも、それらの群体から採集したプラヌラ同士を、定着したばかりの一次ポリプの段階で接触させると癒合してしまうことを報告した。このことは、ハナヤサイサンゴでは発生初期には成群体で見られるような機能的な組織非適合性システムがまだ発現していないことを示唆する。今回調べた範囲では、発生段階のどの時期に接触させるかで接触反応が異なることは観察されなかった。ただし、今回の沖縄産ハナヤサイサンゴを用いた実験では、プラヌラ放出後比較的早い時期（数日後）に接触させる実験ができなかった。従って、非癒合を示す組み合わせでも、もっと早い時期に接触させることができたならば、癒合反応を示したかもしれない。ハワイ産と沖縄産のハナヤサイサンゴで、集団内での遺伝的多様性に違いがあり、そのためにハワイと沖縄のハナヤサイサンゴで違う結果を得た可能性も否定できない。これらのどちらが正しいのかを明らかにすることも今後の課題である。また、発生段階のある時期に組織適合性システムが発現することが分かれば、イシサンゴの組織適合性を細胞レベル、分子レベルで研究する良い実験系となると考えられる。

謝辞

本研究は卒論生の萬木一也、砂川さおり、そしてハワイ大学動物学教室のキンジー博士との共同研究である。上記の人たちに感謝する。

引用文献

- Chadwick-Furman N and B Rinkevich (1994) A complex allorecognition system in a reef-building coral: delayed responses, reversals and nontransitive hierarchies. *Coral Reefs* 13: 57-63.
- Lang JC and EA Chornesky (1990) Competition between scleractinian reef corals-a review of mechanisms and effects. In Dubinsky Z. (ed) *Ecosystem of the World 25 Coral Reefs* pp209-252.
- Heyward AJ and JA Stoddart (1985) Genetic structure of two species of *Montipora* on a patch reef: conflicting results from electrophoresis and histocompatibility. *Mar. Biol.* 85: 117-121.
- Hidaka M (1985a) Tissue compatibility between colonies and between newly settled larvae of *Pocillopora damicornis*. *Coral Reefs* 4: 111-116.
- Hidaka M (1985b) Nematocyst discharge, histoincompatibility, and the formation of sweeper tentacles in the coral *Galaxea fascicularis*. *Biol. Bull.* 168: 350-358.
- Hildemann WH, PL Jokiel, CH Bigger and IS Johnston (1980) Allogeneic polymorphism and alloimmune memory in the coral

Monstipora verrucosa. Transplantation

- Resing JM and DJ Ayre (1985) The usefulness of the tissue grafting bioassay as an indication of clonal identity in scleractinian corals (Great Barrier Reef-Australia). Proc. 5th Int. Coral Reef Cong., 6: 75-81.
- Rinkevich B and IL Weissman (1989) Variation in the outcomes following chimera formation in the colonial tunicate *Botryllus schlosseri*. Bull. Mar. Sci. 45: 213-227.
- Sabbadin A and C Astorri (1988) Chimeras and histocompatibility in the colonial ascidian *Botryllus schlosseri*. Dev. Comp. Immunol. 12: 737-747.
- Shenk MA and LW Buss (1991) Ontogenetic changes in fusibility in the colonial hydroid *Hydractinia symbriolongicarpus*. J Exp. Zool. 257: 80-86.
- Willis BL and DJ Ayre (1985) Asexual reproduction and genetic determination of growth form in the coral *Pavona cactus*: biochemical genetic and immunogenic evidence. Oecologia 65: 516-525.