

整理番号	TK150004
活動番号	A-002

## 科学研究実践活動のまとめ

### 1. タイトル 刺胞射出構造の解明

### 2. 背景・目的

私の先輩方の研究は刺胞動物に焦点を当てたものが多く、私も謎の多い刺胞動物に興味を持った。先輩方は、ハタゴイソギンチャク (*Stichodactylia gigantea*) が海水中の  $Mg^{2+}$  (マグネシウムイオン) 濃度が低いと刺胞(毒針)を射出し、逆に  $Mg^{2+}$  が高いと射出しにくいことを発見した(重松, 山本, 2014)。また、カクレクマノミは高濃度の  $Mg^{2+}$  を体表粘液に持ち、これでイソギンチャクから身を守っていることが分かった。さらに同じ刺胞動物のクラゲの刺胞射出にも  $Mg^{2+}$  が関わっており、ユウレイクラゲ (*Cyanea nozakii*) の触手が高濃度の  $Mg^{2+}$  で刺胞射出が抑制されることを利用し、クラゲの刺胞予防クリームの開発が可能なのも分かった(重松, 山本, 2015)。そして、ハタゴイソギンチャクやミズクラゲのポリプには、 $Mg^{2+}$  が関係する NMDA (N-メチル-D-アスパラギン酸) 型グルタミン酸受容体(NMDAR) が存在している可能性が高く、それが刺胞射出に関与していると結論づけている。

刺胞射出という現象は、150 年前から知られていたものの、そのメカニズムについては、完全に解明されていない (Anderson and Bouchard, 2009)。私はそのメカニズムの一部を解明すべく、ミズクラゲ (*Aurelia sp.*) のポリプを使用し、2つの実験を行った。実験1では、間接免疫蛍光法を用いて NMDAR、平滑筋、神経終末の分布状況を観察した。実験2では、ポリプを様々なイオン組成の溶液に浸し、刺胞射出と筋収縮の有無を観察した。これらの実験から、刺胞射出に関係する細胞や受容体の分布状況を明らかにし、それらの結びつきについて明らかにしたい。

### 3. 方法

①ミズクラゲのポリプを用い、NMDAR、神経終末、平滑筋を抗体染色し、蛍光観察をした。二重染色を行い、NMDAR と神経終末、NMDAR と平滑筋のつながりを明視野像とともに観察した。②イオン組成の異なる様々な溶液にポリプを浸し、刺胞射出と筋収縮の有無を倒立光学顕微鏡で観察した。

### 4. 結果

①神経終末と NMDAR の二重染色では、一部に両方で染まる細胞があった。平滑筋と NMDAR では、両方で染まる細胞が多かった(図1)。また、刺胞細胞に隣接して平滑筋細胞と思われる細胞が存在していた。触手の表面付近に、NMDAR で濃く染まる顆粒状のものが見られた。

②刺胞射出に対して、 $Mg^{2+}$  と同様の効果が  $Ca^{2+}$  で見られた。KCl 存在下では、常に筋収縮が起こった(図2)。KCl のみでは刺胞射出は起こらなかったが、海水成分が加わると、刺胞射出を促した。KCl の存在下でも、 $Mg^{2+}$  濃度が上がると刺胞射出が抑えられるが、 $Ca^{2+}$  ではその効果は見られなかった。

### 5. 考察

NMDAR と平滑筋を二重染色した場合は、両者の染色部位は重なる部分が多く、平滑筋細胞には、NMDAR が分布している可能性が高い(図1 右側)。刺胞細胞の周りにはサポートする細胞や感覚細胞があり、それぞれがユニットのような塊を作り、神経のネットワークで結合していると考えられている (Anderson and Bouchard, 2009)。そこで、私は平滑筋が刺胞射出に何らかの形で関係しているのではないかと考えた。実験2でも、刺胞射出と筋収縮は同時に起こることが多く(表1)、筋収縮が刺胞射出の引き金になっている可能性が考えられる。

また、触手の表面付近に、NMDAR 抗体で顆粒状に濃く染まる細胞(図1 左側)が存在した。この粒子は、体外に存在するグルタミン酸を受容する受容体細胞の受容部なのではないだろうか。この細胞がポ

リプのエサに含まれるグルタミン酸を受容し、その刺激が刺胞細胞に伝わり刺胞射出が起こるのかもしれない。まだ仮説の段階であるが、もし刺胞射出の刺激伝達に複数の細胞が関わっているとすれば、原始的な生き物であるミズクラゲのポリプが複雑な伝達経路もっていることになり、大変興味深い。

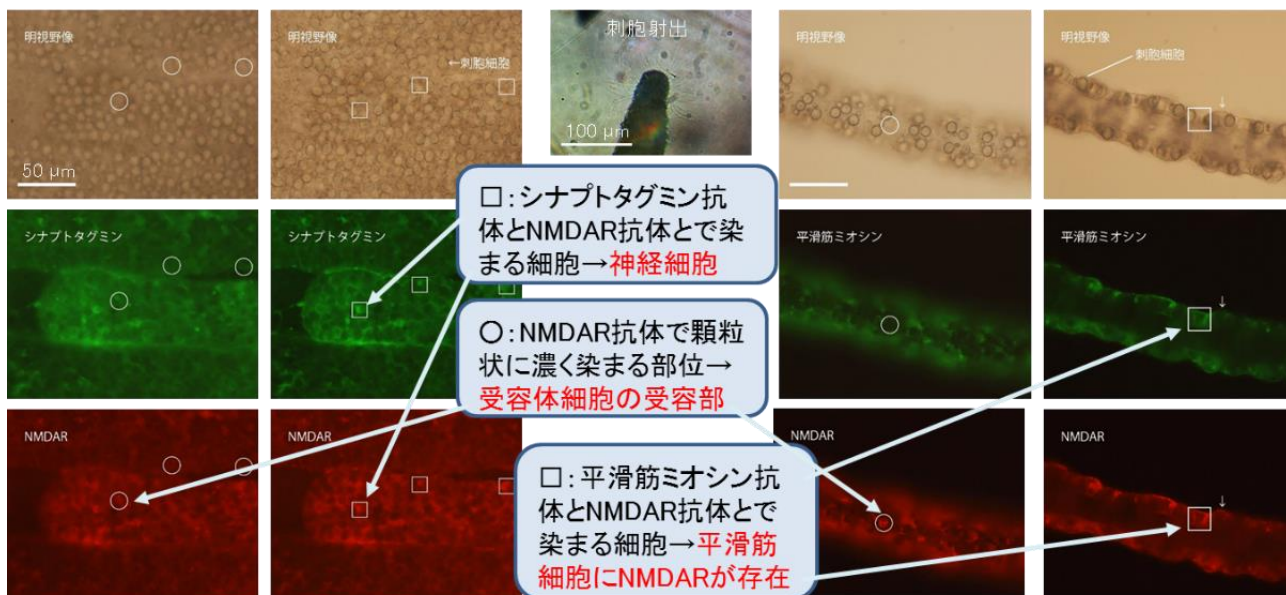


図1 左: シナプトタグミン抗体(緑)とNMDAR抗体(赤)で二重染色した画像  
 右: 平滑筋ミオシン抗体(緑)とNMDAR抗体(赤)で二重染色した画像

表1 異なる水溶液中での刺胞射出と筋収縮の有無 (n=5)

試験溶液	刺胞射出の有無(5分間)					筋収縮の有無(5分間)					試験溶液	刺胞射出の有無(5分間)					筋収縮の有無(5分間)				
	個体1	個体2	個体3	個体4	個体5	個体1	個体2	個体3	個体4	個体5		個体1	個体2	個体3	個体4	個体5	個体1	個体2	個体3	個体4	個体5
① 天然海水	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	① 0.5M KCl	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
② 人工海水	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	② 0.5M KCl: 人工海水=1:1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
③ Mg <sup>2+</sup> 2倍海水	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	③ 0.5M KCl: Mg <sup>2+</sup> 2倍海水=1:1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
④ Mg <sup>2+</sup> 4倍海水	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	④ 0.5M KCl: Mg <sup>2+</sup> 4倍海水=1:1	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
⑤ Ca <sup>2+</sup> 2倍海水	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	⑤ 0.5M KCl: Mg <sup>2+</sup> 8倍海水=1:1	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
⑥ Ca <sup>2+</sup> 4倍海水	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	⑥ 0.5M KCl: Ca <sup>2+</sup> 2倍海水=1:1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
⑦ Mg <sup>2+</sup> 欠如海水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⑦ 0.5M KCl: Ca <sup>2+</sup> 4倍海水=1:1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
⑧ Ca <sup>2+</sup> 欠如海水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⑧ 0.5M KCl: Ca <sup>2+</sup> 8倍海水=1:1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
⑨ Ca <sup>2+</sup> Mg <sup>2+</sup> 欠如海水	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⑨ 0.5M KCl: Ca <sup>2+</sup> 欠如海水=1:1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
											⑩ 0.5M KCl: Ca <sup>2+</sup> Mg <sup>2+</sup> 欠如海水=1:1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>がないと刺胞射出が起こる

刺胞射出と筋収縮は同時に起こることが多い

Mg<sup>2+</sup>濃度が上がると、筋収縮は起こっても、刺胞射出は抑制される

## 6. 結論

私は、刺胞射出が起こる経路を2つ提案する。第1の経路は、受容体細胞で刺激を受け取り、平滑筋に伝達し、神経細胞を介して、刺胞細胞に伝わり刺胞射出が起こる(図2左)、というものである。刺胞細胞への伝達以外は全てNMDARが関与している。そして、第2の経路は、平滑筋細胞が介在しない経路(図2右)である。これから追加実験などを行いこの図をさらに説得力のあるものにした。

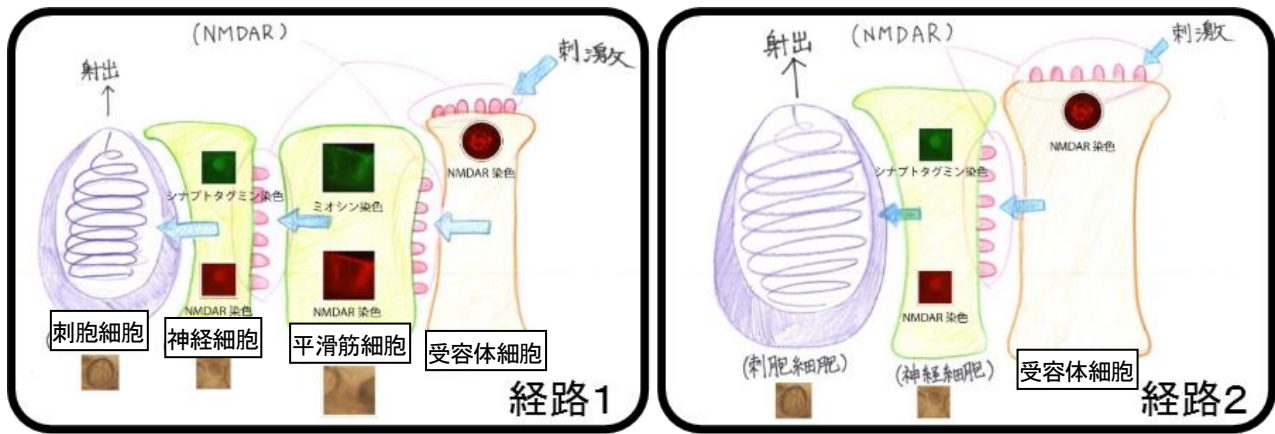


図2 刺胞射出が起こる経路（予想図）

## 7. 謝辞

研究を支えてくださった愛媛大学の高田 裕美 先生、北村 真一 先生、このような機会を与え研究を支援していただいた、国立研究開発法人 科学技術振興機構様、愛媛大学様、愛媛県教育委員会様、水槽や顕微鏡をご提供いただいた愛媛県知事 中村 時広 様、株式会社 愛媛小林製薬 様、本校理科先生方、水族館部研究班の先輩方、応援いただいたすべての皆様方、本当にありがとうございました。

## 8. 参考文献等

- ・2014. ハタゴイソギンチャク刺胞射出の秘密. 平成 26 年度 日本学生科学賞出品論文
- ・2015. クラゲ行動メカニズムの探求. 平成 27 年度 日本学生科学賞出品論文
- ・P Peter A. V. Anderson and Christelle Bouchard, 2009. The regulation of cnidocyte discharge. Toxicon 54. p1046-1053
- ・古里勝利, 2012. 高等学校生物. (株) 第一学習社
- ・日高通雄, 1991. 刺胞の射出機構についての最近の考え方. 比較生理生化学 Vol. 8, No2(1991). p60-71

## 9. 成果発表実績

第 60 回日本学生科学賞愛媛県大会 最優秀賞・県議会議長賞 全国大会出場  
サイエンスミーティング ポスター発表  
えひめサイエンスチャレンジ 2016 奨励賞