

脊索の重要性を理解する実験教材の開発

－脊椎動物幼生の体を支える脊索－

Experiments to understand the important function of Notocords

Notocords support the long body of vertebrate larvae

松山 莉奈¹⁾, 梶原 裕二²⁾

1) 京都教育大学教育学部

2) 京都教育大学理学科生物学教室 kajiwara@kyokyo-u.ac.jp

キーワード：脊索, イモリ幼生, 脊索動物, ナメクジウオ, 簡易凍結徒手切片法

(受付：2022年2月10日)

1. はじめに

脊索動物は、私たち脊椎動物と原索動物の二種類に分類される。原索動物は、ホヤなどを含む尾索類、ナメクジウオなどを含む頭索類に分類できる。脊索動物は、一生のある時期に脊索を持つ新口動物である。脊索動物の特徴は、①背側に脊索が存在すること。②神経管が脊索のすぐ背側を走行していること。③咽頭に鰓裂を持つことである。頭索類（ナメクジウオなど）では脊索は一生存在する支持器官である。また、頭索類の脊索は頭部の前端まで脊索が伸びている。脊椎動物では、脊索は発生の途中で出現し、後に退化、その役割は脊椎骨に置き換わることで知られている（ウォルパート, 2012；後藤, 1997；佐藤, 2014, 宮本, 2014）。脊椎動物に属する魚類、両生類、爬虫類、鳥類、哺乳類のそれぞれの初期胚は原腸形成前では多様な形態をとる。しかし、原腸形成後すべての脊椎動物の胚は相互に類似した発生段階を経ることになり、この発生段階を門特異的な発生段階という。この時期以後、成体はそれぞれ再び多様な形態となる。この門特異的な発生段階の胚の特徴としては、体が前後に長く、鰓弓から顎や咽頭が形成されることが挙げられる（ウォルパート, 2012）。この前後に長い体を支えているのが脊索で、脊索は体の支持体としての重要な機能を持つ。このように、脊椎動物の胚や幼生において脊索は体を支えるための器官で、ナメクジウオが属する脊索動物と同様である。また脊索の両側にはブロック状の体節が形成され、ここから筋肉と椎骨など骨格が発生する。

高等学校生物では、脊索は背側中胚葉から形成され、誘導による体づくりの中心的な役割を持つこと、さらに脊索の形成に伴って体が前後に伸びることを学習する（嶋田ほか, 2017；吉里ほか, 2014）。前述した通り、脊索は脊椎動物の胚において体を支えるための大切な器官である。しかし、脊索の支持体としての役割や発生過程での変化についての記載はほとんどない。主に誘導による体作りについての脊索として扱われ、また脊索の実際の様子を観察できる図や資料は掲載されておらず、簡易的な模式図のみが描かれている（嶋田ほか, 2017；吉里ほか, 2014）。

このように、高等学校生物において脊索の取り扱いは背側中胚葉から形成されることが、誘導による体作りの中心的な役割を持つことを学ぶことがほとんどである。しか

し、実際には脊索は脊椎動物の胚の体を支えるという重要な役割も担っている。この重要性についてはほとんどの高等学校で取り扱われていない。加えて、脊索は動物の系統樹の中で、脊索動物のグループの特徴として明記されるが（嶋田ほか，2017；吉里ほか，2014），系統樹を実感する実験，並びに脊索を観察する実験はほとんどない。そこで本研究では、イモリの幼生や原索動物であるナメクジウオを材料として、脊索の支持体としての重要な機能を理解する教材開発を目的とした。また、発生過程での脊索や脊索周辺の構造はどう変化するのか観察して、発生過程での変化も理解できる教材とする。

2. 材料と方法

組織を観察した材料は、イモリ（*Cynops pyrrhogaster*）幼生（st.52, st.59）（岡田，1989），とナメクジウオ成体標本である（図1）。組織切片の作成は簡易凍結徒手切片法を用いた（梶原・八十田，2011；梶原・山崎，2012；梶原，2017）。20%エタノールで保存したブロッコリー保持体に凍結包埋剤（OCT コンパウンド，サクラファインテックジャパン）を充填し，胴中部を切断したイモリ幼生とナメクジウオ成体の横断面が得られるように挿入した。そして低温貯蔵庫（-80℃）で冷却したアルミ板をドライアイスの代替として用いて固化させた。安全カミソリの刃（フェザー製・ハイステンレス）を用いて，徒手法により標本を作製した。ブロッコリー髄・凍結包埋剤とともに薄切りされた切片をシャーレに入れた生理食塩水に浮かべ，凍結包埋剤を溶解した。切片をピンセットでスライドガラス上に取り，マイヤーヘマトキシリン溶液で核を染色した後，カバーガラスをかけ顕微鏡で観察した。標本を1ヶ月以上保存する場合，水溶性包埋剤（Mount-Quick “Aqueous”）で封入し，カバーガラスの周囲を透明マニキュアでシールした。組織標本は光学顕微鏡（ECLIPSE-E200：ニコン）で観察した。



図1 イモリ幼生(st. 52) (左)，イモリ幼生 (st. 59) (中)，ナメクジウオ成体 (右)
左図・中図スケール間隔：1mm，右図スケールバー：10mm

3. 結果と考察

(1) イモリの幼生 (st.52) の脊索の観察

イモリの幼生 (st.52) の背側に神経管，脊索を確認することができた（図2，3）。脊索は，粗い袋状のものが集まった形状をしており，脊索の周りには二重膜構造（脊索鞘）が確認できた（図3）。また，背側に存在する神経管は，細胞質が充満し黒く染色されており，扁平上の形状を示していた。

イモリの幼生 (st.52) の体長は 14mm で、脊索の大きさは 0.3mm であった。脊索は、背側体幹のほぼ半分の大きさがあり、神経管の約 3 倍の大きさであった。このように、体に対して脊索が大きいことが分かり、脊索が体を支える機能を持つことを理解する教材として適していると考えられる。

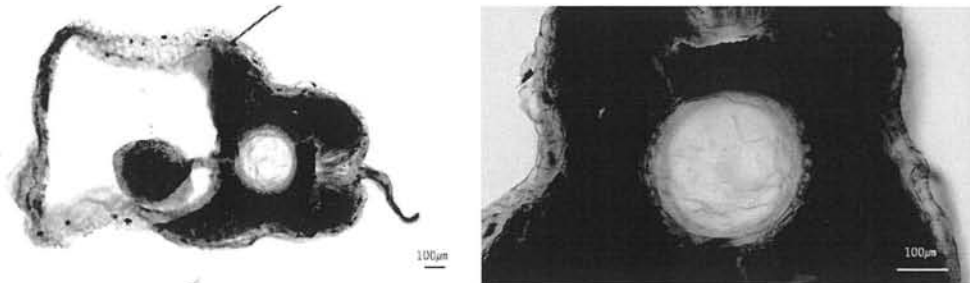


図 2 イモリの幼生 (st. 52) の横断面 左図: 全体像 (右が上側), 右図: 脊索と神経管の拡大

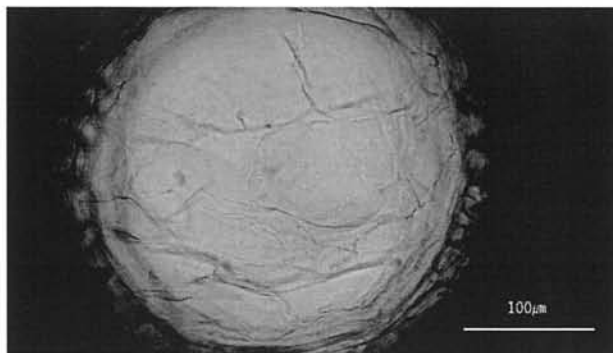


図 3 イモリの幼生 (st. 52) の脊索の拡大

(2) イモリの幼生 (st.59) の脊索の観察

イモリの幼生 (st.59) の背側に神経管、脊索を確認することができた (図 4, 5)。脊索は粗い袋状の構造で、外側に薄い二重膜 (脊索鞘) が存在していた (図 5)。神経管は、st.52 のイモリと同様で黒く染色され、形は丸く大きくなっていた (図 5)。

イモリの幼生 (st.59) の体長は 20mm で、脊索の大きさは 0.26mm であった。また、神経管の大きさは 0.30mm で、かなり大きくなったことが分かる。このことから、この時期のイモリは、神経系の発達が盛んに行われていることが分かる。これら脊索と神経管の観察から、幼生の前後に長い体は、脊索とともに大きく成長した神経管によって支えられていると考えられる。



図 4 イモリの幼生 (st. 59) の横断面

左図は上側 1/3, 中図は中央 1/3, 右図は下側 1/3 をそれぞれ示す

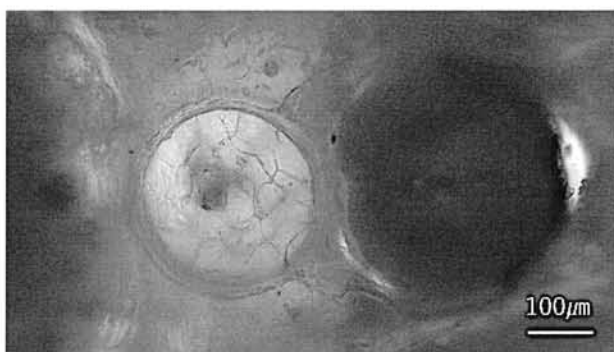


図5 イモリの幼生 (st. 59) の脊索 (左) と神経管 (右) の拡大写真 (左側が上)

(3) イモリの幼生 (st. 52, st. 59) のアルシアンブルー染色

アルシアンブルーによって、ムコ多糖が含まれる部分が青く染まった。st. 52 の幼生では、脊索の二重膜 (脊索鞘) が青く染色されることが確認できた (図 6)。また、st. 59 の幼生では、脊索鞘が濃く染色されている (図 7) とともに、脊索内の網状の構造も青く染色されていた。さらに、脊索周辺に三角形の筋繊維を確認することができ、筋繊維の周囲も青く染色されており、ムコ多糖の沈着が確認できた (図 7)。

脊索鞘が染まっていることから脊索鞘には軟骨成分であるムコ多糖が存在し、脊索が物質的にも体を支える役割を果たしていることが言える。

st. 52 と st. 59 の幼生を比較すると、st. 52 の幼生の脊索の染色が薄いこと、st. 59 の幼生の脊索が濃く染まったことから、st. 52 ではアルシアンブルーが染色する成分 (軟骨成分) がまだ沈着しておらず、十分に成長していないと考えられる。

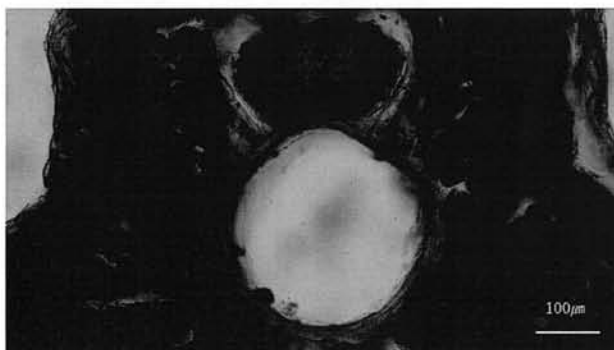


図6 イモリの幼生 (st. 52) をアルシアンブルーで染色。脊索周囲の脊索鞘が薄く染色されている。

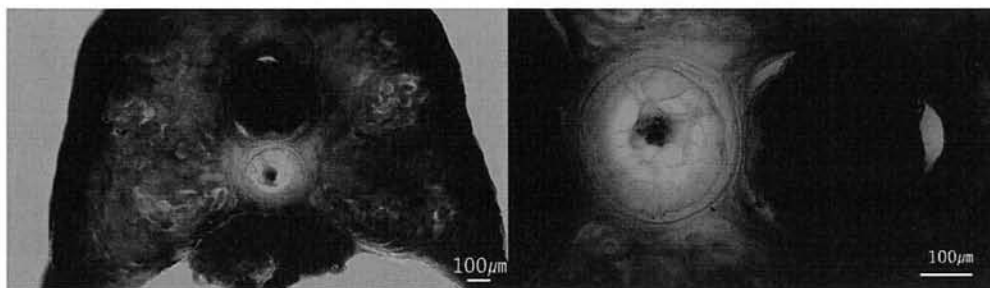


図7 イモリの幼生 (st. 59) をアルシアンブルーで染色したもので脊索周囲の脊索鞘が濃く染色されている (右図)。また、脊索内の袋状の構造ならびに筋繊維周囲も青く染色されている (右図、左側が上)。

(4) ナメクジウオの脊索の観察

ナメクジウオの背側に薄く着色した神経管とその直下に透明な太い脊索が存在していることが分かる(図8)。神経管と脊索の側方には、発達した筋肉組織が確認できる。また、イモリ幼生と同様、体幹の腹側には腹腔と消化管が存在した。消化管は背腹に長い楕円状で、内部には襞状の突起などは見られなかった。哺乳類の柔毛、両生類や爬虫類の襞状の構造など、消化管の表面積を拡大する構造はなかった。腹腔内の消化管の横に濃く着色された肝臓が存在した。

アルシアンブルーで染色した結果、表皮に若干の染色は見られるが、脊索や体内部に顕著な染色は見られなかった(図9)。また、図8からわかるように、脊索、神経管の様子はイモリの幼生(図2, 4)とほとんど同じ形態をとることが分かる。高等学校生物では、系統を俯瞰する実験や観察はほとんどないが、この観察は脊椎動物が同じ脊索動物に分類されることが理解できる教材として適していると考えられる。

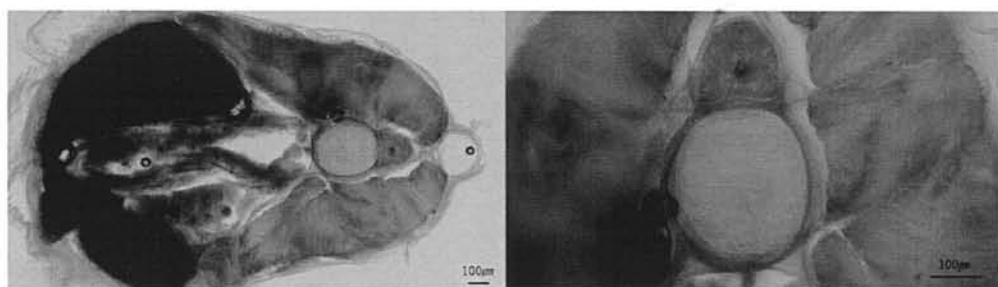


図8 ナメクジウオ成体の横断面。

左図は全体図(右側が上)、右図は脊索と神経管の拡大(上側が背側)。

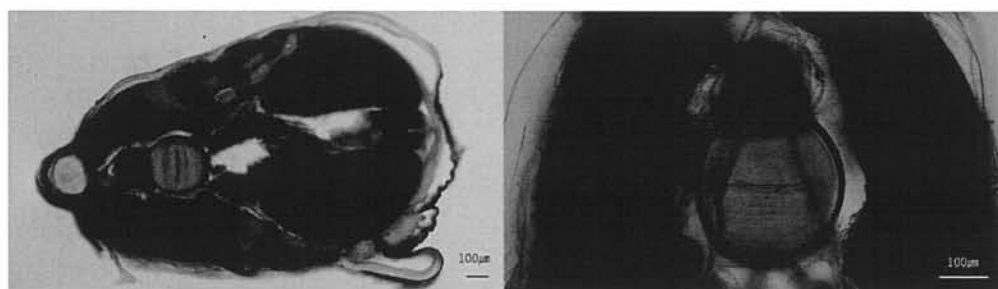


図9 ナメクジウオ成体横断面のアルシアンブルー染色。

左図は全体図(左側が上)、右図は脊索と神経管の拡大(上側が背側)。

(5) イモリ幼生とナメクジウオの体幹、脊索の大きさの比較

表1にイモリ幼生(st.52, st.59)とナメクジウオ成体の体長、背側体幹、脊索、神経管の大きさの比較を示す。st.52とst.59イモリ幼生の発達で比較すると、体長が長く体高も高く成長しており、背側体幹も厚くなる。しかし、脊索、脊索鞘はほとんど同じ大きさで、若干st.59の幼生の方が細くなっている。体長が長くなるにつれ、脊索が引き伸ばされたと考えられる。しかし、神経管の大きさはst.59の幼生では縦

方向に 3 倍、横方向に 1.5 倍大きくなっていることが分かる。体の大きさがほとんど同じナメクジウオとイモリ幼生 (st.59) は、脊索の大きさはほとんど同じかナメクジウオの方が若干大きかった。イモリ幼生 (st.52) と同程度の大きさであった。ナメクジウオは骨がない原索動物であるため、脊椎動物であるイモリの幼生に対してより脊索の支持体としての役割が果たされていると考えられる。また、脊索鞘の厚さは、ナメクジウオの方が 0.01mm と薄かった。ナメクジウオの脊索鞘は色が濃く、イモリの幼生の色の薄い脊索鞘に比べ硬さがあるように見え、脊索鞘を構成する成分がより多く存在すると考えられる。

表 1 イモリ幼生とナメクジウオの体幹、脊索の大きさの比較 (数字は mm)

	イモリ幼生 (st.52)	イモリ幼生 (st.59)	ナメクジウオ成体
体長	14.00	20.00	28.00
体高	1.75	2.50	2.16
背側体幹	0.77	1.50	0.77
脊索	0.30	0.26	0.31
脊索鞘の厚さ	0.02	0.02	0.01
神経管	0.20 (長径) 0.10 (短径)	0.30	0.15

4. まとめ

脊索が脊椎動物の胚において体を支えるという重要な役割を持つことを理解するための教材開発や、同じ脊索動物である頭索類のナメクジウオと比較して同じく脊索を保有していることなどを、実際の脊索を見ることで理解を深めることを目的とした。

身近な脊椎動物であるイモリの幼生 (st.52) を用いて、簡易凍結徒手切片法で切片を作成し観察したところ、脊索や神経管その他器官を確認することができた。教科書の模式図では、脊索が小さく描かれているが (嶋田ほか, 2017 ; 吉里ほか, 2014), 実際の幼生では、脊索は体幹に比べ非常に大きく、脊索が体を支持する器官であると実感できる教材と評価できた。

次に、発生段階の進んだイモリの幼生 (st.59) を用いて脊索の大きさや神経管の大きさを実測し、st.52 のイモリ幼生のそれらと比較した。発生段階の進んだイモリ幼生 (st.59) の脊索は、イモリ幼生 (st.52) の脊索に比べ若干小さくなっていた。また、st.59 のイモリ幼生は神経管が縦方向に 3 倍、横方向に 1.5 倍と大きくなっていることから、この時期では神経系などの発達が進んでいると考えられる。このことから、高等学校生物で扱う教材としては、体に対してより大きな脊索を観察することができる st.52 のイモリ幼生が適していると考えられる。st.59 の幼生では、脊索と共に大きく成長した神経管で体を前後に支えていると考えられる。

st.59 のイモリ幼生は変態直前の発生段階である。このことから、変態し陸上に這い上がる時期まで、前後の体を軟骨成分で満たした脊索が支えることを実感する教材として適していると考えられる。

ナメクジウオ成体の横断面と脊索を観察した。この観察実験は、同じ脊索動物とし

て原索動物と脊椎動物の共通性を理解するための教材として適していると考えた。動物の系統を理解する実験、観察はほとんどないことから、脊索動物、脊椎動物の分類を理解する数少ない実験教材として適している。

このように、脊椎動物の幼生を用いてその体を支える脊索を理解する教材が開発できた。また、脊索動物の共通点として脊索を取り上げることで脊索についての深い理解を促す教材として適していることが分かった。

生徒が実際の脊索を見る機会はほとんどなく、実際の脊索と教科書に示されている脊索の図では全く違っているため、教科書の図だけでは体を支える役割があるということを理解するのは難しい。このことから、実物を通した実験や学びが重要で、脊椎動物を学習する際には、脊索動物の中に属する脊椎動物として取り上げることで、脊索の役割がより理解できると思われる。今後、脊索を扱う授業を行う際は、本研究の内容を活かして生徒が理解しやすいような授業を考案したい。

文献

- 後藤仁敏 1997. 骨の起源と進化. バイオメカニズム学会誌, 21 (4), 157-162.
- 梶原裕二・八十田茂希 2011. 凍結包埋剤を用いた簡便な徒手切片法による動物組織とニワトリ胚の観察. 生物教育, 52, 112-120.
- 梶原裕二・山崎康平 2012. 簡易凍結徒手切片法を用いた身近な魚類と両生類の解剖・組織実習. 京都教育大学紀要, 121, 43-51.
- 梶原裕二 2017. 簡易凍結徒手切片法により生物の体を調べる. 生物の科学遺産, 71 (5), 466-471.
- 宮本教生 2014. 海底に潜むムシから探る脊索動物の起源. JT 生命誌研究館 web サイト. https://www.brh.co.jp/publication/journal/083/research_1
- 岡田節人 1989. 脊椎動物の発生・上. 培風館, 485pp.
- 佐藤矩行 2014. 脊椎動物門, 新たな創設. 沖縄科学技術大学院大学 web サイト. <https://www.oist.jp/ja/news-center/press-releases/16643>
- 嶋田正和ほか編 2017. 生物・改訂版. 数研出版.
- ウォルパート ルイス 2012. ウォルパート発生生物学. メディカル・サイエンス・インターナショナル, 660pp.
- 吉里勝利ほか編 2014. 高等学校生物. 第一学習社.