

過重力環境がアフリカツメガエルの脳下垂体-標的器官系におよぼす影響についての研究

都老人研 新海正, 広島大・院理・両生類研 柏木昭彦, 柏木啓子, 古野伸明, 芝工大・工 浦野四郎, 佐藤嘉哉, 都臨床研 久保英夫, 鹿児島大・理 板井雅夫, 徳島大・総合科学 渡辺稔, 鳥取大・医 吉留賢, 札幌医大・保健医療 藤井博匡, 宇宙研 山下雅道

Effects of hypergravity on pituitary-target organ axes in the frog, *Xenopus laevis*

Tadashi Shinka^a, Akihiko Kashiwagi, Keiko Kashiwagi, Nobuaki Furuno^b, Shiro Urano, Hiroya Sato^c, Hideo Kubo^d, Masao Itai^e, Minoru Watanabe^f, Satoshi Yoshitome^g and Hirotsada Fujii^h, Masamichi Yamashitaⁱ

^aRedox Regulation Research Group, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo 173-0015, ^bInstitute for Amphibian Biology, Graduate School of Science, Hiroshima University, ^cLaboratory of Biological Chemistry, Shibaura Institute of Technology, ^dDepartment of Neurobiology, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, ^eFaculty of Science, Kagoshima University, ^fFaculty of Integrated Arts and Science, University of Tokushima, ^gFaculty of Medicine, Tottori University, ^hSchool of Health Science, Sapporo Medical University, ⁱJapan Aerospace Exploration Agency
E-mail:shinkait@tmig.or.jp

Abstract: In order to analyze effects of hypergravity on the pituitary gland and the target organs of frogs, we raised *Xenopus laevis* in two and five gravity environments from fertilization to beginning of metamorphosis (St57) and completion of metamorphosis (st66). The frogs developed in 2G and 5G, but the body size of exposed frogs became smaller. Moreover, development of the animals was delayed in both environments. In the hypergravity treated pituitary, volume and cell size were downsized, and cell number was reduced. In the treated thyroid, volume and epithelium were also undersized. These morphological changes indicate that hypergravity alters the function of pituitary and thyroid. The results suggest that gravities unlike the terrestrial environment cause dysfunction and hypofunction in endocrine systems, and that the animals may not be able to maintain the inherent life cycles.

Key words; Hypergravity, Pituitary, Thyroid, *Xenopus laevis*

人類が宇宙へ生活圏を拡大する際には、地上と異なる様々な環境に遭遇するであろうと考えられる。しかし、その宇宙環境に適応する能力が潜在的にヒトに備わっているのかどうかは、現在までのところほとんどが不明のままである。本研究は「両生類の生活環（初期発生・変態・減数分裂）に対する重力影響の形態学および分子生物学」研究班ワーキンググループの研究課題の一つとしておこなうものであり、通常の1Gとは異なった過重力環境下で、アフリカツメガエルが受精・発生・変態・成熟さらに老化へと一連の生命活動を継続する時の脳下垂体を中心とした内分泌系への影響について解析する。さらに、その結果から、ヒトが異なった重力環境で世代交代を重ねて生活するとき、問題となりうる点についてあらかじめ予測する事を目的としている。

地上とは異なった重力環境で実験動物を管理し、その生体変化を精査する試みは、近年おこなわれるようになってきている。両生類を用いた微小重力、過重力の研究から胚やオタマジャクシに発生・成長阻害や形態異常¹⁻³⁾、頭部、胸部の小型化^{1,4)}、遊泳時での行動異常⁵⁾などが報告されている。われわれ

のアフリカツメガエルを用いた研究でも、過重力環境（2G、5G）での長期飼育によるオタマジャクシの形態異常や組織・臓器の発達変異⁹⁻¹¹⁾、小頭や双頭などの重複奇形^{11,12)}、さらに、変態完了までの時間の遅延などの知見^{11,12)}をみつけ、変態期における重力変化の影響を明らかにした。

異なった重力環境下でのラット脳下垂体ならびにその標的器官の変化を調べた研究より、短期間の2G以下の低レベルでの過重力曝露は、下垂体-卵巣系の機能に変化を与えないという報告⁶⁾や、3.14Gによる短時間の過重力曝露も下垂体機能に大きな影響を与えないという報告⁷⁾がある。また、初代培養系での研究では、2G環境下で成長ホルモン産生細胞からのBioactiveなホルモン放出量は減少するが、Immunoactiveなホルモンは1Gと比べても差が認められない⁸⁾としている。これらの報告は異なった重力環境でも生体の内分泌系におよぼす影響は甚大でないことを意味し、宇宙環境でも生物の生体内の恒常性は維持される可能性を示唆している。

本研究では過重力環境でアフリカツメガエルを受精から変態開始期（St57）および変態完了期

(St66) までの長期間飼育により、脳下垂体とその標的器官である甲状腺、生殖腺ならびに個体の成長度合の変化について解析する。また、これらの結果をもとに、地上とは異なった重力環境において、生物が今まで継続してきた固有の生活環の維持が可能か否かについて、内分泌見地より検討する。

アフリカツメガエルを過重力環境で長期間の飼育するために、遠心力を応用した遠心式の過重力負荷装置を用いた。ツメガエルの生活環を考慮に入れ、受精卵が変態開始期および変態完了期に達するまで継続して厳密に維持・管理した。なお、地上での1Gに対し、低過重力として2Gを、高過重力として5Gをそれぞれカエルに曝露した。

アフリカツメガエルに対し2Gならびに5Gの過重力曝露を負荷すると、重力ストレスにより発生速度は阻害され、変態完了期であるSt66に到達するまでの期間は延長した。また、その傾向は過重力が大きくなるほど顕著であった。St57およびSt66に達したときの外部形態の変化について比較してみると、アフリカツメガエルの体長ならびに眼幅は2G、5Gとも減少し(図1)、カエルの外見は同等であるにもかかわらず、矮小化した形態を示した。このことも発達に要する時間が多くかかるのと同様に、発生阻害の結果であると考えられ、われわれのこれまでの報告⁹⁻¹²⁾と一致する。

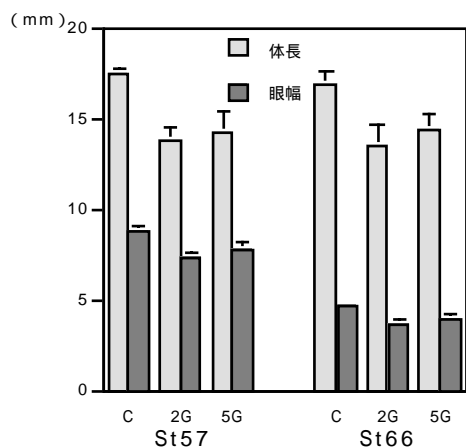


図1 過重力曝露によるアフリカツメガエルの外部形態変化

脳下垂体は多くのホルモン産生・放出の制御に関与しているが、過重力曝露によりこの器官の体積変化が認められ(図2)、St57の曝露群では対照群に比すすでに小型化の傾向を示し、St66となっても体積はほとんどは増大せず、脳下垂体機能が停滞して

いると思われる像が観察された。また、脳下垂体細胞もSt57まではどの環境下でもほとんど同数であったのに対し、St57からSt66へと移行する間に1G環境下では細胞数が増加したが、2G、5G曝露群ではほとんど増加は認められなかった(図3)。これらのことは、変態開始期までは過重力環境が脳下垂体細胞の増殖に影響を与えないが、変態完了期では受精から成熟期までの長期にわたる重力ストレスの蓄積により、正常な脳下垂体細胞の増殖が阻害されるものと考えられる。さらに、脳下垂体の細胞密度を計測すると、曝露群では確実に増えている。これらの体積の減少と細胞密度の増加という結果は、脳下垂体細胞が矮小化していることを意味している。実際、脳下垂体内の成長ホルモン産生細胞の面積は、過重力により顕著に減少し、細胞の小型化が観察されている。これらの結果も、過重力の影響によりツメガエルの脳下垂体細胞のホルモン産生・放出機能が低下する可能性が高いことを示している。

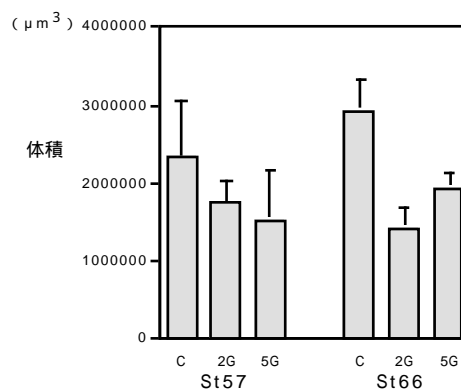


図2 変態期のアフリカツメガエル脳下垂体の体積の増加に対する過重力曝露の影響

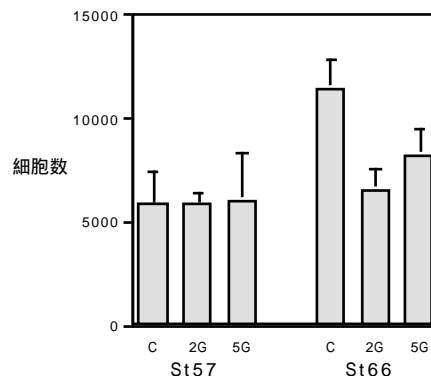


図3 変態期のアフリカツメガエル脳下垂体細胞の増加に対する過重力曝露の影響

過重力曝露の影響は、変態に大きく関与する甲状腺の形態に顕著にあらわれた。St57 では過重力群と対照群との間では、体積に大きな変化は認められなかったが、St66 になると 1G 環境では急激に増大するのに対し、曝露群では 2G、5G ではやや増加する程度であった（図 4）。また、ホルモン産生機能を反映している上皮細胞の高さ（細胞の濾胞に接する面から外に接する面までの長さ）も対照群では St57 から St66 までの間大幅に増大したが、曝露群ではわずかの増加が認められただけであった（図 5）。さらに、甲状腺濾胞の総体積も対照群では変態期間中に急激に増加し、上皮細胞で合成したホルモンを大型の濾胞中に多量に蓄え、容易に分泌していると思われる顕微鏡像を観察できたが、曝露群では若干の体積増加が認められただけであり、また、これらの甲状腺濾胞は小型で密に集合した形状を示していた。これらの結果より、甲状腺もまた重力ストレスにより機能低下をおこしていると考えられる。

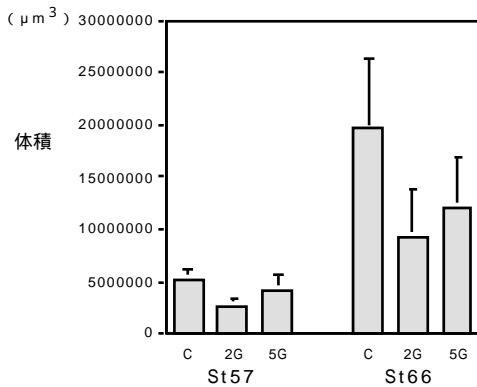


図 4 変態期のアフリカツメガエル甲状腺体積の増加に対する過重力曝露の影響

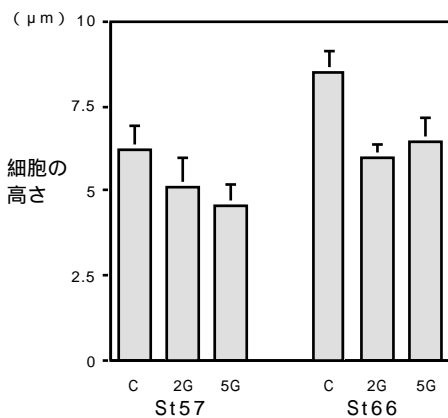


図 5 変態期のアフリカツメガエル甲状腺濾胞上皮細胞の増加に対する過重力曝露の影響

アフリカツメガエルの生殖腺は、変態が完了すると急速に肥大し、性成熟へと移行するが、St66 において対照群と過重力曝露群の間に顕著な形態学的変化はみられなかった。生殖腺の体積は精巣、卵巣ともに曝露群では個体間のばらつきが大きかったものの、対照群と比べ有意な差はなく、どちらの群も同程度の大きさを示していた。また、精母細胞または卵母細胞が精子や卵に移行する度合いも、曝露群、対照群ともに明らかな違いは認められず、生殖腺の成熟度もまた同程度であるといえよう。しかし、過重力曝露群の生殖腺が対照群と同程度の発生段階に到達するまでには、かなり長い時間を要したことから、過重力負荷がアフリカツメガエルの成熟を遅延し、正常な個体の発生に影響をおよぼしたことは明らかである。

地上と異なった重力環境の研究として、われわれは過重力曝露下（2G および 5G）でのアフリカツメガエルの長期飼育が、そのオタマジャクシの形態異常や発生遅延を引き起こすことを報告した⁹⁻¹²⁾。一方、実際の宇宙実験より、重力変化は動物の初期発生の異常を惹起するが、その後発生が進むにつれ、体の形成過程における強靱な補償作用により、異常性が克服されるという報告もなされている¹⁾。今回、われわれはアフリカツメガエルの受精から変態完了までの期間、過重力を継続して負荷することにより、過重力環境でも通常の地上重力環境の場合と同様に、尾が消失し変態を完了するが、ここに至るまでの時間は大幅に延長し、形成された体の大きさも著しく小型化する事を明らかにした。これらのことから、通常とは異なった重力環境が生物の変態に関与するホルモンの合成・分泌に影響をおよぼし、発生および変態過程に変化を与えることが推測できる。したがって、重力環境の異なる場所で生物が継代して生活を継続する際には、このような通常とは異なった発生形態をとる可能性も考慮に入れるべきであろう。

アフリカツメガエルに対する重力の影響を内分泌学的見地より解析する試みは、短期の過重力負荷実験によりなされているが、いずれも軽微な異常が報告されているのみで、過重力環境での内分泌学上の重篤性については言及していない⁶⁻⁸⁾。しかし、今回の過重力負荷実験の結果より、これらの曝露が脳下垂体の発生に障害を与え、正常な脳下垂体機能が阻害されている可能性が示唆されること、ならびに、甲状腺の発生と機能も阻害されている可能性が高いこと、さらに、生殖腺の発達遅延が起こっていることが明らかとなった。これらは、重力環境の変化は内分泌系には多大な影響をおよぼさないとす

る以前の研究結果⁶⁻⁸⁾と異なっているが、われわれの報告は、生活環に着目し、受精から変態までの長い期間の過重力曝露により得られた、これまでとは別の視点での結果であり、長期の重力ストレスが内分泌系におよぼす影響は甚大であるということができよう。

ヒトが地球とは異質の重力環境に移り住み、そこで親から子、子から孫へと世代交代をして生活を継続することを可能にするためには、ヒトが本来兼ね備えている地球環境での重力適応性を考慮し、新規の重力環境でも生体内の恒常性の維持ができるかを十分に吟味しなければならない。将来ヒトが宇宙へ生活圏を広げるためには、さらなる検討の積み重ねが必要である。

おわりに

地上重力と異なる環境がアフリカツメガエルの生活環、特に受精から変態完了までにどのような影響を与えるかについて、過重力負荷の状況を実験的に作成し、内分泌学的見地から形態学的手法を用いて解析した。アフリカツメガエルは2Gと5Gのどちらの環境でも変態完了期まで成長した。しかし、カエルは小型となり、そこに至るまでの日数も延長した。脳下垂体と甲状腺は過重力負荷の影響により小型化、ならびに細胞萎縮が確認され、全体的にホルモン合成・分泌の機能低下がおこっていると考えられる。過重力曝露は卵巣と精巣は大きさや性成熟度に変化を与えなかった。しかし、カエルの外部形態の発生度合いと同様に、変態完了するまでにかかった日数は増大した、また、その傾向は過重力が大きくなるほど顕著であった。これらの結果より、地上と異なる重力環境はアフリカツメガエルの生活環に甚大な影響を与え、内分泌系に機能不全あるいは機能異常をおこす可能性が示唆される。

参考文献

- 1) Souza, K. A., Black, S. D. and Wassersug, R. J. Amphibian development in the virtual absence of gravity. Proc. Natl Acad Sci. USA, **92**, 1975-1978, (1995)
- 2) Wassersug R. J., Vertebrate biology in microbiology. American Scientist, **89**, 46-53, (2001)
- 3) Black S. D., Twinning of amphibian embryos by centrifugation. NASA. Washington NASA Space Biol. Program, **p74**, (1984)
- 4) Snetkova, E., Chelneya N., Serova, L., Saveliev, S., Cherdanzova, E., Pronych S. and Wassersug, R. J., Effects of space flight on *Xenopus laevis* larval development. J. Exp. Zool., **273**, 21-32, (1995)

- 5) Neubert J., Schatz, A., Bromeis, B. and Linke-Hommes, A., Effects of gravity on early development. Adv. Space Res., **22**, 265-371, (1998)

- 6) Burden H. W., Zary J. T., Hodson C. A., Gregory H. L., Baer L. A. and Ronca A. E., Effects of hypergravity on ovarian-hypophyseal function in antepartum and postpartum rats. Aviat. Space Environ. Med., **73**, 110-114 (2003)

- 7) Megory E and Oyama J., Hypergravity induced prolactin surge in female rats. Aviat. Space Environ. Med., **56**, 415-418 (1985)

- 8) Shellenberger K. E., Grindeland R. E. and Hymer W. C., Rat anterior pituitary hormone cells: Responses to variable gravity. Aviat. Space Environ. Med., **69**, A37-44, (1998)

- 9) 柏木昭彦, 柏木啓子, 久保英夫, 新海正, 藤井博匡, 無尾両生類の変態におけるアポトーシスや体の形態・機能の変化と重力-1 Space Utiliz. Res., **17**, 84-87, (2001)

- 10) 柏木昭彦, 柏木啓子, 花田秀樹, 久保英夫, 新海正, 藤井博匡, 山下雅道, 無尾両生類の変態におけるアポトーシスや体の形態・機能の変化と重力-2 Space Utiliz. Res., **18**, 109-112, (2002)

- 11) Kashiwagi A., Hanada H., Kawakami S., Kubo H., Shinkai T., Fujii H., Kashiwagi K., Effects of high gravity on amphibian development.. Biol. Sci. Space. **17**, 215-6, (2003)

- 12) 柏木昭彦, 柏木啓子, 花田秀樹, 久保英夫, 新海正, 藤井博匡, 山下雅道, 無尾両生類の変態におけるアポトーシスや体の形態・機能の変化と重力-3 Space Utiliz. Res., **19**, 45-48, (2003)