

イモリ幼生へのヒキガエル肢芽移植に よって生じた誘導肢の側性

齋 藤 利 子

東京教育大学理学部動物学教室

昭和 35 年 10 月 13 日受領

有尾両生類における誘導肢に関しては、これまで多くの研究があるが、丘 ('34, '36, '43, '52) はサンショウウオ幼生にヒキガエル幼生の肢芽を移植して、従来ほとんど未開拓な状態であった肢による肢の同発生誘導を研究し、誘導肢に関する問題に多くの重要な解明の手がかりを与えた。その一つに誘導肢の側性の問題がある。

従来異発生誘導即ち肢以外の誘導原を用いて生じる誘導肢においては、体側に調和的なものより非調和的な側性を有するものがはるかに多く生じることが、しばしば報告されている (Balinsky, '33, Takaya, '41, Ichikawa & Amano, '49)。丘によると異目間肢移植において、誘導肢の側性は移植肢の側性ないしは移植方向とは関係なく、誘導肢と正常肢との相対的位置関係によって定まる。すなわち誘導肢が移植肢によりへだてられるときは調和肢、正常肢と直接相対するときは不調和肢となるという。

他方、碓井 '51, (関東支部大会講演) はサンショウウオ幼生を用い、その前肢を種々の条件の下に同種間移植を行ったが、後肢直前位置での移植において、移植前肢と密接に関係する過剰肢（前肢）と正常後肢と密接に関係を示す過剰肢（後肢）の二種の過剰肢を区別した。これら二種の過剰肢の側性も丘の見出した前記の法則に合致することをみている。しかしこの場合は過剰肢の生成位置は移植肢の移植方向と一定の関係を示した。

そこで異目間移植即ちヒキガエル肢芽をサンショウウオに移植して生じる誘導肢において、その側性に重要な意義をもつ生成位置が単に偶然的に定まるのか、それとも移植肢の移植方向との間に何等かの関係があるのではないかということがあらためて問題となる。

さらに碓井の実験においては、前述の正常後肢と密接な関係を持つ過剰肢は、正常後肢附近でのみ得られかつ肢移植以外の手術、たとえば生殖腺原基の移植や除去によってさえも生じる可能性がある (Humphrey, '33)。そうすると丘は正常肢附近だけで移植を行っているので、彼の得た誘導肢には、この正常肢附近でのみ生じそれと深い関係をもつ過剰肢が含まれている可能性も考えられなくはない。そこで丘の見出した前記の関係が正常肢からはなれた側腹一般で得られる誘導肢にも成立つかどうかを吟味して見る必要があるのではないと思われる。

著者は 1952 年より 1956 年にかけて、サンショウウオ幼生を用い、正常肢周辺のみならず、その間の側腹の諸部位にもヒキガエル肢芽を移植し、移植方向と誘導肢の生成位置や側性との関係を調べた。それによると、異目間移植においても、移植方向が誘導肢の諸性質に何等かの関係をもつことを示すような結果を得た。それについては近く報告する予定であるが、たまたま 1959 年イモリ幼生にヒキガエル肢芽を移植する実験を予備的に試みたところ、その結果得られた誘導肢の分化は、上記のサンショウウオでの実験における誘導肢にくらべて極めてよく、サンショウウオでの実験で不明確だった点を理解する上にも好都合のように思われる。そこでサンショウウオでの実験に関する報文に先だて、イモリを用いての実験結果を予報的に報告することとした。

この研究にあたり種々有益な御批判と御示唆をたまわった丘英通教授ならびに直接御指導いただいた碓井益雄助教授に謹んで感謝の意を表する。

- 1) さしあたっては生成機構の如何にかかわらず、移植体に接して生じ、宿主材料よりなる過剰肢をすべて誘導肢とよぶことにしておく。

材 料 及 び 方 法

宿主として、イモリ (*Triturus pyrrhogaster*) の発生段階 44—45 (岡田・市川, '47) の幼生, 移植肢としてヒキガエル (*Bufo vulgaris*) の幼生後肢の長さ/基部直径が 1.5/1—2/1 のものを用いた。

移植位置は左体側の後肢直前 (Pa 位置) 及び前後肢間の側腹中央 (M 位置), 移植方向は正常の向き (前後軸, 背腹軸とも宿主と一致: aa•dd) 及び前後軸のみ逆転した向き (ap•dd) の 2 通りとした。

移植にあたっては, 材料をクロレトンで麻酔後, 移植に用いる肢芽を眼科用手術はさみで基部周囲の体壁をくりぬくようにして切り取り, その基部を移植位置にピンセットで作ったさけめの中に挿入した。

手術した動物は一定時間後, 手術の適否をたしかめ, 飼育容器に移し, 変態のころまで飼育した。

その後 25% ホルマリンで固定し, 肢の骨格はメチレン青による全体染色をほどこして観察した。

結 果

実験個体数, 移植肢及び誘導肢の発生に関してまとめると第 1 表のようになる。

第 1 表 移植肢及び誘導肢の発生

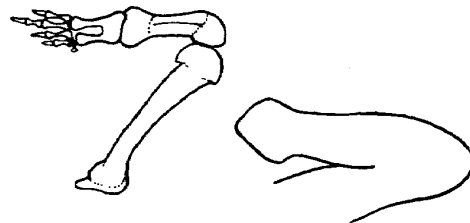
移 植 位 置	M		Pa		計
移 植 方 向	aa•dd	ap•dd	aa•dd	ap•dd	
移 植 数	8	8	15	16	47
移植肢退化	5	5	7	7	24
誘導肢の発生	3	1	12(+2)*	9**(+1)*	25(+3)*

* () 内の数は移植肢とおきかわった誘導肢の数。

** うち 3 例では移植肢の前と後に誘導肢を生じた。

a 移植肢の分化

実験個体総数 47 中 24 例 (51%) では, 移植肢が完全に退化吸収された。これまで行ってきたヒキガエル後肢芽のサンショウウオ幼生への異目間移植の場合にくらべると, 移植肢の退化吸収される率が非常に高い。しかし残りのものでは, 移植肢は小突起の状態に止まるか, 更に進んで或程度の分化を示した。よく分化した場合には, ヒキガエル肢骨格の各部の区分が明瞭で, 跗骨や趾骨もみとめられ, 側性を明らかに判定出来るものも少なくない (約 25%, 第 1 図)。なおサンショウウオへの移植の場合と同様, 移植肢の重複



第 1 図 イモリ側腹に移植され比較的よく分化したヒキガエル肢の外形 (右) 及び骨格 (左) [59—522] 手術後 50 日の右肢。

Fig. 1. Transplanted *Bufo* limb (right) and its skeleton (left) showing a considerable degree of differentiation.

- 1) サンショウウオ幼生に移植されたヒキガエル肢芽は, Oka ('43) によると 1/1—1.5/1 の肢芽移植で 267 例中 36 (13%) において退化吸収, 私の場合には移植肢の発生段階 (0.5/1—2/1 移植) や移植位置で異なるが, 平均して 7% である。

は全然みられなかった。

移植肢の構成材料については組織学的に調べてはいないが、丘('34, '36)がサンショウウオに移植したヒキガエル肢について見ているのと大体同様に、骨格はヒキガエル、表皮と血管は宿主材料よりなるものようである。なお丘の場合筋肉は全然みとめられなかったが、本実験ではよく分化した移植肢には僅かではあるが筋肉がみられた。

なお次に見るように、移植肢に接してしばしば誘導肢が形成されたが、移植肢の分化の度合と誘導肢形成の有無との間に特に関係は認められず、移植肢が吸収された場合でも、しばしば誘導肢が得られている。

b M 位置における誘導肢

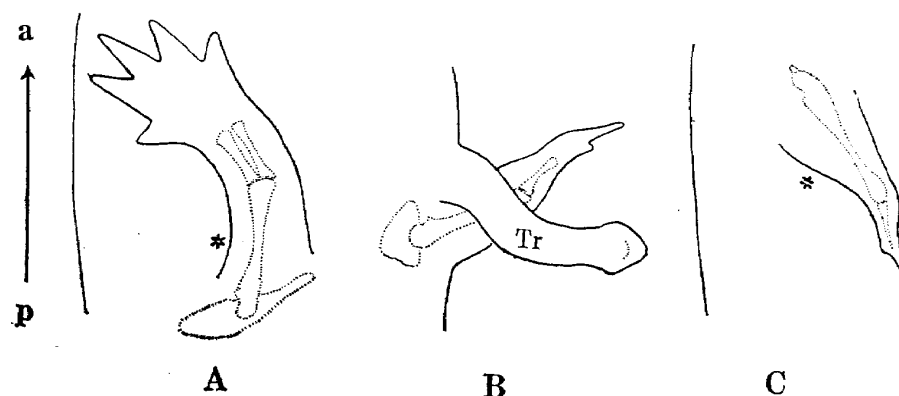
aa•dd 移植を行なった8例中3例(37%)で、また ap•dd 移植の8例中1例(12%)で誘導肢を生じた(第1表)。

aa•dd 移植の3例の誘導肢中2例は完全肢で後肢、残り1例は先端部の分化悪く基部型肢であった。また ap•dd の1例の誘導肢も基部型肢であった(第2表、第2図)。

第2表 誘導肢の分化型

移植位置		M		Pa	
移植方向		aa•dd	ap•dd	aa•dd	ap•dd
分化型	完全肢	2		9	8
	基部型肢	1	1	3	1
	型不明			2*	1*
計		3	1	14	10

* は移植肢とおきかわって生じた誘導肢。



第2図 M 位置における誘導肢 A: [59—533] aa•dd 移植における誘導肢。不調和肢で、植体移は完全に退化。 B: [59—532] aa•dd 移植における誘導肢。基部型の分化を示し、不調和肢である。 C: [59—521] ap•dd 移植における誘導肢。基部型で調和肢である。移植体は完全に退化。 Tr. 移植体。

*: 退化した移植肢の位置 矢印は宿主体の前(a)後(p)軸を示す。

Fig. 2. Induced limbs at the location M. A. Induced disharmonic limb in the aa•dd-transplantation. The graft was resorbed (Case 59—533). B. Induced disharmonic limb of the proximal type in the aa•dd-transplantation (Case 59—532). C. Induced harmonic limb of the proximal type in the ap•dd-transplantation. The transplant was resorbed (Case 59—521). Tr: transplant. * indicates the site of transplantation. The arrow points to the anterior end of the animal.

aa•dd 移植の誘導肢はいずれも移植肢の後方(尾方)に生じ、不調和肢であり、ap•dd 移植のそれは移植肢前方(頭方)に生じ調和肢であった(第3表)。

第3表 誘導肢の生成位置と側性

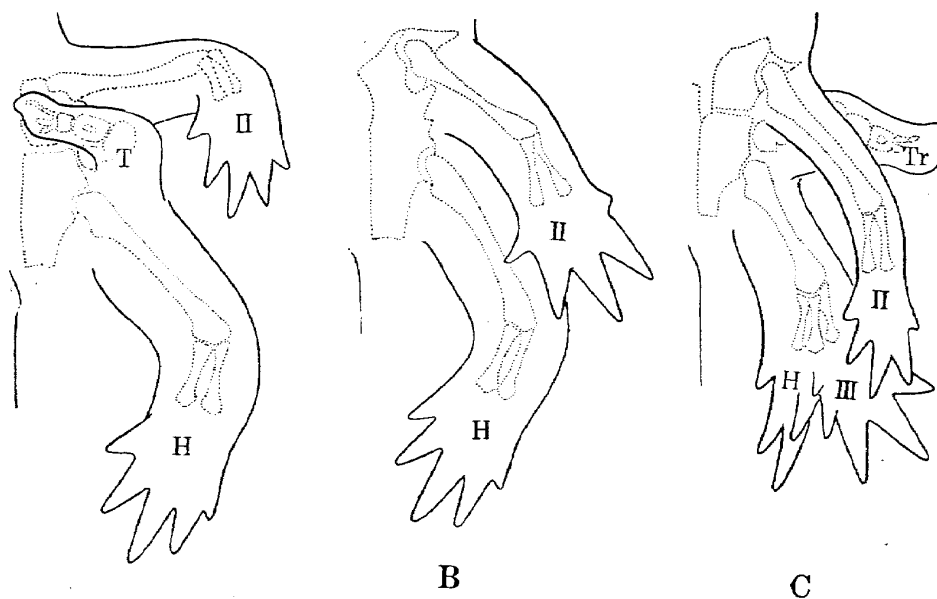
移植位置		M		Pa	
移植方向		aa•dd	ap•dd	aa•dd	ap•dd
側性		調和肢 不調和肢	調和肢 不調和肢	調和肢 不調和肢	調和肢 不調和肢
生成位置	移植位置後方	3	1	12	(3)
	前方				
	移植位置			2*	1*

() は第2の誘導肢

* 移植肢とおきかわって生じた誘導肢(側性不明)

C Pa 位置における誘導肢

aa•dd 移植を行なった 15 例中 14 例(93%)で誘導肢を生じた。うち 2 例は移植肢とおきかわった過剰肢で分化不完全で且不規則な形をしているが、他の 12 例はいずれも移植肢と正常後肢の間に生じた不調和な後肢で、正常後肢と完全に分離するもの 7 例から、並脚(Zeugopodium)で重複するものまで種々の程度の重複を示した。後者において、9 例は完全肢、残り 3 例は基部型分化を示した(第2表、第3図)。



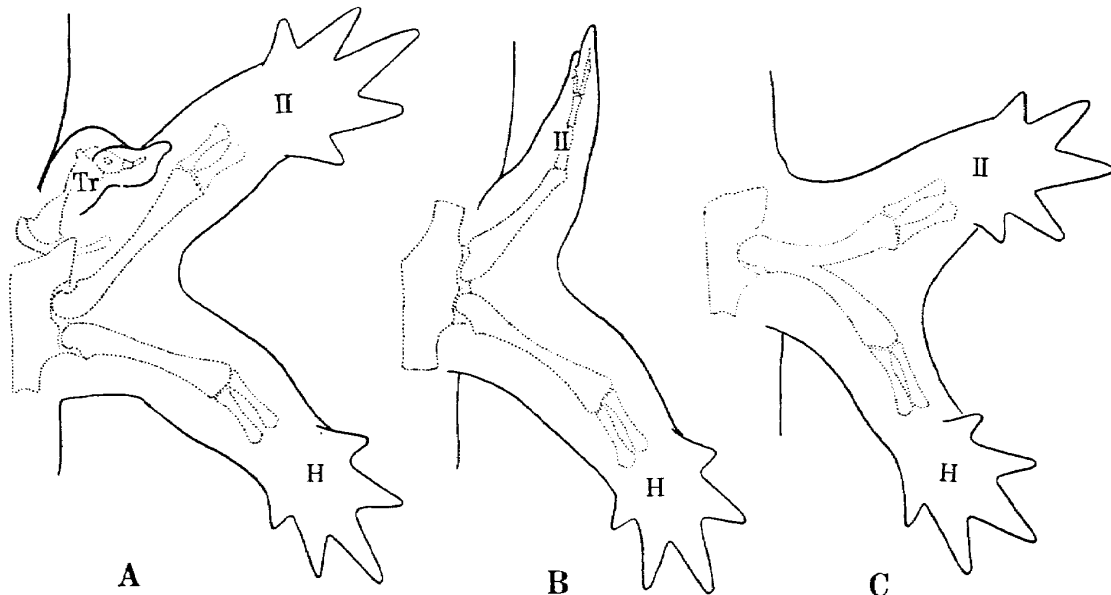
第3図 Pa 位置 aa•dd 移植による誘導肢 A [59—507], B [59—562], C [59—510] 誘導肢(II)が正常肢(H)と移植体(Tr)の間に生じ、不調和肢で、正常肢と種々の程度の重複の形をとることを示す。B 及び C では移植体が完全に退化。

Fig. 3. Induced limbs in the aa•dd-transplantation at the location Pa. A. Induced disharmonic limb (Case 59—507). B. Induced disharmonic limb. The graft was resorbed (Case 59—562). C. Induced disharmonic limb fused with the host hindlimb to form a double limb of the tibial type. The transplant was resorbed (Case 59—510).

Tr: transplant, II: induced limb, H: host hindlimb.

aa•dd 移植では、16 例中 10 例(63%)に誘導肢を生じたが、うち 1 例は移植肢とおきかわった分化の悪い不規則な形の過剰肢であった。残り 9 例のうち 6 例において移植肢前方に調和肢を、他の 3 例では同

じく移植肢前方に調和肢を生じたほかに、さらに移植肢と正常肢の間に不調和の第2の誘導肢を生じた。移植肢前方に生じた誘導肢9例中8例は完全後肢、残り1例は基部型肢であった。また移植肢と正常後肢の間に生じた不調和の誘導肢のうち2例は、正常後肢の並脚部より重複した形の完全後肢、残り1例は正常後肢の趾一部の重複した形のものである(第2, 3表, 第4図)。



第4図 Pa位置 ap•dd移植による誘導肢, A [59—513], B [59—517], C [59—568] は ap•dd移植によって, 誘導肢(II)が移植肢(Tr)の前方即ち移植体により正常肢(H)とへだてられた位置に発生し, 調和肢であることを示す。移植体の退化したもの(B)においてもこの関係が保たれる。 III: 第2の誘導肢。

Fig. 4. Induced limbs in the ap•dd-transplantations at the location Pa. A. Induced harmonic limb (Case 59—513). B. Induced harmonic limb. The was resorbed. (Case 59—517), C. Induced harmonic limb (II) was arised just anterior to the graft and the induced disharmonic limb (III) was occurred between the graft and the normal hindlimb (Case 59—568). Tr: transplant, II: induced limb, H: host hindlimb.

考 察

ヒキガエル肢芽をサンショウウオ幼生に移植した場合得られた誘導肢は、一般に分化が悪く、不完全肢が多いのに対し、この実験すなわちイモリ幼生へヒキガエル肢芽の移植では、同じく異目間移植であるのに関わらず、誘導肢の分化は非常に良好で、大部分においてその種別(前後肢の別)や側性などを明確に判定することができた。従って結果を整理する上にも好都合であった。

さて丘('43, '52)はサンショウウオ幼生の正常前後肢附近へヒキガエル肢芽(発生段階 1/1—1.5/1, 但し '52 では 1/1 のみ)を異目間移植して得られた誘導肢の側性に関し次のような仮説をたてている。即ち誘導肢が正常肢と直接面した位置に生じた場合には、不調和肢となり、移植肢により正常肢とへだてられた位置に発生した場合は調和肢となる。上記のイモリで得られた誘導肢の側性も、移植肢とおきかわった側性の判定できない3例をのぞいていずれもこの法則に合致しているわけである。もっともこのばあい、丘は彼の行なった移植条件の範囲内に関するかぎり移植方向は誘導肢の生成位置、したがってその側性にも特に関係はないとしている。そこでまず移植方向と誘導肢の生成位置の関係を調べてみると、M及びPa位置共に aa•dd移植と ap•dd移植の間で、誘導肢の生成位置に明瞭な差が見出される。いま移植肢が、そのまま誘導肢におきかわったもの3例を除くと、aa•dd移植では移植位置後方(移植肢と正常後肢の間),

ap•dd 移植では移植位置前方に誘導肢を生じる傾向が認められる (第 3 表)。

次に本実験においては、M 位置でも、完全な後肢が誘導されているので一応 M, Pa 位置とも後肢の場に属すると考えられ、その場合 M, Pa 位置は後肢前域にあたる。そこで正常後肢との関係を見ると、これら誘導肢の側性は、丘の仮説に合致してその位置関係によって定まる。即ち aa•dd 移植では、誘導肢は正常肢に直接面して不調和肢 (極性 ap•dd), ap•dd 移植では誘導肢は移植肢により正常肢とへだられて調和肢 (極性 aa•dd) となる。この際注目すべきことは、移植体の残存の有無は、結果に関係なく、初めの移植方向にしたがって上記の関係が正確に保たれることである (第 2, 3, 4 図)。

さらに Pa 位置での ap•dd 移植において得られた、移植肢と正常肢の間に生じた 3 例の第 2 の誘導肢はいずれも正常後肢と鏡像をなす不調和肢で、やはり丘の仮説に合致している (第 4 図, 第 3 表)。

したがって本実験においては、誘導肢の側性に関して正常肢附近のみならず M 位置においても、丘の仮説がなりたつわけである。

なお Pa 位置で得られた、移植肢と置換して生じた 3 例の過剰肢はいずれも、分化が悪く分化型、側性とも判定できなかった。

また実験数が少ないため一般的なことはいえないが、本実験に関するかぎり誘導肢は移植肢の背方あるいは腹方には生じなかった。誘導肢が更に重複したものもなかった。

丘 ('36, '40) は肢による肢誘導においては、移植肢は宿主体壁に潜在する肢形成能をよびさまし、さらに一度肢の発生が始まると、多かれ少なかれ生じる肢の性質決定にも関与するものであらうと考えている。この後の過程では、移植肢と宿主の類縁関係に応じて、同種間では移植肢が誘導肢の諸性質決定に強い影響を持つが、異種間、異目間と類縁が遠くなるにつれて、移植肢の誘導肢に対する影響は減少する。そして異目間移植での同発性肢誘導では、ほとんど異発生誘導と等しく移植体は単に肢形成能を覚醒させる作用を有するだけで、それ以上に誘導肢の諸性質の規定にあずからないとしている。

しかし今回の実験では移植肢は単に肢形成を誘発するだけでなく、上に見たように移植肢の移植方向が誘導肢の生成位置を規定し、従ってその側性決定にも関与するように思われる。サンショウウオ幼生の種々の位置に、丘が用いたのより進んだ発生段階のヒキガエル肢芽 (1.5/1—2/1) を移植した著者の 1952—1956 の実験においては、誘導肢の生成位置が移植方向に応じて正常肢と移植肢に対し一定の関係をとり様な結果を得た。さらに今回の実験すなわちイモリ幼生へヒキガエル肢芽を移植するという組合せにおいては、より明瞭に同様の関係を認めることができる。

それではどうして丘の場合、誘導肢の生成位置ないしその側性が移植肢により規定されず、著者の場合は移植肢により規定されるというような結果が得られたのだろうか。それについて、発生段階を異にしたヒキガエル肢芽をサンショウウオ幼生に移植した著者の実験 (未発表) の結果は或程度の示唆を与えるように思われる。

その実験によると、移植肢の発生段階が異なるにつれ移植肢の分化、誘導肢生成率、誘導肢の分化に差がみられる。また誘導肢の生成位置に関しても、若い発生段階の移植肢では、移植肢との相関関係は、はっきり認められないが、より進んだ発生段階の移植肢を用いたときは、何等かの規定にあずかるように思われる。イモリ幼生へヒキガエル肢芽を移植した本実験においても、少なくとも 1.5/1—2/1 の段階に達したヒキガエル肢芽を移植するときは、誘導肢の生成位置や側性に対し何等かの影響をもつもののように思われる。

ここで一応考慮しなければならないのは、Balinsky ('33) のイモリ (*Triton*) における鼻原基の同種間移植による肢誘導の実験で、鼻原基の特に感覚上皮が誘導肢と深い関係があることを見ている点である。本実験においても、位置関係につき見方を変えればほとんどすべての場合、誘導肢は移植肢の特定の部位が肢を誘導するような印象をも受ける。しかし移植肢、正常肢、誘導肢は軸関係のみについていえば、相対するものどうし相互に鏡像関係を示していて、碓井 ('51) のサンショウウオにおける前肢の同種間移植においての Pa 位置での過剰肢が、各肢間に鏡像関係をなりたたせるような生成位置と極性を示した結果と考えあわ

せると、特定部位が誘導に関係するというよりむしろ、正常肢と移植肢の軸の相互関係において、生成位置が定まると考えるのが妥当なように思う。しかしこの結果は、ごく限られた移植のもとで得られたものであり、それを確かめるためには更に実験を試みる必要がある。

次に Pa 位置での誘導肢と碓井が同位置で同種間移植で得た過剰肢と比較してみよう。

碓井('51)はサンショウウオ幼生の後肢前域 Pa 位置における前肢の同種間移植で、移植肢と密接に関係する過剰肢(ST 肢)と正常肢と密接に関係する過剰肢(SH 肢)の二種の過剰肢を区別している。この二種の過剰肢は種々の点で違いがみられる。すなわち ST 肢は dv 移植でよく発生し、移植肢(前肢)と同じ種別(前肢)で且これと尺骨型の鏡像をなし移植肢の重複した形をとり、部分分化の際は先端型となる。これは側腹後半における同種間移植により生じる過剰肢一般に共通にみられる性質であるという。一方 SH 肢は宿主肢と同じ後肢で、aa 移植で移植肢と宿主肢の間に非常によく発生し、部分分化の際は基部型となる。ap 移植では ap・dv 移植で僅かに移植肢の前方に発生し調和肢であり部分分化の場合先端型の傾向がある。これら両種の肢が区別されることは、Pa 位置では生成機構の異なった過剰肢の得られることを示している。

本実験において、大部分の場合、上述のように移植肢・誘導肢・正常肢は、軸関係に関していえば、相対するものどうし相互に鏡像関係を示している。とえろが Pa 位置での ap 移植において、移植肢前方に生じた調和的な誘導肢のほかに、移植肢と正常後肢の間に生じた第2の誘導肢は不調和肢で、これは正常後肢とは鏡像をなすが、移植肢とは鏡像をなしていない。部分分化肢が得られればさらに結果の判定に好都合であったが、すくなくともこの例外的な誘導肢は、この位置で異目間移植においても、一般誘導肢のほかに碓井のいう SH 肢の生じる可能性を示唆しているもののように思われる。

文 献

- Balinsky, B. I. '25 ROUX' Arch., 105, 718. ———— '33 Arch. Entw. mech., 130, 704.
 ———— '57 J. Exp. Zool. 134, 240. Humphrey, R. R. '33 Anat. Rec., 56, 1. Ichikawa, M. & H. Amano '49 Proc. Japan. Acad., 25, 25. Oka, H. '34 J. Fac. Sci. Tokyo Imp. Univ. 3, 365.
 ———— '36 動雑 48, 871. ———— '40 Annot. Zool. Jap., 19, 159. ———— '43 Sci. Rep. Tokyo Bunrika Daigaku, 9, 173. ———— '52 Annot. Zool. Jap., 25, 75. 田岡要・市川 衛 '47 実験形態学年報, 3, 1. Takaya, H. '41 Annot. Zool. Jap., 20, 181. 碓井益雄 '51 日本動物学会関東支部大会講演. Usui, M. '52 Annot. Zool. Jap. 25, 82. 碓井益雄 '53 科学 23, 241. 碓井益雄・浜崎 幹 '39 動雑 51, 195.

Résumé

On the Laterality of Induced Limbs Obtained by Means of the Xenoplastic Transplantation of an Anuran Limb Bud in *Triturus* Larvae

Tosiko SAITO

Zoological Institute, Tokyo Kyoiku University

A hindlimb bud of *Bufo vulgaris* was transplanted to young larvae of *Triturus pyrrhogaster* with the purpose of studying the factors governing the laterality of the homoio-genetically induced limb. The graft at stages 1.5/1 to 2/1 was placed on the mid-flank (location M) or to the site just anterior to the normal hindlimb (location Pa) of the host at stages 44 to 45. The orientation of the graft was aa・dd as well as ap・dd.

The transplanted anuran limb bud did not develop well on the host, and about half of them were resorbed completely, whereas in some favourable cases (25 per cent) the skeleton with every piece of cartilage differentiated in its interior, and its laterality could be determined.

Since most of the induced limbs obtained in the location M as well as in the location Pa were well differentiated hindlimbs, both locations may be judged as belonging to the hindlimb field.

According to Oka ('43, '52), the laterality of the induced limb in each limb field is determined principally by the relative position of that limb to the transplant and to the normal host limb, but no relation was found between the side of transplant on which the induced limb was formed and the orientation of the transplant.

Although Oka's rules were established on the results obtained in the region adjacent to the normal host limb, where the supernumerary limb formation by the shifting of the normal limb material might be possible (Humphrey, '33; Takaya, '41; Usui, '51), the results of the present experiment showed that his rules also hold true to the laterality of the induced limb at the mid-flank region, far from the host normal limbs.

In the present work, however, a close relation was observed between the relative position of the induced limb to the transplant and the orientation of the transplant. Thus, in the aa•dd-transplantations the induced limbs occurred on the caudal side of the transplant, i.e., between the transplant and the normal hindlimb, and they were disharmonic (polarity: ap. dd); in the ap. dd-transplantations the induced limbs were formed at the site cranial to the transplant, i. e., on the opposite side of the transplant as seen from the host hindlimb, and they were harmonic (polarity: aa. dd). Attention may be called to the fact that these relations were seen even when the graft had been resorbed completely.

For the difference between Oka's results and those of the present work concerning the relation between the position of the induced limb and the orientation of the transplant, it is likely that the fact, that the graft in the present work advanced slightly in age in comparison with those used in Oka's experiment, is responsible.

会 記 I

日本動物学会関東支部 3 月例会

日時: 昭和 36 年 3 月 18 日午後 1 時 30 分より

会場: 東京大学理学部動物学教室講義室

講演:

- 1) ペルーの風物誌 前 川 文 夫 (東大・理・植物)
- 2) 雪 男 探 検 小 川 鼎 三 (東大・医・解剖)

新着図書の供覧も行われ、来会者は 50 名を越える満員の盛会であった。当番委員: 江上信雄氏。