

顕微鏡の中の小さなクマ:クマムシの乾燥耐性

慶應義塾大学 医学部 助教 田中 冨
 東京大学 理学系研究科 助教 國枝 武和

1. クマムシの乾燥耐性

クマムシは体長0.1～1.2mmほどの小さな動物である(図1)。寸胴な体に8本の太い脚をもち、ゆっくりと体を揺すりながら歩く様子はまさに熊の様である。また、水の中を歩くことから、英語では“water bear”と呼ばれる。

クマムシには「乾燥耐性」と呼ばれる能力が備わっている。生息環境が乾燥すると、脱水して無水状態(含水量約3%)になり、水のない環境に耐えることができる。乾燥を防ぐのではなく、逆にカラカラに干涸びることで乾燥環境を生き抜くことができるのだ。われわれは、この極度に脱水した状態を「乾眠状態」と呼んでいる。乾眠状態になったクマムシは動かないし、呼吸もしない。生命活動に必要な水が存在しないため、乾眠状態のクマムシは「生き物らしさ」のない「物質」のようである。しかしながら、ひとたび水を加えると数十分ほど動き始める。乾眠状態のクマムシは死んでいるわけではない。仮死状態にあるのである。このような状態は「潜伏生命」と呼ばれている。

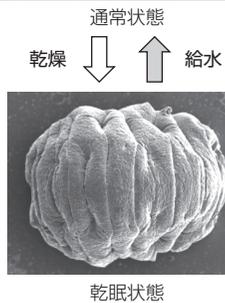
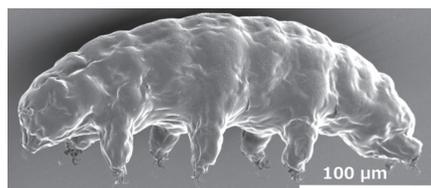


図1 クマムシの乾眠 (上)ヨコヅナクマムシの通常状態。左が頭部。4対目の脚は後方に伸びている。それぞれの脚先には爪がある。(下)乾眠状態。背側から観察した像。その形状から樽(たる)状態ともよばれる。走査型顕微鏡により撮影(撮影 田中冨・相良洋)

2. クマムシはどんな動物か?

クマムシは節足動物門と線形動物門の間に位置する緩歩動物門という動物門に属し、これまでに1000種以上が記載されている(図2)。海や湖水に生活する水生種と陸地のコケ上に生活する陸生種が知られており、日本の道路脇のコケからも見つかる一方で南極やヒマラヤ、深海からも見つかる非常に分布域の広い生き物である。乾燥耐性が確認されているのは陸生種の一部であり、コケの上でできる薄い水膜の中で生活し、周辺の水分の蒸発にともなって乾眠状態に入り、降雨による給水を待っている。

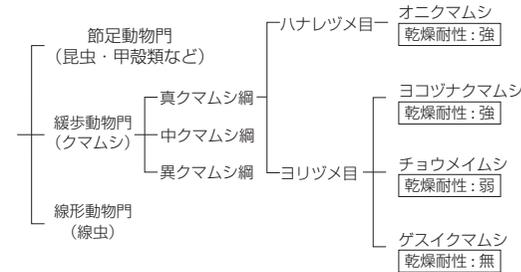


図2 クマムシの系統関係と乾燥耐性の強弱
 クマムシの系統学的位置を示した。真クマムシ綱にも乾燥耐性のある種とない種が入り混じっており、乾燥耐性の強弱と系統関係には相関が見られない。オニクマムシやヨコヅナクマムシは乾燥しやすい陸地のコケに生息する一方で、チョウメイムシやゲスイクマムシは湖水などに生息しており、乾燥耐性は生息環境と関わりがありそうである。

食性もさまざまであり、ワムシや線虫の体液を吸うものや、小さな緑藻を丸呑みするものが知られている。また、細菌類を食べることに特化したクマムシもいるようである。

乾燥耐性をもつクマムシの多くはメスしか存在しない。交配をせずに卵を産む。乾燥状態の1個体が風で飛ばされた場合にも、その場で繁殖が可能になるという点で有利なのではないかと考えられている。また、驚いたことに、この卵にも成体同様の乾燥耐性がある。クマムシは生活環のほぼすべてのステージで乾燥に耐えることができるのだ(図3)。

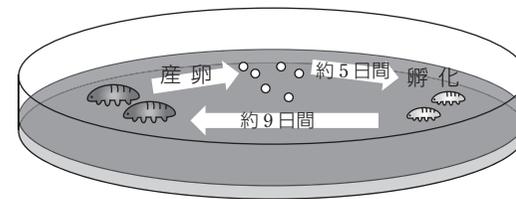


図3 ヨコヅナクマムシの生活環
 ヨコヅナクマムシはクロレラという緑藻を餌にして寒天の上で飼育している。5日ほどで卵から孵化し、成体とほぼ同じかたちの幼体が出てくる。孵化から9日ほどたつと卵を産むようになる。(クマムシの飼育に関しては、「クマムシ?! 小さな怪物」や「研究者が教える動物飼育1巻」に詳しく書かれているので、興味をもたれた方はそちらを参考にして頂きたい。)

3. 最強の生物? 乾眠クマムシの耐性

クマムシは「最強の生物」と呼ばれることがある。通常の生命体では耐えられないような極限環境にも耐えることができるからだ(表1)。このような極限環境耐性は、乾眠状態では化学反応の場となる水がほとんど存在しないために可能となると考えられている。

例えば、凍結である。生命体は細胞膜に覆われた細胞から構成されており、細胞膜が壊れることは致命的である。水の凝固点以下の低温環境では細胞内の水が凍結し、氷によって細胞膜が突き破られる。すると細胞の内容物が流出し、元に戻ることができなくなる。よって、凝固点以下の低温に生命体は耐えることができない。しかしながら、乾燥状態のクマムシには凍結する水が存在しないので、超低温である-273℃にも耐えることができる。また、面白いことに、クマムシは卵の状態(胚期)でも、成体とほぼ同様に、温度・圧力・放射線・化学物質などの極限環境条件への耐性を示すことが知られている。

表1 乾眠状態のクマムシが耐えることができる極限環境条件以下のストレスに曝した後も、給水すれば活動を再開できる。

温度	-273℃～151℃ (絶対零度)
圧力	真空～600MPa
放射線	X線・ガンマ線・重イオンビーム・紫外線
化学物質	有機溶媒・硫化水素・四酸化オスミウム

4. 宇宙に初めて曝露された動物 クマムシ

2007年9月、欧州宇宙機構によりクマムシの成体と卵を宇宙空間に曝露する実験がおこなわれた。これまで一部の細菌類などを宇宙空間に曝露する実験がおこなわれていたが、動物としてはクマムシが初めての例となった。

宇宙空間は、宇宙線(放射線)が飛ぶ真空の極限環境条件である。このような環境でも乾眠状態のクマムシが耐えることができるかが検証された。10日間の宇宙空間への曝露の結果、太陽光がもたらす紫外線を遮断すればその他の極限環境条件が合わさった宇宙空間でも耐えることがわかった(10日間の宇宙空間への曝露による紫外線の線量は、クマムシが耐えられる線量の100倍以上に相当する)。また、驚くべきことに、宇宙空間に曝露された成体のクマムシは、地球に帰還後、産卵することが可能で、その卵から幼体が孵化することも観察された。さらには、宇宙空間に曝露された卵からも孵化が観察された。このことは、乾眠状態のクマムシが宇宙空間で生命体としての機能を大きく損なうことがなかったことを意味している。いくらかの傷害は受けたであろうが、給水後に修復ができる範囲に留まっていたと推測される。この宇宙空間への曝露実験により、乾眠状態のクマムシは、紫外線を逃れることができれば、宇宙空間を移動できる唯一の動物として認められたのである。

5. 乾眠の分子メカニズムの研究

ほとんどの生物の体の約70%は水であり、生命にとって水は必要不可欠であると考えられている。しかしながら、クマムシはほぼ完全に脱水した乾眠状態になることができる。どうしてクマムシはこのようなことが可能なのだろうか。残念ながら、乾眠を可能にする分子メカニズムはほとんど明らかになっていない。乾眠のメカニズムの解明を目指し、日本国内だけでなく世界のさまざまな研究者がクマムシの研究に取り組んでいる。以降では、われわれが近年明らかにした研究成果についていくつか紹介したい。

実は、乾眠状態になることができる生物は、クマムシの他にも知られている。動物では、昆虫の一種であるネムリユスリカ・塩湖に生息する甲殻類の一

種であるアルテミア他、一部の線虫やワムシが乾眠状態になる(図4)。また、植物の種子や一部の細菌類においても乾眠状態が確認されている。

これらの生物における研究から、乾眠にはトレハロースという糖類とLEA(レア)タンパク質というタンパク質が関わっている可能性が考えられている。トレハロースもLEAタンパク質も乾眠状態の生体内に大量に蓄積していることから発見された。これらが生体内に大量に存在することによって、水分子の代わりとして働き、脱水時に起こるタンパク質や細胞膜の構造変化を抑えるのではないかと考えられている。

	トレハロース	LEAタンパク質
ネムリユスリカ(昆虫)		
アルテミア(甲殻類)	大量蓄積(15%以上)	大量蓄積
線虫の一種		
ワムシ	0%	
クマムシ	0~2.5%	???

図4 乾燥耐性動物におけるトレハロースとLEAタンパク質
ネムリユスリカ・アルテミア・線虫の一種ではトレハロースが乾燥重量の15%以上蓄積することが報告されている。一方で、ワムシやクマムシではトレハロースの蓄積はほとんど見られない。LEAタンパク質については、他の乾燥耐性動物ではタンパク質の性質などが研究されていたが、クマムシにおいては情報がほとんどなかった。

しかしながら、クマムシは乾眠状態であってもトレハロースをほとんど蓄積しないことが示されている。このことから、他の動物とクマムシの乾眠のメカニズムは異なる可能性が考えられる。また、LEAタンパク質については、これまでクマムシにおいてはほとんど研究されていなかった。そこでまずわれわれはクマムシにおけるLEAタンパク質を探索するため、LEAタンパク質の性質の一つである「熱可溶性」に着目した。「熱可溶性」とは90°C程度の熱処理の後でも可溶性を保つ性質を指し、一般的なタンパク質が熱変性によって凝集沈殿してしまう一方で熱可溶性タンパク質は沈殿せずに上清に存在したままとなる。この性質を利用し、クマムシにおける熱可溶性タンパク質を探索した。その結果、驚くべきことに、クマムシにはLEAタンパク質ではなく、これまでに報告されていないまったく新規の2種類の熱可溶性タンパク質が大量に存在することがわかった。これらタンパク質の細胞内局在を観察した

ところ、一方は細胞質に存在し、一方は細胞外に分泌されることがわかった(図5)。このことから、われわれはこれらタンパク質をそれぞれ細胞質局在性のカーズ(CAHS: Cytoplasmic Abundant Heat Soluble 細胞質に局在し、大量に発現する熱可溶性の)タンパク質と、細胞外分泌されるサーズ(SAHS: Secretory Abundant Heat Soluble 細胞外に分泌され、大量に発現する熱可溶性の)タンパク質と名付けた。これらタンパク質はクマムシ種に広く見つかり、進化的に保存されたクマムシ固有のタンパク質であると考えられる。

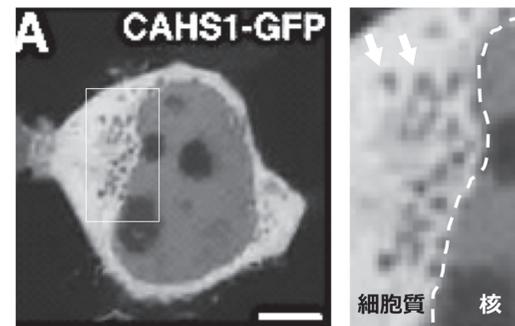


図5 クマムシ固有の熱可溶性タンパク質カーズタンパク質の細胞内局在
カーズタンパク質に緑色蛍光タンパク質(GFP)を結合させて、ヒトの培養細胞に強制発現させた。蛍光顕微鏡によりGFPを可視化し、カーズタンパク質の細胞内局在を観察した。グレースケールの明度が明るいほどGFP蛍光が強く、カーズタンパク質が多く存在することを示す。左図内の白枠の拡大図を右に示した。左側が細胞質、右側が核の領域であり、白矢印で示した細胞質内の丸い構造物がミトコンドリアである。カーズタンパク質はミトコンドリアに局在しないことがわかる。(Yamaguchi A, et al. 2012 PLOS ONE より一部改変)

クマムシ固有の熱可溶性タンパク質の細胞内局在解析の結果、ミトコンドリアに局在するタンパク質は見つからなかった(図5)。ミトコンドリアはエネルギーを作る重要な細胞内小器官であるとともに、細胞死の制御に関わることが知られている。ミトコンドリアが細胞内の脱水によって機能を失ってしまえば、クマムシは乾眠状態から復活できないだろう。そこで、われわれはミトコンドリアに局在する熱可溶性タンパク質が存在する可能性を考え、ミトコンドリアに着目した研究をおこなうことにした。その結果、ミトコンドリアに局在する熱可溶性タンパク質として、クマムシのミトコンドリアLEAタンパク質と、クマムシ固有のマーズ(MAHS: Mitochondria Abundant Heat Soluble ミトコンドリアに局在し、大量に発現する熱可溶性の)タン

パク質を同定した(図6)。

驚くべきことに、このミトコンドリア局在性熱可溶性タンパク質をヒトの培養細胞に強制発現させると通常のヒトの培養細胞と比較して高浸透圧耐性が增強することがわかった。高浸透圧環境への曝露は細胞に穏やかな脱水ストレスを与えることができる。このようなストレスを与えた後でも細胞の代謝活性が保たれていたということは、これらのミトコンドリアタンパク質が脱水に際して細胞の代謝機能の保護に関わっていることを示唆している。実際のクマムシの細胞の中では、ミトコンドリアの熱可溶性タンパク質2種類に加え、カーズタンパク質やサーズタンパク質が細胞内外の各所に配置されることによってクマムシの乾燥耐性が成り立っていると考えられる。

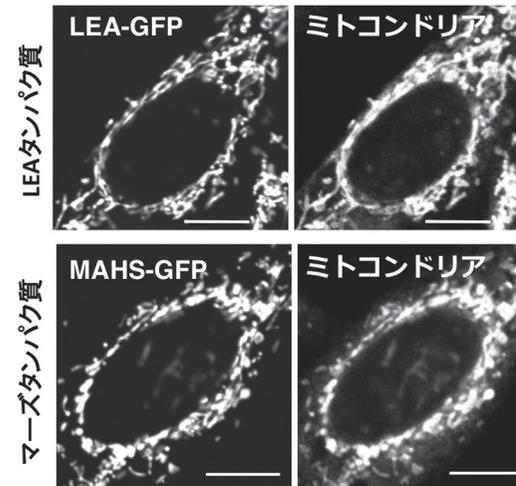


図6 クマムシのミトコンドリアに局在する熱可溶性タンパク質LEAタンパク質とマーズタンパク質
図5のカーズタンパク質と同じように、GFPを結合させたLEAタンパク質とマーズタンパク質をそれぞれヒト培養細胞に強制発現させ、蛍光像を観察した(左図)。同時にミトコンドリアを選択的に染めるMito-trackerを用いて、ミトコンドリアを可視化した(右図)。右図と左図を重ね合わせると、LEAタンパク質とマーズタンパク質それぞれがミトコンドリアとほぼ同様の局在パターンを示すことがわかる。このことから、これらのタンパク質はミトコンドリアに局在すると考えられる。(Tanaka S, et al. 2015 PLOS ONE より一部改変)

6. 今後の展望と応用に向けて

クマムシの分子生物学的な研究はまだ始まったばかりである。われわれの研究グループでは、ヨコヅナクマムシを用いて、ゲノムの解読、mRNAやタンパク質の網羅的な解析をおこなうことによって、乾眠のメカニズムを解析する基盤を構築してき

た。既にいくつか乾眠に関わる候補分子を明らかにしてきたが、乾眠のメカニズムに関わる分子は他にももっと存在すると考えられ、メカニズムの解明に向けて、明らかにすべきことは多くある。近年の分子生物学の急激な発展を背景に、クマムシのような変わった生き物の特殊な能力である「乾眠」のメカニズムが明らかになる日もそう遠くはないように思っている。

乾眠は生命と水の関係を考察する上で非常に興味深い現象である。一方で、乾眠のメカニズムの解明は、生体の新たな保存方法を提供することができるという点で、医療や産業への応用として重要な意味をもつ。クマムシをはじめとする乾眠生物の分子メカニズムを解明し、これを模倣することで安定した乾燥保存が可能になることが期待される。そうなれば、食料の保存だけではなく、細胞や精子・卵子の保存にも応用が可能になるだろう。乾燥した生体が水をかけると蘇るといふ小説や映画のような話も、少しずつ現実に近づいてきているかもしれない。

参考文献

- 鈴木 忠, クマムシ?! 小さな怪物(岩波書店, 2006)
- 日本比較生理生化学会 編集, 研究者が教える動物飼育1巻(共立出版, 2012)
- 堀川 大樹, クマムシ博士の「最強生物」学講座(新潮社, 2013)
- Jönsson KI, et al. 2008 *Curr Biol*
- Rebecchi L, et al. 2010 *J Zool Syst Evol Res*
- Møbjerg N, et al. 2011 *Acta Physiol*
- Yamaguchi A, et al. 2012 *PLOS ONE*
- Tanaka S, et al. 2015 *PLOS ONE*
- わむし屋, クマムシ飼料 ツキガタワムシ培養体 <http://www8.plala.or.jp/wamushiya/>