

レチノイン酸がプラナリアの頭部再生に与える影響について

森菜々美 森岡莉彩
山城梢 吉原莉菜

【概要】

脊椎動物の発生には、前方の組織を作る前方誘導と後方の組織を作る後方化という2つの過程がある。後方化は、後方化因子が分泌されることで起こることが知られている。本研究では、後方化因子の1つであるレチノイン酸 (RA) に着目し、RA がプラナリアの再生に与える影響について調べるため、1) RA が阻害する部位、2) 阻害するのに必要な期間、3) 阻害された個体の再生能力、4) 再生芽の有無による阻害効果の4つの項目について実験を行なった。実験結果より、1) RA は頭部再生のみを阻害する、2) 1日間だけの RA 処理でプラナリアの頭部再生は阻害される、3) 1度、RA によって頭部再生を阻害された個体も新しい切断面を作ることで頭部の再生ができる、4) 再生芽形成後では RA は頭部の再生を阻害しないことが明らかになった。これらの結果から、RA の標的は頭部の再生を行う再生芽であり、阻害の方法として、頭部の再生芽の形成自体を阻害している可能性、または、頭部方向に形成される再生芽の細胞の運命を後方化している可能性が考えられた。

In vertebrate species, uniform central nervous system is formed in the early developmental stage and transformed to anterior (head direction) or posterior (tail direction) by determinants. Retinoic acid (oxidation of retinol, i.e., Vitamin A) is one of the compounds controlling vertebrate posterior development. During our screening on planarians regeneration under RA solution, tail regeneration was observed on the individuals kept with RA solution in seven days, although their head regeneration was inhibited. Therefore, it is possible that RA also affects posterior and anterior developments in planarians.

From our results, only one day RA treatment could specifically inhibit head regeneration of the planarians. The ability of the head regeneration was not entirely lost by the RA treatment because once RA treated individuals regenerate their head after secondary cut in the absence of RA. We found that the RA could not inhibit head regeneration of the planarians individuals after the blastem formation the RA seems to inhibit head-regenerating blastem specifically.

【研究の動機と目的】

脊椎動物の発生では前方の組織を作る前方誘導、後方の組織を作る後方化と呼ばれる過程がある。後方化は後方化因子が分泌されることで起こることが知られている。レチノイン酸 (RA) は、後方化因子の一種であり、アフリカツメガエルなどを中心に研究が進められてきた。しかし、プラナリアにおける RA の効果についてはあまり知られていない。予備実験より切断したプラナリアの培養液に RA を加えて飼育すると、頭部の再生が阻害されることがわかった。そこで、私たちは、再生のメカニズムをより明らかにするため、1) RA が阻害する部位、2) 阻害するのに必要な期間、3) 阻害された個体の再生能力、4) 再生芽の有無による阻

害効果の4つの項目に着目して実験を行った。



写真 1. 左 (RA によって頭部再生が阻害された個体)
右 (正常個体)

2. 実験方法

(1) RA が阻害する部位

RA はプラナリアの頭部のみを阻害するのか、または切断直後に前方にある組織を阻害するのかを明らかにするために、①目の下 (コントロール)、②口の下で切断したプラナリアを RA 水溶液で飼育した。

(2) RA が頭部再生を阻害するのに必要な期間

目の下で切断したプラナリアを1から7日間、日数を変えて RA 水溶液で飼育を行なった後、水に入れ替え飼育をした。コントロールとして切断したプラナリアを DMSO (RA の溶媒) で飼育した。

(3) 頭部再生を阻害された個体の頭部再生能力

1 回目の切断を行ない 2 日間 RA 処理することで頭部再生が阻害された個体に 2 回目の切断を行い、水で飼育し頭部の再生を観察した。

(4) 再生芽形成前後での頭部再生

プラナリアを切断した後、1 から 3 日間水で飼育し、再生芽が形成されたプラナリアを RA 水溶液で飼育し頭部再生を観察した。コントロールとして切断したプラナリアを水と RA 水溶液でそれぞれ飼育した。

【結果】

(1) ①の個体は全て頭部の再生が阻害された。②の個体は口までは再生されたが、頭部の再生は阻害された。

(2) DMSO では頭部と尾部全ての個体で再生が確認された。1 日から 7 日間 RA 水溶液で飼育した個体は、尾部の再生は確認されたが、頭部は阻害されていた (表 1)。このことより、1 日間の RA 処理でも頭部再生が阻害されることがわかった。

表 1. DMSO (コントロール) と 1 から 7 日間 RA 処理後の頭部・尾部再生個体数

RA の処理日数	頭部再生	尾部再生
DMSO	5	5
RA(1日)	0	5
RA(2日)	0	5
RA(7日)	0	5

(3) 1 回目の切断部では頭部再生が阻害された。しかし、2 回目の切断後、水で飼育した個体は頭部が再生した (図 1)。このことより、頭部を阻害された個体には頭部再生能力があることがわかった。

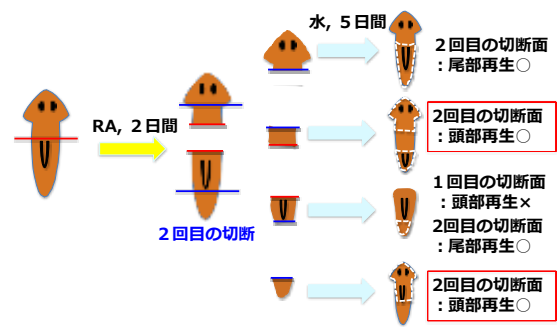


図 1. 実験 3 の結果

(4) コントロールの水と RA 水溶液で飼育した個体ではこれまでの実験と同様に、水では頭部の再生が確認され、RA 水溶液では頭部の再生が阻害された (図 2)。1 日間、水で飼育した後、6 日間 RA 水溶液で飼育した場合、頭部が再生された個体と頭部の再生が阻害された個体が混在していた。しかし、2 から 3 日間水で飼育した後、RA 水溶液で飼育した場合、頭部が再生した。この結果より、切断後 2 日間で再生芽が形成されるとすると、再生芽形成後ではレチノイン酸は頭部再生を阻害しないことがわかった。



図 2. 実験 4 の結果

まとめ

1~4 の実験から、RA の標的は頭部再生を行う再生芽であること、そして阻害の方法として 2 つの可能性が考えられる。1 つ目は、頭部の再生芽の形成自体を阻害することで頭部再生を阻害している可能性である。2 つ目は、今回観察に使用した実体顕微鏡では頭部方向に再生芽は確認できなかった、しかし、頭部には再生芽が存在しており、RA が頭部方向にある再生芽の頭部を再生するという細胞の運命を後方化することで頭部の再生を阻害している可能性である。

【今後の課題】

実体顕微鏡では確認できなかった頭部方向にある再生芽の確認を行いたいと考えている。

【参考文献】

宮崎武史. 切っても死なない無敵な生きものプラナリアってなんだろう？ 幻冬舎ルネッサンス, 2012.

木下圭・浅島誠. 新しい生物学生命の神秘が集約された「発生」の驚異. 講談社, 2003.