

プラナリアの個体崩壊の過程とカドヘリンの関与について

宮城県仙台第三高等学校

プラナリアは高い再生能力を持つことで有名な動物である。このプラナリアの個体崩壊のメカニズムを解明することで、人体の再生医療発展のきっかけをつかめるのではないかと考えている。

本校で昨年度までに実施された先行研究によると、プラナリアは熱刺激を受けると再生できずに死んでしまうことが判明している¹⁾。その際にプラナリアの細胞が散けて個体の輪郭が不明瞭になることを、「個体崩壊」と定義されている。個体崩壊は、刺激の受容体であるTRPA1 チャンネルが熱刺激やAITCの刺激を受けて活性化された結果、細胞骨格の1つアクチンフィラメントが崩壊することで起きる。本研究では、アクチンフィラメントの骨格構造崩壊のメカニズムをさらに詳しく明らかにすべく、アクチンフィラメントと結合している細胞接着分子のカドヘリンに着目し、個体崩壊とカドヘリンの関係性について実験を行った。

1.背景

本校で実施された先行研究によると、40℃のお湯に10分間プラナリアを入れると個体崩壊を起こすことが報告された。²⁾さらに、プラナリアにわさびやマスタードの刺激物質であるアリルイソチオシアネート(AITC)の刺激を与えたときも同様の個体崩壊が起きたことも報告されたことから、個体崩壊にはTRPA1チャンネルという刺激の受容体に関係している可能性が示唆された。³⁾また、プラナリアが熱刺激による個体崩壊を起こした際にアクチンフィラメントが遊離している様子が報告された。以上のことより、私達は、カルシウム依存性がある、個体崩壊には細胞接着分子であるカドヘリンが関与しているのではないかと考えた。そこで私達は個体崩壊にカドヘリンが細胞接着するために必要なカルシウムを培養液から除去する実験を実施し、個体崩壊が起こるかどうか調べた。

2.材料と方法

材料となるプラナリアは、本校第2グラウンドの側を流れる七北田川水系二級河川の高良川に生息しているものを採取した。今回の実験では、①カルシウム入り培養液、②カルシウム無し培養液、③カルシウム無し培養液+EDTAを自作した。また、カルシウム無し培養液ではカルシウムの代わりに塩化コリンを使用し、カルシウム除去材としてエチレンジアミン四酢酸1m/Molを用いた。それぞれの培養液を7℃から8℃に制御し、その中にプラナリアを一匹ずつ入れ10分間観察を行った。このとき、実験に使用したプラナリアは実験前に10日間絶食させた。

培養液の組成(カルシウム入り培養液)

NaCl	6.4*10M
KCl	6.6*10M
CaCl ₂	7.7*10M
NaHCO ₃	6.4*10M

3.結果

培養液①では個体崩壊が見られず、培養液②では個体崩壊は見られなかったが、プラナリアの動きが緩慢になった。培養液③では個体崩壊が見られ、さらに咽頭の飛び出しも確認できた。



fig1.培養液①のプラナリア



fig.培養液②のプラナリア



fig.培養液③のプラナリア



fig2.③のプラナリア(別角度)

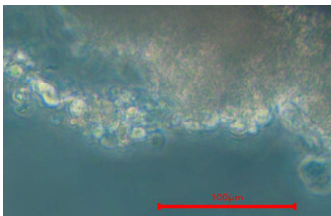


fig3.個体崩壊を起こした個体の表面

table1. 時間ごとの様子

	3分後	6分後	9分後	実験後	
W/ Ca					生存
W/O Ca					生存 動きが緩慢になった
W/O Ca +EDTA					個体崩壊 消化管が飛び出た

4 考察

EDTAを加えたプラナリアでのみ個体崩壊を起こしたことから、2価の陽イオンと個体崩壊には何らかの関係があると認められる。しかしながら、カルシウムの関与を強調するデータとしては不十分であるため、EGTAを用いて積極的なカルシウムの除去を試みた。その結果、それぞれのプラナリアについて同様の様子が観察されたことから、カルシウムの個体崩壊への関与を主張する。また、個体崩壊を起こした個体の表面の細胞が崩れている様子が観察されたので、カルシウムイオンを必要とするカドヘリンには細胞接着の役割があり、カルシウムの除去と同時にその機能が失われた可能性が指摘できる。

次に個体崩壊を起こしたプラナリアから咽頭が飛び出たことに関して考察する。ここで着目すべきは、咽頭が体内の組織から出てきたこと、加えて、個体崩壊を起こした本体と相反して咽頭は形を保っていたことの2点である。咽頭が体内から出てきた原因は咽頭付近の体表面の個体崩壊だと考察するのが妥当だったが、外液のカルシウムのみ除去したプラナリアの咽頭も突出していたことから、個体が体内のカルシウムの不足を感知し、咽頭からカルシウムの摂取を試みたという可能性や、カルシウムの不足に限定せず、単に個体が体内の異常による拒否反応を示したという可能性も指摘できる。次に咽頭が形を保っていたこと、つまり個体崩壊を起こした本体との相違性が認められたことについて論じる。本実験において個体崩壊の原因と結論付けたのは細胞接着の機能を有するカルシウムの不足である。この考察に従って推察するに、本体と比較した咽頭の形状保持においては、よりカルシウムイオンの必要性が低いと言える。より深く推察すると、プラナリアの細胞接着分子が

カルシウムを要するカドヘリンである可能性を踏まえ、咽頭の主要な細胞接着分子はカドヘリンではない可能性も指摘できる。

また、この実験においてEDTA及びEGTAを加えたプラナリアにおきた様子の変化として、寿命や他部位の激しい損傷、絶食による餓死などの他の要因も指摘されるが、三度行った本実験において、カルシウムイオン除去剤を加えたプラナリアのみが以上の要因で死んだ可能性は極めて低いと言えるであろう。

5 展望

この研究の最大の改善点はその実験回数にある。予備実験を含めてn回しか行っていないので継続研究を行う者には実験の反復を最優先事項とし、我々の研究結果の確実性を高めてもらいたい。本研究の成果においても、カドヘリン関与の可能性を指摘できたのみで、関与の主張をすることは難しい。更には我々の実験の本来の目的はプラナリアの個体崩壊の過程を明らかにすることであるため、カドヘリンの染色液等諸問題を了承の上、カドヘリン関与の断定のみならず、TRPA1チャネルとアクチンフィラメント及びカドヘリンの個体崩壊における関係を解明してもらいたい。

6 参考文献

(1)プラナリアからみる死の仕組み

平成28年度 仙台三高

(2)プラナリアの生と死の堺

平成29年度 仙台三高 芦立美春他

(3)プラナリアのストレス受容と個体崩壊の関係 令和

1年度 仙台三高 乙供真澄他

(4)プラナリアの個体崩壊の過程

令和2年度 仙台三高

(5)プラナリアの個体崩壊の過程と原因

令和5年度 仙台三高

(6)石原勝敏・山上健次郎 図説 教材生物 上

共立出版株式会社 昭和58年 P.24