

光がプラナリアの再生期間に与える影響

加納 環 中江 優来 永田 陽光 西山 旺佑 藤原 滉
兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2年

プラナリアは再生能力が高く、再生医療等の数多くの分野において研究対象となっている。プラナリアには負の走光性があり、眼で光を受容すると忌避行動を示す^{3),4)}。本研究では眼がない切断尾側個体に光を照射すると、素早く忌避行動をするために、通常より早く眼を再生するのではないかと考えて実験を行った。その結果、光の照射時間が長いほど眼の再生期間が短くなるということが判明した。また、眼のない切断尾側個体においても忌避行動が見られることが分かった。

1. 研究の目的

1.1. はじめに

プラナリアは再生能力が高く、無性生殖の場合には、自身の身体を2つに切って増殖（自切）することがわかっている。また、プラナリアの再生は自切だけでなく人工的に切断した際にも行われる^{3),4)}。そのため、再生医療をはじめとするさまざまな分野において実験動物として広く利用されている。プラナリアの再生は環境要因によって影響を受け、それに関する論文も多く発表されている。しかし、光が再生に与える影響に関する論文は少なく、明暗周期と再生期間の関係に焦点を当てたものは見つからなかったため、本研究で調べることにした。

1.2. 研究の動機と目的

プラナリアには両眼視野（図1参照）で光を感知すると、その光を避けようとして、光刺激を受けた方向と反対の方向へ逃げる性質（負の走光性）がある。このことから、プラナリアにとって光刺激は

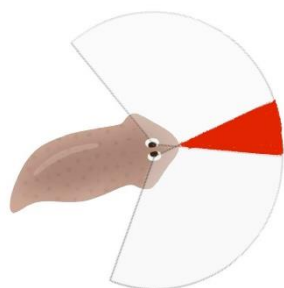


図1 両眼視野

生存に適さない状況となり、光を避けるために、眼を早く再生しようとすると考えた。そこで、プラナリアの切断尾側個体に光を照射すると再生期間が短くなるという仮説を立てた。明暗周期をパラメータとして再生期間の違いを調べることにした。

1.3. 本研究の特徴

先行研究では、水温が高くなることにより再生が早くなることが判明している⁵⁾。

本研究では、先行研究でまだ示されていない明暗周期に焦点を当てた。1日の明暗周期の割合を変えることによって、再生にどのような影響を与えるの

かを調べた。

1.4. 飼育方法

9月～12月の実験では、6月に芦屋川上流で採集したナミウズムシ（*Dugesia japonica*）（図2参照）約30個体を切断により個体数を増やして使用した。1月上旬に飼育していた個体が全滅したため、1月～2月の実験ではアメリカツノウズムシ（*Girardia dorotocephala*）（図3参照）約200個体を使用した。飼育時の水は、水道水1Lに対しチオ硫酸ナトリウム（ハイポ）約0.01gを加えたものまたは数日間汲み置いたものを使用した。



図2 ナミウズムシ

また、プラナリアは肉食であるため、アカムシを1週間に1度与えた。水質の悪化を防ぐため、給餌の翌日に食べ残しを取り除き、水換えを行った。なお、給餌直後に切断すると自らの消化液によって溶けてしまうため、切断する1週間前からは絶食させた。飼育容器にはシャーレを用いた。また、プラナリアは10～20℃の水温が最適であるため、18℃に設定したインキュベーターの中でシャーレを保管した。



図3 アメリカツノウズムシ

2. 実験

先行研究によりプラナリアは照度差を識別できない可能性が高いとわかっている¹⁾ことと、予備実験で飼育したプラナリアが500 lx以下の照度下で生存できたことから、本実験は照度を500 lx以下の条件下で行うことにした。本実験のために、図4の装置を製作した。プラナリアの入ったシャーレを

中に入れ、天井に LED (約 400 lx) を取り付けて光を当てた。明暗周期は、コンセントタイマーで調節した。



図 4-1 光照射装置

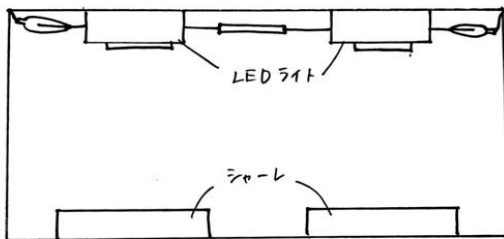


図 4-2 光照射装置の縦断面図

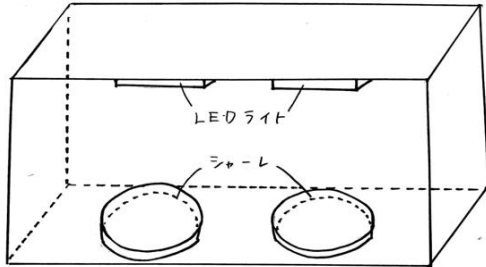


図 4-3 光照射装置の内部

本実験では、1日1回、顕微鏡によるプラナリアの眼の再生の有無の確認と、1日2回、ペンライトの光を当てた時の忌避行動の観察を行った。

本研究では、再生期間を切断尾側個体



図 5 眼 (ナミウズムシ)

の眼 (図 5 参照) が再生することと定義した。また、忌避行動は、頭部側から光を当てたときにプラナリアが 図 6 から 図 7 のように光と反対方向を向くこととした。

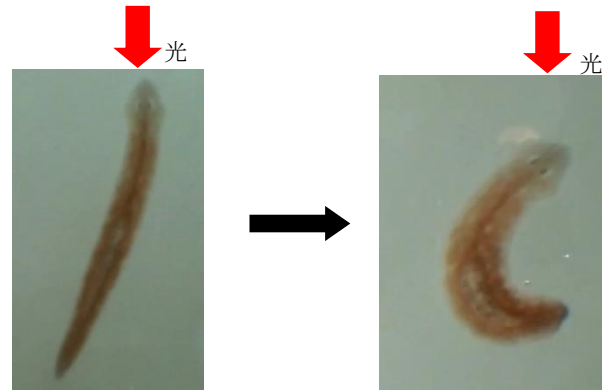


図 6 忌避直前

図 7 忌避直後

2.1. 本実験

〈仮説〉

光照射によってプラナリアの再生期間は短くなる。

〈1回目〉 (11/23~)

ナミウズムシを使用。以下の条件で実施。

- 1) 明期 24 時間-暗期 0 時間 (12 個体)
- 2) 明期 18 時間-暗期 6 時間 (12 個体)
- 3) 明期 12 時間-暗期 12 時間 (12 個体)
- 4) 明期 0 時間-暗期 24 時間 (6 個体)

結果

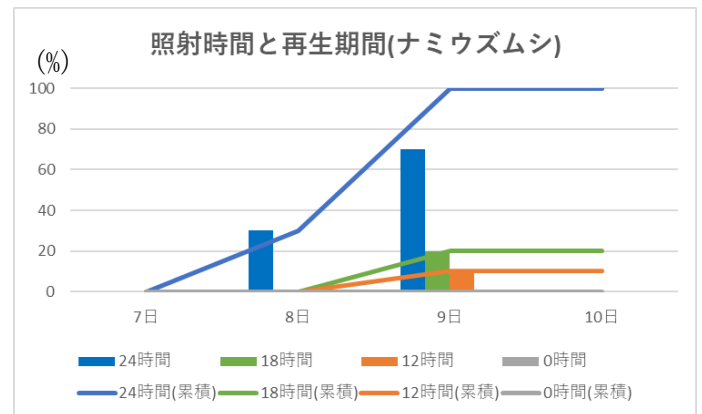


図 8 照射時間と再生期間 (ナミウズムシ)

光を照射した個体の再生期間は照射していない個体に比べて、短くなった。また、明期が 24 時間、18 時間、12 時間の個体の順に再生期間が短くなった。明期 24 時間の個体以外は実験期間中に再生が終了しなかった。

〈2回目〉 (12/21~)

ナミウズムシを使用。以下の条件で実施。

- 1) 明期 24 時間-暗期 0 時間 (5 個体)
- 2) 明期 12 時間-暗期 12 時間 (5 個体)

結果

全個体が実験期間中に死亡した。実験 2 回目までに飼育していたプラナリアが全滅したため、これ以降の実験ではアメリカツノウズムシを使用した。

〈3回目〉(1/21~)

以下の条件で実施。

- 1) 明期 24 時間-暗期 0 時間 (20 個体)
- 2) 明期 12 時間-暗期 12 時間 (40 個体)
- 3) 明期 0 時間-暗期 24 時間 (20 個体)

〈4回目〉(1/27~)

以下の条件で実施。

- 1) 明期 24 時間-暗期 0 時間 (12 個体)
- 2) 明期 0 時間-暗期 24 時間 (12 個体)

結果 (3 回目以降)

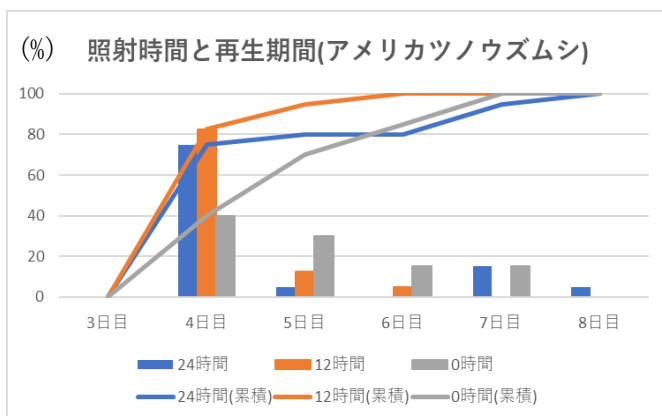


図9 照射時間と再生期間(アメリカツノウズムシ)

光を照射した個体の再生期間は照射していない個体に比べて、短くなった。明期 24 時間、12 時間の個体では再生期間に違いは見られなかった。

3. 考察

実験中に全個体が死亡してしまった、2 回目の実験を除く全ての実験において、光を照射することによってプラナリアの再生期間が短くなった。また、ナミウズムシとアメリカツノウズムシを用いた実験の両方で同様の結果が出たことより、このことは種に関わらずに起こると予想される。明期の長さとして再生期間の関係性については、明期 24 時間、18 時間、12 時間の 3 条件のデータしか取ることが出来ていないため、不明である。ナミウズムシでは再生期間が平均して 7 日~10 日であったのに対して、アメリカツノウズムシでは 4 日~7 日と大幅に短くなっていた。これは、ナミウズムシとアメリカツノウズムシの体長差によるものだと考えられる。(ナミウズムシの平均体長は 2 mm~6 mm 程度、アメリカツノウズムシは 10 mm~20 mm 程度)。

先行研究では、プラナリアは光を眼で受容して忌避行動を示しているとされていた¹⁾が、今回の研究の中で眼が再生していない個体においても図 6・図 7 のような忌避行動が確認された。(図 10 参照)。

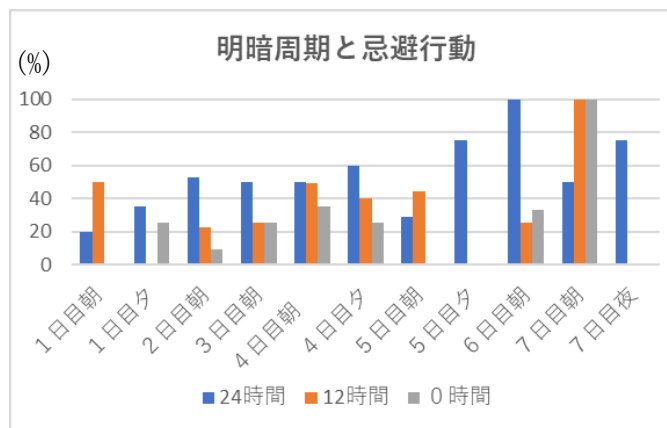


図 10 眼が再生していない個体の忌避行動

このことより、プラナリアは眼が再生する前から何らかの形で光を感知していると考えられる。ペンライトの光の熱を受容している可能性もあるが、先行研究よりプラナリアは全身で温度情報を感知した後、その情報を一度脳に伝達して反応を起こすことが分かっている²⁾。そのため、脳のない切断尾側個体では温度に対して反応を示している可能性は低いと考えられる。さらに、切断尾側個体の頭部側(図 11 参照)からペンライトの光を照射した場合は忌避行動を示したのに対し、尾部側から照射した場合には忌避行動は見られなかった。このことから、プラナリアの切断尾側個体は頭部側で光を受容していると考えられる。

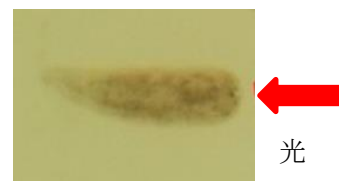


図 11 : 切断尾側個体

また、図 9 より明期の長さによっても忌避を示す個体数に差があったため、明期の長さとして忌避行動にも何らかの関係性がある可能性がある。

仮説では、忌避行動を示すために早く眼が再生するのではないかと考えていたが、眼が再生していない個体でも忌避行動が確認された。しかし、眼がある個体と比べると、眼が再生していない個体で忌避行動を示すものは少なく、光を当ててから忌避を示すまでの時間も長い傾向があった。そのため、眼がない状態でも一時的に忌避を示すが、より正確に光を避けるために眼を早く再生する必要があると考えられる。

4. 結論

仮説の通り、光照射によってプラナリアの再生期間は短くなる。このことは実験を行った 2 種類のプラナリア両方において成り立つ。眼がない状態でも

一時的に忌避を示すが、より正確に光を避けるために眼を早く再生しようとすると考えられる。

1631/ (参照日 2022 年 2 月 1 日)

5. 今後の展望

今回は、明期の長さや再生期間の関係性についてあまり多くのデータを取ることが出来なかったため、今後は条件を増やして実験を行っていく。また、ナミウズムシとアメリカツノウズムシでは光照射によって再生期間が短くなることが分かったが、他の種においてもこのことが成り立つのかということも確かめていく。今回は明暗周期と忌避行動の関係性についての詳しいデータを取ることが出来なかったが、今後はペンライトの光を当てる距離や角度などを統一して厳密なデータを取っていききたい。加えて、「眼がない状態でも一時的に忌避を示すが、より正確に光を避けるために眼を早く再生しようとする」ということを示すために、眼がある個体とない個体の忌避までの反応時間のデータも取る必要がある。

6. 謝辞

本研究にたくさんの助言やご指導をしていただいた本校の先生方並びにサイエンスアドバイザーの方々に心から感謝申し上げます。また、プラナリアの採取に関して教えてくださった本校総合理学科 8 期生の矢部清隆様にも厚く御礼申し上げます。

[参考文献・参考 URL]

1) プラナリアの自発振動からひも解く行動の適応戦略

https://www.jstage.jst.go.jp/article/hikakusei-riseika/36/3/36_166/_pdf/-char/ja (参照日 2022 年 2 月 1 日)

2) Thermosensory Signaling by TRPM 1s Processed by Brain Serotonergic Neurons to Produce Planarian Thermotaxis (2014)

<https://www.jneurosci.org/content/34/47/15701>
kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2014-11-19 (参照日 2022 年 1 月 31 日)

3) 手代木 渉 渡辺 憲二「プラナリアの形態分化—基礎から遺伝子まで—」(1998)

4) 手代木 渉 「プラナリアの生物学—基礎と応用と実験」(1987)

5) Effects of Fe³⁺ on Acute Toxicity and Regeneration of Planarian (*Dugesia japonica*) at Different Temperatures

<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2019/859>