

1. はじめに

みなさんは再生医療研究と聞いて何を思い浮かべるだろうか。iPS細胞や STAP細胞など、近年話題になったキーワードを想起する人が多いかもしれない。しかし、飛び抜けた再生性能を持つ生物の再生メカニズムについて研究することもまた立派な再生医療研究である。その飛び抜けた再生性能を持つ生物として、イモリやサンショウウオといった生物(両生綱有尾目)が挙げられる。これらの生き物は生涯を通じて四肢や尾から脳までも再生することができ、再生医療研究において貴重な研究対象となっている。一方、ヒトでは胚段階でしか再生性能が無く、カエルではオタマジャクシの段階で有していた再生性能は変態後には失われてしまう。

本稿では、中でも特に捕獲しやすいアカハライモリについて、損傷する部位の違いによって再生メカニズムにどのような変化が起こるのかを調べるため、同じ環境下で部位を分けて切断を行い部位ごとの再生速度の比較を行った。

2. アカハライモリ(*Cynops pyrryhogaster*)について

アカハライモリ(*Cynops pyrryhogaster*)は日本の固有種で、脊椎動物門両生綱有尾目イモリ科イモリ属に分類される。流れの穏やかな本州から九州の水田や川に広く分布している。両生類、爬虫類特有の愛らしい見た目を保持している上(※個人の感想です)、厳重な温度管理や生きた餌を必要とする爬虫類と比べて水槽と与えやすい固形の餌で済むため飼育のハードルが格段に低く、かつ広く分布、流通しているため、ペットとして飼育されることも多い。体長は10cmほどで、その名の通り腹部に見られる赤と黒のモザイク模様が特徴である。この模様は個体によってさまざまであり、個体識別に有用である。例として、次ページの写真1-1の個体と写真1-2の個体では腹部に見られる模様に差異が認められる。その皮膚からはフグ毒と同じ神経毒であるテトロドトキシンが分泌されており、手で触れた後には手を水でよく洗う必要があるが、分泌量は少なく目を擦るなどしない限り問題はない。また、今回実験で使用するように突出した再生性能を有していて、四肢や尾、皮膚はもちろん、脳や網膜までも再生したとする研究結果が残されている。なお、実験では2022年2月8日に兵庫県丹波篠山市で採集したアカハライモリを7個体使用した。



写真 1-1



写真 1-2

3. アカハライモリの再生について

アカハライモリの再生が研究者に注目され始めて約 4 世紀が経つ。未だにそのメカニズムの全容は解明されていないが、再生時の簡単な流れは明らかとなっている。

成体のイモリが肢を失うと、未分化の細胞が集合したふくらみができ再生が始まる。このふくらみを特に再生芽と呼ぶ。また、未分化とはさまざまな種類の細胞になる潜在能力をもっている状態のことである。驚くべきことに、イモリの再生で使われる未分化細胞は既に傷口の周辺部で組織を構成していた細胞が一旦その特徴を失い形成されたものである。この一旦特徴を失う(=既に分化した細胞が分化前に戻る)過程は特に脱分化と呼ばれる。一般にヒトでは細胞を脱分化させることができず、ヒトがイモリのように再生できないのはこのためである。イモリの再生の中で、特に筋肉の再生を例にとってみる。筋肉は多数の細胞が融合されて構成されているため複数の核を一細胞内に有する多核細胞であるが、切断が起こると切断面から核を 1 つだけ持つ細胞が分離して、先端部への移動及び分裂による増殖を繰り返し再生芽が形成される。そして再生芽内の細胞が増殖しながら再び分化を行い、筋肉が再生されていく。この場合であれば途中で起こった分離が脱分化にあたる。

このように、イモリは再生において特徴的な様相を呈するのである。

1. 実験方法

(1) 目的と概要

後足と尾を切断した個体群(A とする)、後足、尾のみを切断した個体群(それぞれ順に B、C とする)を飼育し、B、C で部位ごとでの再生の様子と速度を観察、A では B、C の再生過程をもとに尾と後足の再生における優先度合と速度の変化を調べる。

(2) 飼育

アカハライモリを大きさと切断方法で A-大、A-中、A-小、B-大、B-中、C-大、C-中に分類し、A-大、A-中を個体群 A、B-大、B-中を個体

群 B、C-大、C-中を個体群 C とする。1 つの切断方法において複数個体で行うのは個体差や実験途中での死亡や病気などのアクシデントを考慮し結果の正確性をできるだけ上げるためである。個体差については同じ環境に置かれた個体は再生速度に関して一定のポテンシャルを持っていると仮定しても問題ないと考えられる。

切断後は 7 匹を同じ 1 つの水槽で飼育し、水槽は採光窓の設けられた冷暗所に設置する。餌は冷凍赤虫を 4 日ごとに一定量与え、同時に水の交換も行う。

(3) 切断及び観察

切断方法は A から C までの 3 パターンを設定し、体長と尾長を測定した上で解剖バサミを用いて切断する。A から C については、A は左後足の関節部と尾の中央部の 2 箇所を、B は左後足の関節部の 1 箇所を、C は尾の中央部の 1 箇所を切断を行う。尾の切断は写真 2-1 のように、左後足の切断は写真 2-2 のように行う。

観察は数日おきに行い、個別に観察ケースに移して真上からと傷口の写真を撮影する。

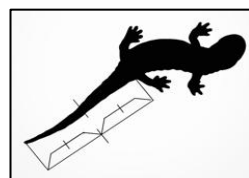


写真 2-1

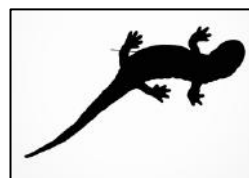


写真 2-2

5. 仮説

アカハライモリの尾は泳いだり体をコントロールしたりする際に必要なため、生存において片側の後足と比べ重要であると考えられる。よって、後足に比べ尾が優先的に再生されるように、個体群 A では後足の再生は停止するかまたは非常にゆっくりと起こり、尾が優先して再生されると考える。また、個体群 B 及び C と比べて個体群 A に含まれる個体は切断箇所が 2 箇所と損傷が大きいことから、各部の再生がゆっくりと起こると考えられる。

6. 実験結果

(1) 切断

個体群 A、個体群 B について切断し終わった後に、個体群 C に分類する予定であった個体 C-中に右前足の欠損が発見された。採集時には右前足の欠損は確認されなかったため、移動途中もしくは切断までの飼育中に何らかの影響で欠損したのだと考えられる。そこで、個体 C-中を個体群 D の個体 D とし、この個体には切断を施さずにそのまま経過を観察することとした。よって、個体群 C には個体 C-大のみが含まれることとなり、この個体は個体 C とした。アカハライモリの尾骨は想像より

も固く、切断には多少苦勞を要した。

切断時の出血の様子と切断した部位、元の体長と尾の長さ及び尾を切断した場合は切断後に残った尾の長さを以下の表 1 にまとめた。数値の単位は全て cm である。

表 1 個体名	切断した部位	体長	尾の長さ		出血
			切断前	切断後	
A-大	尾と左後足	12.10	6.00	3.00	なし
A-中	尾と左後足	8.20	4.80	2.40	あり
A-小	尾と左後足	7.05	3.80	1.90	あるが微小
B-大	左後足	10.20			なし
B-中	左後足	9.85			なし
C	尾	10.80	4.80	2.40	多い
D	右前足欠損	8.80			

(2) 経過観察

観察はスケジュールの都合もあり 2/17、21、25、28、3/5、11、16、22 の 8 日間行った。

① 尾の再生

尾の切断を行った個体群 A と C の 4 個体における日毎の尾の長さを下及び次ページの表 2 にまとめた。長さの単位は全て cm である。なお、尾の傷口すべてにおいて白い膜は見られなかった。ここで、個体ごとの尾の長さの伸長率(その日の尾の長さ÷初期値)を求め小数第 5 位を四捨五入したものを、長さの横の欄に記載した。そして、その値を縦軸に、月日を横軸にとって 4 個体の伸長率グラフを作成すると次ページのグラフ 1 のようになった。

表 2 月日	個体群 A						個体群 C	
	A-大		A-中		A-小		C	
	長さ	比率	長さ	比率	長さ	比率	長さ	比率
2/17	3.20	1	2.40	1	1.90	1	2.40	1
2/21	3.42	1.0688	2.51	1.0417	1.90	1	2.61	1.0875
2/25	3.65	1.1406	2.55	1.0625	1.91	1.0053	2.77	1.1542
2/28	4.01	1.2531	2.67	1.1125	1.91	1.0053	2.94	1.2250
3/5	4.12	1.2875	2.79	1.1625	1.93	1.0158	3.15	1.3125
3/11	4.18	1.3063	2.87	1.1958	1.99	1.0474	3.34	1.3917
3/16	4.26	1.3313	2.96	1.2333	2.00	1.0526	3.52	1.4667
3/22	4.46	1.3938	3.01	1.2542	2.14	1.1263	3.91	1.6292

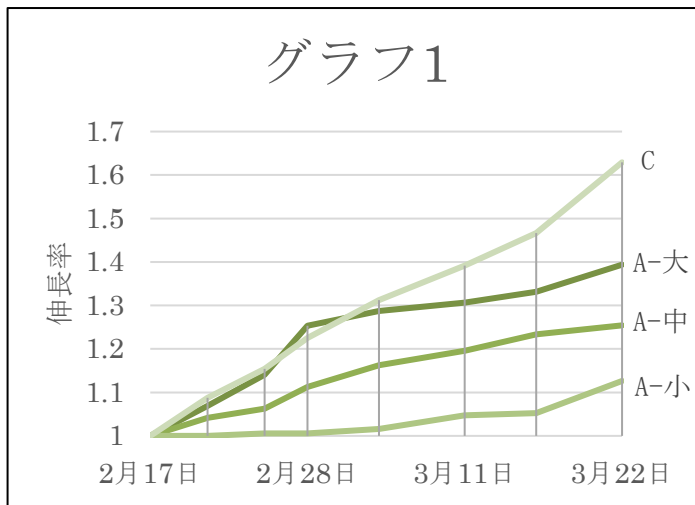
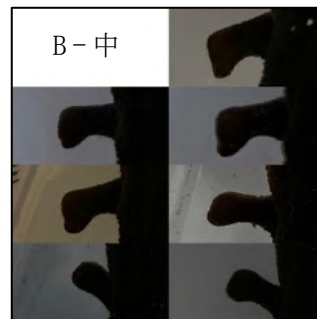
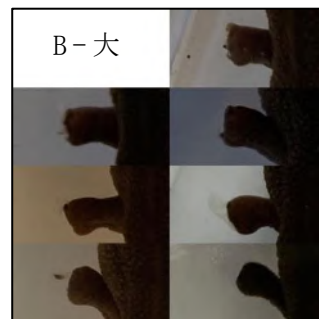
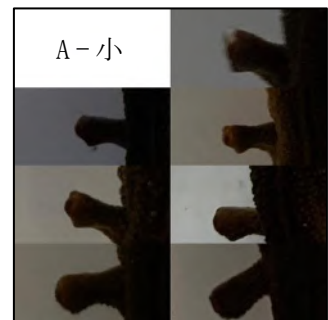
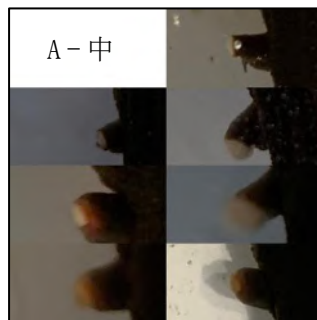
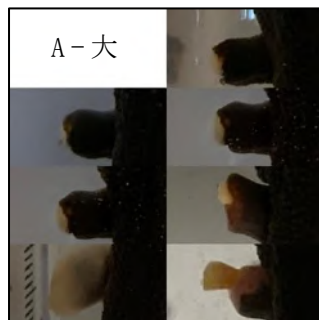


写真 3

②足の再生

左後足の切断を行った個体群 A と B について、再生の様子はそれぞれ以下の写真 A-大、A-中、A-小、B-大、B-中のようになった。また、右前足を欠損していた個体群 D の個体 D については、期間中常に患部に右上の写真 3 のように白い膜(傷口から水カビ病を発症したと考えられる)を形成し、3/11 時点で水槽内での死亡が確認された。

なお、写真の配置は右下の表を参照のこと。



個体名	2/21
2/25	2/28
3/5	3/11
3/16	3/22

7. 考察

(1) 尾の再生

グラフ 1 において、棒グラフの傾きが緩やかであることは再生速度が遅いことを意味している。よって、個体群 A は個体群 C と比べて尾の再生速度が遅いこと、また体長が大きい個体の方がより再生速度は速いことが読み取れる。

個体群 A の再生速度が個体群 C と比べて遅いことは、仮説で述べた通り、切断箇所が 2 箇所と損傷が大きかったためであると考えられる。また、体長の大きい個体の方がより再生速度が速いことは、体長の大きい個体の方がより成熟しきっていたため、つまり成長に必要な栄養量が少なく患部の再生に充てられる割合が大きかったためであると考えられる。水槽に与えた餌は常に一定量で、観察毎にほぼ全て無くなっていたので、生存に必要な栄養と再生に必要な栄養に加えて成長のための栄養が必要となると、必然的に再生に充てられる栄養の割合が小さくなるということである。ただし、この考察は個体の体長が成熟度に依存するという前提に基づいており完全なものとは言えない。出血量との相関は認められなかった。

(2) 足の再生

まず個体 D の実験途中での死亡について、写真 3 のように傷口から水カビ病を発症し衰弱して死に至ったものと考えられる。次に個体群 A について、個体 A-大と個体 A-中については再生はおろか、傷口の癒合すら完了していない。特に A-大については傷口周辺の筋肉組織が日毎に減っていつている。個体 A-大と個体 A-中については D と同じ水カビ病の発症を繰り返しており、その度に筋肉組織が減少していることが観察されるため、観察結果としては不適である。個体 A-小については、傷口の癒合は終了しているが、再生には至っていない。切断方法 A の結果としては個体 A-小の癒合はするが再生は認められない、ということを採用することとする。個体群 B について、個体 B-大と個体 B-中の 2 個体ともに傷口が癒合している。さらに、B-中は写真の白い丸部分若干の再生が認められる。B-中の 3/16 と 3/22 の写真はまるで足が縮小しているように見えるが、これは撮影ミスによって足が下を向いているためである。ここで、個体群 A では再生が始まっていないが、個体群 C に含まれる個体では再生が始まっているのは、尾と同様に切断箇所が 2 箇所と損傷が大きかったためであると考えられる。出血量との相関は認められなかった。

(3) 先度について

(1)と(2)より、両方の部位で切断を行った個体群 A では尾の再生は認められたが左後足の再生は認められず、かつ個体群 B、C 共にそれぞれ切断した部位で再生が認められた個体が存在したことより、仮説通りアカハライモリの再生においては左後足よりも尾が優先されると考えられる。理由も仮説で述べた通り、尾が左後足と比べて生存においてより必要性が大きいからであると考えられる。このような部位による再生の順位付けが存在することは、アカハライモリの再生において順位付けを調節している遺伝子系が存在していることを示している。

8. 結論

アカハライモリの再生において尾は左後足よりも優先されると考えられる。

9. おわりに

今回の実験ではアカハライモリの再生について再生速度に関する非常に興味深い知見を確認することができた。ただ、実験途中で病気を発症する個体が発生し個体群 A の尾の結果は個体 A-小のもののみから判断することとなった点、そして実験の着手が遅く再生期間を1ヶ月弱ほどしか設けられず完全再生まで至らなかった点は反省すべきことである。

アカハライモリの再生に関しては研究のテーマとなりうるものが数え切れないほど存在するので、機会があれば取り組んでみたいと思う。

10. 参考文献

・千葉親文「イモリの肢再生のしくみは変態によって切り替わる
～250 年来の謎に迫る発見～」筑波大学 HP

<https://www.tsukuba.ac.jp/journal/images/pdf/160330chibal.pdf>

(2022/03/26 最終閲覧)