

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：55301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06323

研究課題名(和文) 有性化因子を起点に近縁種プラナリアの有性化機構を比較して生殖戦略の進化を紐解く

研究課題名(英文) Comparing the sexualization mechanisms of related species planarians using sex-inducing factors to clarify the evolution of reproductive strategy

研究代表者

前澤 孝信 (Maewaza, Takanobu)

津山工業高等専門学校・総合理工学科・准教授

研究者番号：90548398

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：プラナリアは種によって無性状態が異なり、リュウキュウナミウズムシは卵巣原基のみを有するが、ナミウズムシは卵巣原基と精巣原基を共に有している。本研究では、様々なプラナリアの有性化機構の共通点と相違点を明らかにすることを目的とした。まず、リュウキュウナミウズムシOH株が20℃で有性化因子の投与で有性化する一方で、ナミウズムシSSP株は14℃において有性化因子の投与で有性化することを明らかにした。次に、OH株では卵巣がst.3まで発達した段階で精巣原基が現れ、st.5にかけて発達していく一方で、SSP株では、精巣原基が、有性化初期から卵巣と同様に発達していくことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

プラナリア種間の有性化機構の違いを細胞レベルで明らかにした。さらに、これまで有性化しないと考えられていたモデル動物の*S.mediterranea*を生殖転換できたことでプラナリア有性化機構を遺伝子レベルで解析する準備が整った。多くの動物が有性化することが知られており、本研究は、それらの機構を理解するための基盤となると考えられる。

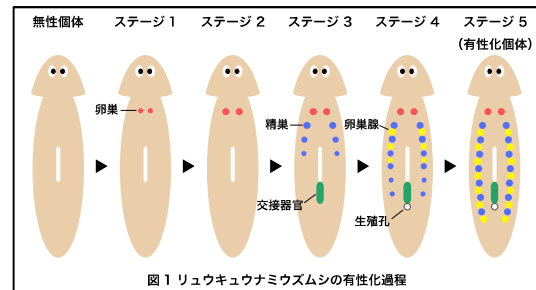
研究成果の概要(英文)：Planarians have different asexual states depending on the species, and *Dugesia ryukyuensis* has only ovarian primordia, whereas *Dugesia japonica* has both ovarian primordia and testicular primordia. The purpose of this study was to clarify the commonalities and differences between various planarian sexualization mechanisms. First, it was clarified that the *D. ryukyuensis* OH strain was sexualized by administration of sex-inducing factors at 20 ° C, while the SSP strain of *D. japonica* was sexualized by administration of sex-inducing factors at 14 ° C. In the OH strain, the testis primordia appears at the stage of st.3 when the ovary develops, and develops toward st.5. On the other hand, in the SSP strain, it was clarified that the development of the testis primordia occurs from the early stage of sexualization as in the ovary.

研究分野：生殖生物学

キーワード：プラナリア 有性化 生殖器官

1. 研究開始当初の背景

多くの動物種は無性生殖と有性生殖を1世代で環境条件により巧みに転換して子孫を繁栄させてきた。無性生殖は単為生殖と栄養生殖に大別され、単為生殖から有性生殖の転換に関してはミジンコをモデルとして、幼若ホルモンと *Dsx* 遺伝子を軸として研究が進んできた (Kato et al. *PLoS Genet* 2011)。一方で、栄養生殖から有性生殖への転換に関しては、有性化実験系が確立されている扁形動物プラナリアをモデルとして解析が行われてきた。プラナリアの無性個体に同種もしくは別種の有性個体のミンチを餌として与えることで雌雄同体性の有性個体を誘導できる (図1, Kobayashi et al. *Zool Sci* 1999)。この実験は有性個体に有性化を誘導する種間で保存された化学物質 (有性化因子) が含まれることを示している。リュウキュウナミウズムシの OH 株を試験個体として別種のイズミオウズムシ由来の有性化因子を探索する過程で、複数の低分子化合物の相乗効果で有性化が誘導されることを明らかになった (Kobayashi et al. *Front Zool* 2011)。さらに、有性化因子の1つとして D-トリプトファンを同定されている (Kobayashi et al. *Sci Rep* 2017; Maezawa et al. *Mech Dev* 2014)。D-トリプトファンを無性 OH 株に投与すると有性化の初期段階である卵巣発達が誘導される。これらの成果によって、リュウキュウナミウズムシの有性化の分子機構は有性化因子を軸として解析できる状況が整ってきた。



しかしながら、プラナリアに共通した有性化機構を解明していく上で障壁となるのは、種によって無性状態が異なる点である。無性状態は2つに大別され、リュウキュウナミウズムシのように卵巣原基のみを有するもの、近縁種のナミウズムシや地中海産プラナリア *Schmidtea mediterranea* のように卵巣原基および精巣原基を有するものが存在する。有性化初期にリュウキュウナミウズムシは卵巣のみが発達する一方でナミウズムシでは卵巣と精巣が発達する (Sato et al. *Dev Growth Differ* 2006; Sakurai *Annot Zool Jap* 1981)。これらのプラナリアは無性状態の違いから異なる有性化機構を有していると予想される。そこで本研究ではこれらのプラナリアの有性化機構の違いを細胞レベルで明らかにすることを目的とした。

2. 研究の目的

前述を踏まえて本研究では、リュウキュウナミウズムシ、ナミウズムシ、*S. mediterranea* の有性化過程を比較し、プラナリア有性化機構の共通性および多様性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

リュウキュウナミウズムシの OH 株、ナミウズムシの SSP 株、*S. mediterranea* のバルセロナ 10 株を各 20 個体もしくは 10 個体を用意し、にイズミオウズムシのミンチを与えて、生殖器官の発達を比較した。卵巣および交接器官の発達は外部形態で容易に観察できる。有性化ステージは小林博士らの記載 (Kobayashi et al. *Zool Sci* 1999) に従って判定した。ステージを判定した個体について組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオシン染色により細胞レベルでの変化、特に卵

巢や交接器官以外の生殖器官の分化について観察した。

4. 研究成果

[ナミウズムシの生殖器官の発達過程]

リュウキュウナミウズムシの OH 株の場合、20°C でイズミオオウズムシのミンチを投餌することで有性化する (Kobayashi et al. *Zool Sci* 1999)。ナミウズムシの SSP 株を同様に 20°C の条件下で有性を誘導した所、ほとんどの個体で分裂が起こり (20 個体中 19 個体)、生殖器官の発達した個体は得られなかった。そこで、分裂を抑制するために低温 (14°C) の条件下で有性を誘導することに変更した。その結果、交接器官の発達した有性化個体を得ることに成功した (20 個体全て)。外部形態の観察から、卵巢の発達に続いて、交接器官の発達が観察された。次に、組織切片を作成して HE 染色により内部組織を観察し、精巢の発達について調べた。OH 株では、卵巢が st.3 まで発達した段階で精巢原基が現れ、st.5 にかけて発達していくことが知られている。しかしながら、SSP 株では、無性状態で、すでに存在している精巢原基が、有性化初期から卵巢と同様に発達していくことが明らかになった。

[*S. mediterranea* の生殖器官の発達過程]

次に、ヨーロッパ産の *S. mediterranea* の有性化過程を調べることにした。ナミウズムシの場合と同様に低温条件を試した所、バルセロナ 10 株で有性化に成功した (20 個体全て)。 *S. mediterranea* の無性系統では染色体の転座のため有性化しないと考えられており、大きな発見といえる。外部形態の観察から、卵巢の発達に続いて、交接器官の発達が観察された。次に、組織切片を作成して HE 染色により内部組織を観察し、精巢の発達について調べた。 *S. mediterranea* の有性化段階を組織レベルで調べた結果、ナミウズムシと同様な有性化段階を経ることが明らかになった。

以上より、リュウキュウナミウズムシ OH 株では卵巢が st.3 まで発達した段階で精巢原基が現れ、st.5 にかけて発達していく一方で、ナミウズムシ SSP 株や *S. mediterranea* バルセロナ 10 株では、精巢原基が有性化初期から卵巢と同様に発達していくことが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takanobu Maezawa, Masaki Ishikawa, Kiyono Sekii, Go Nagamatsu, Ryohei Furukawa, Kazuya Kobayashi	4. 巻 7
2. 論文標題 D-Tryptophan enhances the reproductive organ-specific expression of the amino acid transporter homolog Dr-SLC38A9 involved in the sexual induction of planarian <i>Dugesia ryukyensis</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Zoological Letters	6. 最初と最後の頁 4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40851-021-00173-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Nakagawa Haruka, Sekii Kiyono, Maezawa Takanobu, Kitamura Makoto, Miyashita Soichiro, Abukawa Marina, Matsumoto Midori, Kobayashi Kazuya	4. 巻 4
2. 論文標題 A comprehensive comparison of sex-inducing activity in asexual worms of the planarian <i>Dugesia ryukyensis</i> : the crucial sex-inducing substance appears to be present in yolk glands in <i>Tricladida</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Zoological Letters	6. 最初と最後の頁 14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40851-018-0096-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Sekii Kiyono, Yorimoto Shunta, Okamoto Hikaru, Nagao Nanna, Maezawa Takanobu, Matsui Yasuhisa, Yamaguchi Katsushi, Furukawa Ryohei, Shigenobu Shuji, Kobayashi Kazuya	4. 巻 9
2. 論文標題 Transcriptomic analysis reveals differences in the regulation of amino acid metabolism in asexual and sexual planarians	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6132
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-42025-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Kitamura Makoto, Tanaka Hiroyuki, Horiguchi Yurie, Manta Sayaka, Saito Ikuma, Iwaya Hisashi, Okamoto Hikaru, Nagao Nanna, Yanagihara Yumi, Taguchi Yu, Tezuka Rei, Maezawa Takanobu, Sekii Kiyono, Kobayashi Kazuya	4. 巻 38
2. 論文標題 Sex-Inducing Activities of the Land Planarian Bipalium nobile Extract Fractions, Obtained Using Bioassay-Guided Fractionation, in the Freshwater Planarian Dugesia ryukyuensis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2108/zs210029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 清水辰海, 江川碧唯, 石川正樹, 関井清乃, 古川亮平, 小林一也, 石田哲夫, 前澤孝信
2. 発表標題 プラナリア有性化におけるアミノ酸の役割
3. 学会等名 日本動物学会第87回
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Maezawa T, Shimizu T, Egawa A, Ishikawa M, Sekii K and Kobayashi K
2. 発表標題 Mechanisms in ovarian development during sexual induction of the planarian Dugesia ryukyuensis
3. 学会等名 International Planarian Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前澤孝信, 清水辰海, 江川碧唯, 石川正樹, 関井清乃, 小林一也
2. 発表標題 プラナリア有性化過程における卵巣形成機構
3. 学会等名 日本動物学会第86回
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	柴田 典人 (Shibata Norito) (60402781)	津山工業高等専門学校・総合理工学科・教授 (55301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------