

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：24506

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22124004

研究課題名（和文）プラナリアの再生原理の探求

研究課題名（英文）Research of molecular logic for planarian regeneration

## 研究代表者

梅園 良彦（Umesono, Yoshihiko）

兵庫県立大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：20391881

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 69,200,000 円

研究成果の概要（和文）：申請者らは、再生能力の特に高いプラナリア種（ナミウズムシ）の再生原理の解明をめざした。その結果、ERKタンパク質とb-cateninタンパク質がからだの前後軸に沿って相反する活性勾配を形成することにより、からだの異なる領域（頭、咽頭前部、咽頭部と尾）が再生できることがわかった。さらに、ナミウズムシの再生原理にもとづいて、もともと尾部から頭部を再生できない別種のプラナリア（コガタウズムシ）では、b-catenin活性が過剰に働くことによって頭部再生が不全であることがわかった。遺伝子操作によりb-catenin活性を阻害されたコガタウズムシ尾部断片は、完全に機能的な頭部を再生することができた。

研究成果の概要（英文）：Planarian regeneration serves as a platform to study how animals can precisely restore their missing body parts after injury. The planarian *Dugesia japonica* can regenerate a complete individual even from a tiny tail fragment via activation of somatic pluripotent stem cells called neoblasts. We found that interplay between anterior extracellular signal-related kinase (ERK) signaling and posterior b-catenin signaling can account for the reconstruction of a complete head-to-tail axis after amputation. Furthermore, our data suggest that the balance between anterior ERK signaling and posterior b-catenin signaling may vary among planarian species, resulting in the drastic differences of the head-regenerative ability of their tail fragments. We demonstrated that RNA interference of the b-catenin gene enabled de novo regeneration of a functional head from head non-regenerative tail fragments of the planarian *Phagocata kawakatsui*.

研究分野：発生生物学

キーワード：再生原理

#### 1. 研究開始当初の背景

プラナリアは、明瞭なからだの領域性を示し、頭部には脳を有しているにもかかわらず、全身に存在する分化性幹細胞から脳細胞を含むすべての細胞種を再生することができる。しかしながら、プラナリア再生の分子機構は不明のままであった。

#### 2. 研究の目的

プラナリアの再生過程における位置情報形成メカニズムを分子レベルで解明する。また、頭部を再生できないプラナリア種に遺伝子操作により頭部を再生させることをめざす。

#### 3. 研究の方法

シグナル阻害剤やRNA干渉法などを駆使しながら遺伝学的に個体レベルで解析する。また、次世代シーケンサーを用いてトランスクリプトーム解析をおこない、再生に関与する遺伝子を同定する。

#### 4. 研究成果

(1) JNK タンパク質の活性化によって、未分化なプラナリア幹細胞(新生細胞)が細胞分裂を経て、再生芽を形成し、その後、ERK タンパク質の活性化によって、様々な細胞種へと分化することを明らかにした。

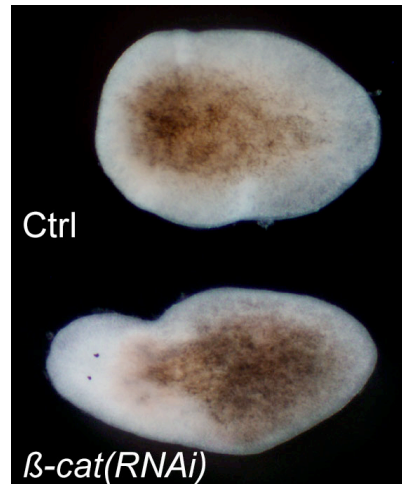
(2) ERK タンパク質と  $\beta$ -catenin タンパク質はからだの前後軸に沿って相反する活性勾配を形成し、からだの異なる領域(頭、咽頭前部、咽頭部と尾)が再生できることを明らかにした。この仕組みにおいて、*nou-darake* (脳だらけ) 遺伝子 (RNAi によって機能阻害すると、脳が頭部を超えて過形成する) および  $\beta$ -catenin 活性は独立に ERK タンパク質の活性化に対して抑制的に働くことがわかった。これらの結果から、新生細胞は ERK タンパク質の活性化によって、もともと頭部の細胞に分化するように指令されるが、*nou-darake* 遺伝子や Wnt/ $\beta$ -catenin 経路が ERK タンパク質の活性化レベルを低下させることによって、その指令を咽頭前部や咽頭部や尾部の細胞へとそれぞれ運命転換させていると結論づけることができた。

(3) ナミウズムシの再生原理にもとづいて、別種のプラナリアであるコガタウズムシ(もともと尾部から頭部を再生できないプラナリア)では、 $\beta$ -catenin 活性が過剰に働くことが頭部再生不全の原因であることを実験的に証明した。*\beta*-catenin 遺伝子を RNA 干渉によって機能阻害されたコガタウズムシ尾部断片は、完全に機能的な頭部を再生することができた(図)。

(4) ナミウズムシの再生過程におけるトランスクリプトーム解析をおこない、からだの領域の前方化に働くことが期待される複数の新規遺伝子を同定することに成功し、これ

ら遺伝子の機能解析を進めている。

(5) これまでの成果は評価され、特に(3)は世界に大きなインパクトを与えた。今後はプラナリアの再生原理を手がかりに、脊椎動物の再生原理を解明することによって、将来の再生医療に貢献できることをめざす。



#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計6件)

- ① Hwang, B., An, Y., Agata, K. and Umesono, Y., Two distinct roles of the *yorkie/yap* gene during homeostasis in the planarian *Dugesia japonica*. *Development, Growth & Differentiation*, 査読有, 57, 2015, pp. 209-217, 10.1111/dgd.12195
- ② Agata, K., Tasaki, J., Nakajima, E. and Umesono, Y., Recent identification of an ERK signal gradient governing planarian regeneration. *Zoology (Jena)*, 査読有, 117, 2014, pp. 161-162, 10.1016/j.zool.2014.04.001
- ③ Umesono, Y., Tasaki, J., Nishimura, Y., Hroudá, M., Kawaguchi, E., Yazawa, S., Nishimura, O., Hosoda, K., Inoue, T. and Agata, K., The molecular logic for planarian regeneration along the anterior-posterior axis, *Nature*, 査読有, 500, 2013, pp. 73-76, 10.1038/nature12359
- ④ Umesono, Y., Tasaki, J., Nishimura, K., Inoue, T. and Agata, K., Regeneration in an evolutionarily primitive brain - the planarian *Dugesia japonica* model. *European Journal of Neuroscience*, 査読有, 34, 2011, pp. 863-869, 10.1111/j.1460-9568.2011.07819.x
- ⑤ Tasaki, J., Shibata, N., Nishimura, O.,

Itomi, K., Tabata, Y., Son, F., Suzuki, N., Araki, R., Abe, M., Agata, K. and Umesono, Y., ERK signaling controls blastema cell differentiation during planarian regeneration. *Development*, 査読有, 138, 2011, pp.2417-2427, 10.1242/dev.060764

- ⑥ Tasaki, J., Shibata, N., Sakurai, T., Agata, K. and Umesono, Y., Role of c-Jun N-terminal kinase activation in blastema formation during planarian regeneration. *Development, Growth & Differentiation*, 査読有, 53, 2011, pp.389-400, 10.1111/j.1440-169X.2011.01254.x

[学会発表] (計 16 件)

- ① 梅園良彦, Diversity of head regenerative ability along the anterior-posterior axis among planarian species, 第 37 回日本分子生物学会年会, 2014 年 11 月 25 日~27 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市西区)
- ② 梅園良彦, Regulation of stem cell differentiation during planarian regeneration, 2nd International Picobiology Institute Symposium, 2014 年 10 月 9 日~10 日, 先端科学技術支援センター (兵庫県赤穂郡上郡町)
- ③ 梅園良彦, プラナリアを用いた再生研究の最前線, 生化学若い研究者の会 夏のセミナー (招待講演), 2014 年 8 月 2 日, 大阪大学 吹田キャンパス (大阪府吹田市)
- ④ 梅園良彦, Why does regenerative ability vary among animal species? -A case study in planarians-, 第 47 回日本発生活物学会大会, 2014 年 05 月 27 日~30 日, ウィンクあいち (愛知県名古屋市中村区)
- ⑤ 梅園良彦, Stem cell differentiation along the anterior-posterior axis during planarian regeneration, 1<sup>st</sup> ASIAN PLANARIA MEETING, 2014 年 05 月 07 日~09 日, 香港 (中国)
- ⑥ 梅園良彦, The molecular logic for head regenerative and head non-regenerative ability among different planarian species, 日本発生活物学会第 46 回大会, 2013 年 05 月 28 日~31 日, くにびきメッセ (島根県松江市)
- ⑦ 梅園良彦, プラナリア: 全能性幹細胞システムを理解・操作するためのモデル実験生物, 第 12 回日本再生医療学会総会, 2013 年 03 月 21 日~23 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市西区)
- ⑧ 梅園良彦, Molecular basis of stem cell dynamics in planarian regeneration, EMBO Conference "The molecular and cellular basis of regeneration and tissue repair", 2012 年 09 月 02 日~06 日, オックスフォ

ード (イギリス)

- ⑨ 梅園良彦, Molecular basis of stem cell dynamics in planarian regeneration, ISSCR 10<sup>th</sup> Annual Meeting, 2012 年 06 月 13 日~16 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市西区)
- ⑩ 梅園良彦, Molecular basis of stem cell dynamics in animal regeneration: a lesson from the planarian *Dugesia japonica*, Joint Meeting of JSDB 45th & JSCB 64th シンポジウム (招待講演), 2012 年 05 月 28 日~31 日, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市中央区)
- ⑪ 梅園良彦, Cellular and molecular basis of morphological regeneration: the planarian *Dugesia japonica* model, 第 34 回日本分子生物学会年会 (招待講演), 2011 年 12 月 13 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市西区)
- ⑫ 梅園良彦, Brain regeneration in the planarian *Dugesia japonica*, The 21th CDB meeting (招待講演), 2011 年 11 月 24 日, 理研 CDB (兵庫県神戸市中央区)
- ⑬ 梅園良彦, An ERK/*DjmkpA/nou-darake* module in blastema cells regulates stem cell dynamics during regeneration of the AP patterning in planarians, Exciting Biology Series, 2011 年 9 月 30 日, 理研 CDB (兵庫県神戸市中央区)
- ⑭ 梅園良彦, Molecular basis of the anterior-posterior patterning during planarian regeneration, 第 44 回日本発生活物学会年会, 2011 年 5 月 19 日, 沖縄コンベンションセンター (沖縄県宜野湾市)
- ⑮ 梅園良彦, Molecular basis for the anterior-posterior patterning during planarian regeneration, JSDB-GFE Joint meeting of Developmental Biology, 2011 年 3 月 23 日, ドレスデン (ドイツ)
- ⑯ 梅園良彦, The molecular basis for intercalary regeneration in the planarian *Dugesia japonica*, Molecular and cellular basis of regeneration & tissue repair, 2010 年 9 月 29 日, セジンブラ (ポルトガル)

[図書] (計 1 件)

- ① 梅園良彦 (8 番目) 他 38 名, Springer, *New Principle in Developmental Processes*, Chapter 6: Determination of Stem Cell Fate in Planarian Regeneration, 2014, 321 (pp. 71-83)

[その他]

ホームページ等

<http://reg.biol.sci.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織  
(1) 研究代表者

梅園 良彦 (UMESONO, Yoshihiko)  
兵庫県立大学・大学院生命理学研究科・教授  
研究者番号： 20391881

(2) 研究分担者

樽井 寛 (TARUI Hiroshi)  
理化学研究所発生再生科学総合研究センター・ゲノム資源解析ユニット・ユニットリーダー  
研究者番号： 90342815