

Immunohistochemical study regarding apoptosis
in the trophosome of the beard worm,
Oligobrachia mashikoi (Siboglinidae, Annelida)

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/42954

環形動物門Siboglinidae科マシコヒゲムシの栄養体におけるアポトーシスに関する 免疫組織化学的研究

浅田光子

〒927-0553 鳳珠郡能登町小木 金沢大学自然計測応用研究センター, 臨海実験施設

Mitsuko ASADA: Immunohistochemical study regarding apoptosis in the trophosome of the beard worm, *Oligobrachia mashikoi* (Siboglinidae, Annelida)

石川県能登半島にある九十九湾には、環形動物門に属するマシコヒゲムシが生息している。ヒゲムシ類は口も消化管も持たず、体の後部にある栄養体と呼ばれる部分に化学合成細菌を共生させ、これが合成する炭水化物を利用して生きている。しかしながら、ヒゲムシ類の幼生には口や消化管が存在し、消化管内の卵黄顆粒を吸収して成長する。この時期に口から化学合成細菌が侵入し、消化管上皮細胞内に入り込む。幼生が卵黄顆粒を吸収し終わると消化管は退化し、体の後部の消化管上皮細胞は化学合成細菌を共生させるバクテリオサイトと呼ばれる細胞に変化する。バクテリオサイトとそれに密着する脂肪貯蔵細胞を合わせた部分が栄養体である。一般的に、消化管上皮細胞は消化管の形態を維持するために高頻度でアポトーシスを起こしている。本研究では消化管上皮由来であるバクテリオサイトでも同じようにアポトーシスが起きているか否かを検証した。

研究方法1：実際にアポトーシスが起きている細胞を特定するためにアポトーシスの初期に現れる断片化DNAを検出するTUNELアッセイを行った。ヒゲムシ栄養体、また本種と同じく定在性であるケヤリムシと、本種が生息する海底土壌中に生息するタケフシゴカイの消化管を含む部分の3試料について凍結切片を作成し、アポトーシスを起こしている細胞を検出した。その結果、ケヤリムシとタケフシゴカイの消化管上皮細胞では高頻度でアポトーシスが起きていることが確認された。それに対してヒゲムシではバクテリオサイトの一部の細胞でアポトーシスが起きているが、その頻度は極めて低いものであった。この結果はヒゲムシの栄養体が消化管としての特徴を失っていることを示唆している。

研究方法2：ヒゲムシ栄養体の凍結切片についてアポトーシス実行分子である活性型カスパーゼ-3の前駆体である不活性型カスパーゼ-3、およびアポトーシスを抑制する酵素の一つであるBcl-2に対する抗体を使用して免疫染色を行った。現在これらの抗体についてウエスタンブロッティング法によりその抗原特異性を確認中であり、抗不活性型カスパーゼ-3抗体についてはすでにこのタンパク質の分子量32kDa付近にバンドが確認されている。研究の結果、不活性型カスパーゼ-3、Bcl-2はともにバクテリオサイトのほぼ全領域で発現していることが明らかになった。不活性型カスパーゼ-3は、化学合成細菌を共生させているために他の細胞より異常を起こしやすいと考えられるバクテリオサイトで、いつでもアポトーシスを起こせるように準備しているのではないかと考えられる。一方、ヒゲムシのエネルギー源である炭水化物を生産するバクテリオサイトで容易にアポトーシスが起こらないように、アポトーシス抑制酵素であるBcl-2が発現しているのかもしれない。

このように、ヒゲムシの栄養体では化学合成細菌にエネルギー源を合成させながらも、細菌の異常な繁殖などにより宿主の機能異常に陥らないようバランスをとっていると考えられると考えるとこの結果は理解しやすい。

(本研究は、金沢大学理学部生物学科 浅田光子君の卒業論文の一環として行われた)