

## 2025 年 当ラボ AI 導入記念 SP

### 総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ③

#### 💡 Topics 💡

#### ① アホロートルの感染症

- ・ 細菌・真菌感染
- ・ ウイルス感染
- ・ 腸内細菌と炎症・内在性 RNA について (最新報告)

#### ② 両生類の再生について、一緒に勉強しましょう！



2025/9/8 初版

編: 杉山 遥



# はるらば活動紹介ページ！

**NPO 研究グループ HAL\_Lab\_Axolotl**

2020年より、正式に HAL Lab として  
本格的に研究活動を開始。



**g-mail:** [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com)

**note:** [https://note.com/lab\\_new2](https://note.com/lab_new2)

**Twitter:** [https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)

**HP:** [https://drive.google.com/file/d/1g4avrtK0FIS78II\\_595yk\\_OKFL\\_u1xgt/view](https://drive.google.com/file/d/1g4avrtK0FIS78II_595yk_OKFL_u1xgt/view)

**代表:** 杉山 遥 (すぎやま はるか; ペンネーム); Ph.D 理学 (生物学)

## Q: はるらばって何？

2020年に正式発足されたNPO 研究チームです。

ウーパールーパーの生態や習性について研究しています。

## Q: 何故ウーパールーパー？

メキシコのソチミルコ湖に生息するメキシコサラマンダーは、現在ペットとしてウーパールーパーという名で親しまれている一方で、野生種は絶滅危惧に瀕しています。これは由々しきことです。そこで、我々はこれに注目し、ラボスケールでの生態を研究することで、個体数を増やす糸口を掴みたいと考え、NPO (非営利) の研究チームとしての活動を開始することになりました。

## Q: この広告は何？

ズバリ、一緒に調査をしてみませんか？というお誘いと当ラボのご紹介です！

## ウーパールーパーって、可愛いですよね☆



## 現在の主な取り組み

- ・ ウーパールーパー (アホロートル) の飼育条件のアップデート
- ・ アホロートルの栄養と成長制御機構の解明
- ・ 生存競争・生育密度と成長の関係性
- ・ 魚類における未知の成長制御・発生調節機構の解明
- ・ 昆虫との相関 (主にショウジョウバエ、フタホシコオロギ)
- ・ 両生類の腸内フローラと成長制御に関する調査



# ☆ はるらぼ HAL\_Lab の HP を今すぐチェック ☆ (Twitter から飛べます！)

## ↓コンテンツ盛り沢山！↓

### 主な 取り組み



沢山の個体を維持しています。

### ウパ飼育 レスキュー



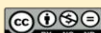
### ウパルパ 写真集



### ウパルパ カレンダー



全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！  
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



ご支援のお願い。  
はるらぼに贈る想い！  
(詳細は左ウパをクリック)

### メンバー 紹介



## 《はるらぼからの提言》

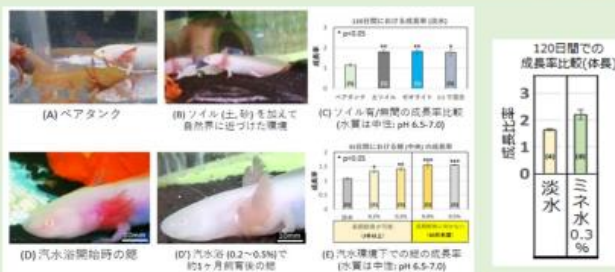
当ラボでは、“ミネ水<sup>※</sup>飼育法”を提唱しています。

※ミネ水は、当ラボで調査・開発した手法です。

汽水条件である0.2~0.3%になるよう、塩水を作成し、そのままウパールーパーを飼育する方法です。高ミネラルや浸透圧の効果により、成長促進や細菌感染症予防の効果が期待できます。

また、ソイルやゼオライトと併用することで、ミネ水の更なる効果や塩分による影響の緩和を見込めます。

当ラボ発の文献にて、これまでの検証結果を紹介しております。



note: [https://note.com/lab\\_new2](https://note.com/lab_new2)

HP: [https://drive.google.com/file/d/1g4avrtK0FIS78II\\_595yk\\_OKFL\\_u1xgt/view](https://drive.google.com/file/d/1g4avrtK0FIS78II_595yk_OKFL_u1xgt/view)

## 《はるらぼ発表書籍1》

### ウパールーパーだより ～アホロートル研究・飼育活動報告～

## ↓代表(杉山)イチオシ!↓



### Vol 2 アホロートルの 睡眠

なんと！  
ウパールーパーって  
夜明けと夕暮れ  
に起きているんです！



### Vol 1 アホロートルの 栄養と成長

はるらぼの原点！  
三大栄養素 (アミノ酸・脂肪・糖質)  
は、いずれもウパルパの成長には  
必要だと分かりました！

Back number >>

## 《はるらぼ発表書籍2》

## ↓ HPで無料で読めます！ ↓



### 役立つ知識本！ + 最新のウパ科学！

### リニューアル！

飼育案内から最新の研究まで  
幅広い分野を取り扱う雑誌へ！

## 総説: ウパールーパー / 虫・魚の飼育係

～飼育の最新情報・学術データまとめ～

記事は日々更新！

※ note への単独記事も掲載開始！

[https://note.com/lab\\_new2](https://note.com/lab_new2)



# はるらぼ活動紹介ページ！

**NPO 研究グループ HAL\_Lab\_Axolotl**

2020年より、正式に HAL Lab として  
本格的に研究活動を開始。



X (Twitter) [https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)

お問い合わせ [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com)

## はるらぼの取り組み

### 野生種の保全に向けた活動

- ・オオサンショウウオ等の両生類の保全施設の視察
- ・水族館等の水棲生物保全・飼育施設の視察

### 基礎研究 (アホロートル)

- ・アホロートルのかつての生息環境予測モデルの構築 → 会報誌にて複数知見を報告済.
- ・系統間の比較 → 会報誌にて知見を報告済.
- ・生育にとって重要な栄養素・代謝機序の解明 → 順次 報告中.
- ・耐薬品性・汚染への耐性に関する調査
- ・汽水適応個体の系統化 (阿保郎ファーム) → 継続中.
- ・病原微生物の感染機序の調査 → 複数報学会発表済み. 2025年報告予定.
- ・腸内環境や腸内フローラ・食砂行動に関する調査 → 一部 会報誌などで知見を報告済み.
- ・ネオテニーの変態誘導の要因調査 (ヨウ素・汚染ストレス) → 会報誌にて一部報告済み.

### 基礎研究 (その他の生物)

- ・ショウジョウバエ、カブトムシ、コオロギ、メダカ、熱帯魚類
  - 栄養・睡眠・成長など
  - メダカ変異系統の作成と維持 (あすみファーム)・遺伝的解析

### 飼育技術の開発

- ・最適な密度や水質が安定化する飼育法の検証
- ・過密条件でも安定に飼育できる濾過環境の検討
- ・上陸しない条件の確立 / 上陸する条件の探索
- ・最適な底材の追加検討



全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！  
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)





# 《 🚑 ウパールパ 119 番、無料相談窓口 🚑 》

by ウーパールーパー研究室\_はるらぼ



皆様、ウパールパの飼育でお困りではありませんか？

「外鰓やヒレに元気がない。。。」

「餌を食べない/吐き戻す。。。」

「飼育方法って、これで合ってるのかな・・・？」

「みんな違うアドバイスをするから判断に困る。。。」

「SNS で相談すると、お説教が怖い。。。」

「もっとウパールパのことを知りたい！」

そんなウパの相棒の皆様、ご安心下さい！

私杉山にご相談いただけましたら、無料で誠心誠意、

ご相談に乗らせていただきます<(\_ \_)>

もし体調不良が気になるウパちゃんの情報などがございましたら、

そちらも是非是非お気軽にご相談下さい♪

## 【お問い合わせ先】

Twitter フォロー → DM でのお問い合わせ

ウパ研\_はるらぼ Twitter リンク: [https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)

杉山 遥 (筆者) の Gmail アドレス → [sugiyama.haruka.axolti@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolti@gmail.com)

## 【飼育・治療に関する情報】

杉山 遥 の research map ページ + 論文ダウンロードフォーム作製 (2023/2 月～)

当然、全記事・論文も取得無料で閲覧可能です。

杉山 遥 research map (日本学術振興会\_研究者ポータルサイト):

[https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl)

# 《はるらぼ からの提言》

当ラボでは、“ミネ水\*飼育法”を提唱しています。

※ミネ水 は、当ラボで調査・開発した手法です。

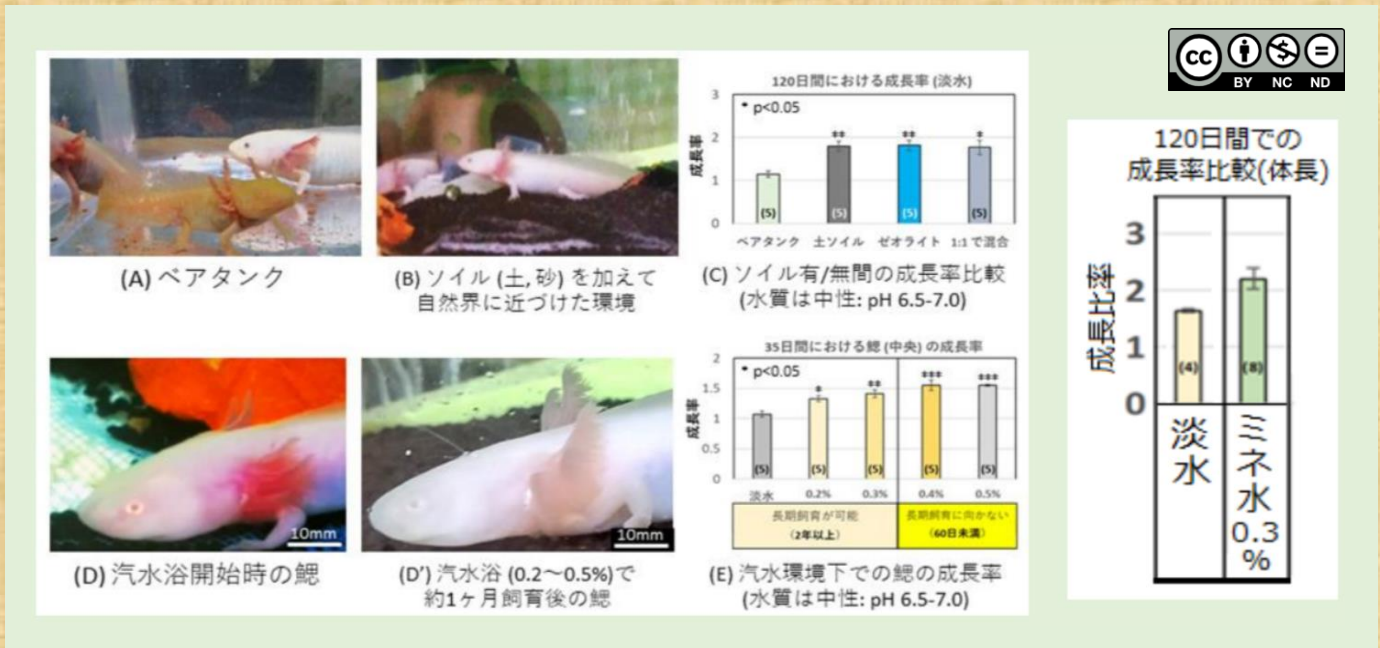
汽水条件である0.15～0.3%になるよう、塩水を作成し、そのままウーパールーパーを飼育する方法です。

高ミネラルや浸透圧上昇により、成長促進や細菌感染症予防の効果が期待できます。

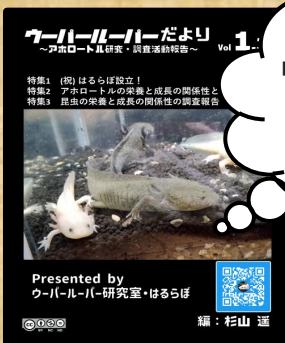
また、ソイルやゼオライトと併用することで、ミネ水の更なる効果や塩分による影響の緩和を見込めます。

また、2週間ごとに塩分濃度を1/2以下に調整する“休塩日”を設けるとより安心です。

当ラボ発の文献にて、これまでの検証結果を紹介しております。



## < ミネ水関連書籍 >



ウーパールーパー  
だより vol1



コラム・総説  
ウーパールーパー  
の飼育係



# 《面白データ from はるらぼ part.1》

＜”よそ者”が居る環境で起こること＞

他の種類の  
サンショウウオさん



異種混泳開始時

- ・やや攻撃性が高まる
- ・共食いの訳ではない
- ・側線器官で異種を感知 (飼育水の成分ではなく異種の持つ電位等に反応?)

食欲増進・成長促進

- ・摂食量が増大
- ・成長率が早い
- ・HSP70, 90, 糖質コルチコイド等の筋肥大に関わる因子の活性化

(ほんのちょっとだけ...)

皆様に注目されました🌟

← プチBUZZ👍

当ラボは、**異種混泳※がウパールパの成長を早める**事とその詳細な仕組みを解明しました！

(※他の種類の両生類と一緒にいること)

↓ この画像をクリックすると掲載雑誌に飛べます！ ↓



「ウパールパ研究室」はるらぼ (選研)

@lab\_new2

プロモーションする ...

ウパールパーは、幼少期に他のサンショウウオと一緒にいると、こんなに成長率が変わります🌟

種を守る力に驚かされますね💧

右写真の続き、開始から630日(21ヶ月)目になります！

月日は本当に早い...老けたなあ...💧

#ウパールパー



参考: 異種混泳および生育密度が成長に与える影響

# 《はるらぼ発表書籍1》

・ Pdf 版 (いつでも無料DL可！)

→ [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl)

・ 冊子版 (有料) 購入希望の方はこちらから

→ [https://note.com/lab\\_new2/n/nd1c464929a6c](https://note.com/lab_new2/n/nd1c464929a6c)

↓ 画像をクリックすると雑誌に飛べます！ ↓



役立つ知識本！  
+  
最新のウパ科学！

リニューアル！  
飼育案内から最新の研究まで  
幅広い分野を取り扱う雑誌へ！  
(2023/2/25～ 公開中)

総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係  
～飼育の最新情報・学術データまとめ～

※ note への単独記事も掲載あり！

[https://note.com/lab\\_new2](https://note.com/lab_new2)



# 《はるらぼ発表書籍2》

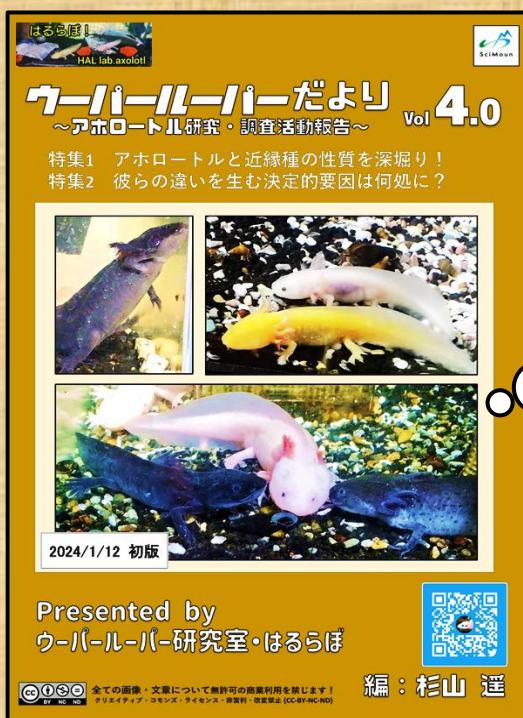
## ウーパールーパーだより ～アホロートル研究・調査活動報告～

↓ 代表（杉山）の力作！ ↓



### Vol 3 近縁種との違いは？ 故郷の様子も推測

近縁種のタイガーサラマンダー、  
アンダーソンサラマンダーと  
ウパールパのどこが違うのか  
じっくりと調べました！



### Vol 4 ウパールパの色違い で性質は変わる？

成長率や睡眠サイクルに関しては、  
色の違いは一切影響が見られない  
ことが明らかになりました。

# 《はるらぼ発表書籍3》

## ウーパールーパーだより ～アホロートル研究・調査活動報告～

↓ 代表（杉山）イチオシ！ ↓



### Vol 2 アホロートルの 睡眠

なんと！  
ウーパールーパーって  
夜明け☀と夕暮れ🌙  
に起きているんです♪

### Vol 1 アホロートルの 栄養と成長

はるらぼの原点！  
三大栄養素（アミノ酸・脂肪・糖質）  
は、いずれもウパールーパーの成長には  
必要だと分かりました♪





# <学会・発表・講演1>

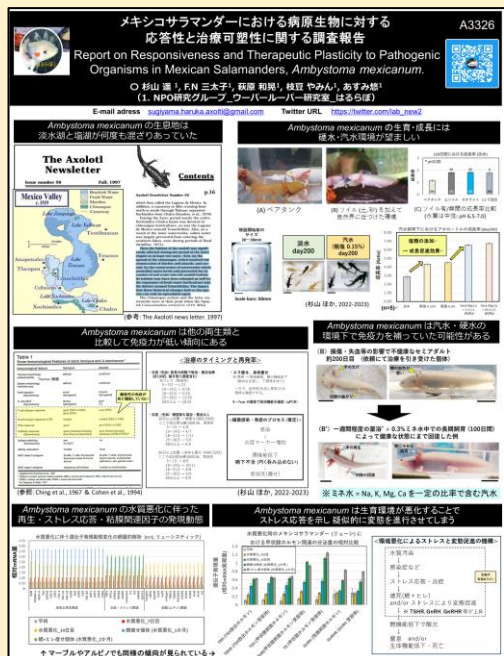
↓ 画像をクリックするとアーカイブが視聴可能！ ↓

日本動物学会\_第94回\_山形大会 (23/9/9 開催) にて、  
ウパルパと汽水環境の関係性について研究内容を口頭発表しました！



23/12/6 第46回日本分子生物学会年会 にて  
ポスター発表しました！

↓ 画像をクリックで拡大できます ↓



解説動画リンク①

解説動画リンク②





# <取材・メディア出演>

↓ 画像をクリックするとアーカイブが視聴可能！ ↓

レン/科学のポッドキャスト様との対談 2022/9/19

(公開収録 in Twitterスペース: 22/7/21 → 配信日: サイエンマニア 22/9/5 (#85), 22/9/12 (#86))

#ポッドキャスト #サイエンマニア #ウーパールーパー #はるらぼ

画像をクリックすると配信先に飛べます。所見の皆様も、是非ともご視聴をお願い致します。(by 杉山)  
杉山自身の研究への想いとはるらぼに関する語り、レンさんの素敵なお声を是非ともご堪能下さい！

レン / 科学のポッドキャスト @... · 9月5日  
#サイエンマニア 更新！

自宅で行うウーパールーパーの研究とは？睡眠と体色は関係する？【ウーパールーパー前編】 #85

- ・ウーパールーパーとの出会い
- ・再生ブームは繰り返す
- ・ウーパールーパーの睡眠
- ・ペットカメラは宝の山

ポッドキャストで配信  
↓  
[scientalkclub.wixsite.com/scienmania](https://scientalkclub.wixsite.com/scienmania)

レン / 科学のポッドキャスト @... · 13時間  
#サイエンマニア 更新！

研究の形はひとつじゃない！論文の本質と発信の方向性を考える。【ウーパールーパー 後編】 #86

- ・アカデミックの問題点とポストドク
- ・世の中の事象を宝の山として見る
- ・ウーパールーパー飼育の課題
- ・論文を書く本質
- ・発信活動はじわじわ効く

[scientalkclub.wixsite.com/scienmania](https://scientalkclub.wixsite.com/scienmania)

大人気YouTuber！うぱ丸ちゃんねる様 からも取材を受けました！  
(はるらぼ式の飼育方法等)

関連動画； ↓ 視聴には以下の画像リンクをクリック ↓

ウーパールーパー  
汽水飼育

やり方&注意点

ウーパールーパーの汽水飼育方法 & 注意点【ミネ水】 / 飼育・かわ...  
#アクアリウム#ウーパールーパー  
#axolotl ...

塩水で飼育します

飼育方法を変えます！ / ウーパールーパー・飼育・かわいい・おも...  
#アクアリウム#ウーパールーパー  
#Axolotl...

## プロジェクト URL

[https://camp-fire.jp/projects/850462/view?utm\\_campaign=cp\\_po\\_share\\_c\\_msg\\_mypage\\_projects\\_show](https://camp-fire.jp/projects/850462/view?utm_campaign=cp_po_share_c_msg_mypage_projects_show)

### メキシコサラマンダーや在来のサンショウウオの生態を調査するためのビオトープづくり

👤 Sugi\_Haru

💡 ソーシャルグッド



¥ 現在の支援総額

**24,000円**

0%

目標金額は3,000,000円

👥 支援者数

**12人**

🕒 募集終了まで残り

**終了**

メキシコサラマンダーや在来のサンショウウオの生態を調査するためのビオトープづくり

このプロジェクトは、2025/05/15に募集を開始し、12人の支援により24,000円の資金を集め、2025/07/05に募集を終了しました

# 次回、

# ア ホ ロートルを



ウ-バル-バ-研究室\_ハルラボ (運研) @lab\_new2



# 救いたい！！



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。







## メキシコサラマンダーや在来サンショウウオの生態を調査するためのビオトープづくり

Sugi\_Haru

ソーシャルグッド

### プロジェクト目的

私たちの目標は、メキシコのソチミルコ湖の環境を改善し、ウーパールーパー（アホロートル）の野生種を絶滅の危機から救うことです。

具体的には研究活動において形成した人的ネットワークを通じ、湖の浄化活動、生息域の再生、地域コミュニティとの協働を通じて、アホロートルが安全に生きられる環境を取り戻すことを目指しています。

ひいては、日本国内におけるオオサンショウウオやその他の絶滅危惧の両生類種の保全へとつなげていきたいと考えています。



### プロジェクト立ち上げの背景

ソチミルコ湖は、かつては豊かな生態系を有していましたが、都市化と汚染によりその環境は著しく悪化しました。特にウーパールーパーは、この地域の象徴的な生物でありながら絶滅の危機に瀕しています。地球上からこのユニークな種を失うことは、生物多様性への大きな打撃であり、行動を起こす時です。

### リターンについて

調査・研究費が無事に集まった際には、研究施設にて飼育・管理している個体や支援者たちの飼育個体の愛らしい写真を用いた特製の写真集を支援者の皆様に配布します！ とてもかわいいです！🌟

他、支援者の方のお名前(ハンドルネーム可)を当ラボのスペシャルサンクスとして、組織が存続するまで掲載させていただきリターンもごございます。

前回ご出資いただいた方につきましては、(2回目)の記載をいたします！

CAMPFIRE for Social Good

プロジェクトオーナーの手数料の負担は一切なく、支援者さまからのご協力費（12%＋税）により運営しています。

### プロジェクト立案組織: ウーパールーパー研究室ハルラボ

私たちは、西日本に拠点を置く非営利の自然環境保全を目指す団体です。

代表: 杉山 遥 (すぎやま はるか)・・・研究者情報 [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl)

主構成員: 萩原 和見, F.N. 三太子, あすみ 悠, 枝豆 やみん, 龍岡 竜騎 (竜岡 龍騎), 阿保郎 太郎 (ファーム管理)

ホームページ

ジ: [https://drive.google.com/file/d/1g4avrtK0FIS78II\\_595yk\\_OKFL\\_u1xgt/view?usp=drivesdk](https://drive.google.com/file/d/1g4avrtK0FIS78II_595yk_OKFL_u1xgt/view?usp=drivesdk)

主に絶滅危惧種であるメキシコ原産のサンショウウオである、メキシコサラマンダー※(アホロートル)を絶滅から救うため、以下のアプローチで調査・研究を行ってきました。

※ ウーパールーパーの名前でペットとして流通しています。

1. 彼らがかつて繁栄していた時代の生態について理解するため、生息地であるメキシコ・ソチミルコ湖の環境に注目し、当時の環境と現在に至るまでの環境の変遷(植民地化→土地開発・観光地化→水質汚染)について明らかにする。
2. 成長生育・代謝制御や生理学的な制御(睡眠・浸透圧調節など)、免疫の制御などのメカニズムについて明らかにし、彼らの保全における理想的な成育環境を設計する。



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



**アホロートルの生態と生息環境に関する知見 (2023-2024)**

**メキシコサラマンダー (Amphystoma mexicanum)**

**食砂行動**  
↓  
**消化補助**  
+  
**無機成分補填**  
+  
**腸内フローラの強化・調整**  
↓  
**神経ペプチド NPY を介した 睡眠、覚醒力の調節**

**メキシコサラマンダーの生息環境**

メキシコサラマンダーは、メキシコの南部、ユカタン半島の洞窟や地下河川に生息する。その生息環境は、洞窟内や地下河川の環境に依存している。

**メキシコサラマンダーの生態**

メキシコサラマンダーは、洞窟内や地下河川の環境に適応した生態を持つ。その生態は、洞窟内や地下河川の環境に依存している。

**メキシコサラマンダーの食餌**

メキシコサラマンダーは、洞窟内や地下河川の環境に適応した食餌を持つ。その食餌は、洞窟内や地下河川の環境に依存している。

**メキシコサラマンダーの繁殖**

メキシコサラマンダーは、洞窟内や地下河川の環境に適応した繁殖を持つ。その繁殖は、洞窟内や地下河川の環境に依存している。

**メキシコサラマンダーの保護**

メキシコサラマンダーは、洞窟内や地下河川の環境に適応した保護を持つ。その保護は、洞窟内や地下河川の環境に依存している。

はるらぼ★クロニクル (代表例)

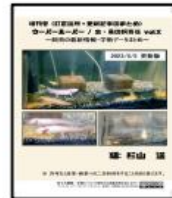
- ・ Twitter アカウントの開設
- ・ “ウーパールーパー研究室 はるらぼ” を開設
- ・ 汽水飼育評価系の構築を開始
- ・ 異種混泳試験の開始
- ・ 他、栄養環境の試験開始



- ・ あすみ 悠 氏をメンバーに加え、魚類部門の立ち上げへ (6月).
- ・ うぱ丸ちゃんねる様に、汽水飼育法 について取り上げられる (計2回).
- ・ レン/科学のポッドキャスト 様の公開収録に参加.
- ・ 枝豆 やみん 様がメンバーに加入. 一部、組織体制の変更 (8月).
- ・ うにやぎ (F.N. 三太子) 様をメンバーに加え、ウバレスキューの活動を開始 (10月).
- ・ はるらぼ事務所 (兼 杉山の住居) 開設.
- ・ 第45回分子生物学会年会への参加 (ポスター発表 x 2演題)
- ・ その他, 研究会・オンラインセミナー を 計5件発表.
- ・ 会報誌・総説集の刊行・更新 (会報誌x3: 計3冊 (一つは発刊停止))



- ・ オオサンショウウオ保全施設の視察(計2件)
- ・ 水族館・アクアリウム関連施設の視察(計5件)
- ・ 日本動物学会\_第94回\_山形大会(口頭発表)
- ・ 第46回分子生物学会年会\_神戸ポートアイランド(ポスター発表)
- ・ その他,研究会・オンラインセミナー を 計5件発表.
- ・ 会報誌・総説集の更新(会報誌x1,総説集x3,写真集x1: 計4冊)
- ・ IT企業 サイマンテクノロジー (SciMoun) が公式スポンサーに就任.





# はるらぼ★クロニクル (代表例)

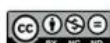
## 2024年

- ・ 海外遠征資金確保のためのクラウドファンディングの実施
- ・ 超異分野学会\_中四国大会 (岡山)
- ・ 超異分野学会\_大阪大会 (大阪)
- ・ 日本動物学会\_第95回\_長崎大会 (口頭発表)
- ・ 第47回分子生物学会年会\_マリンメッセ福岡 (ポスター発表×2演題)
- ・ その他, 研究会・オンラインセミナー を 計6件発表.
- ・ 会報誌・総説集の更新 (会報誌x4, 計4冊)



## 2025年

- ・ はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 7.0 を公表
- ・ 調査用ビオトープ作製のためのクラウドファンディングの実施
- ・ 中国四国地区 生物系三学会 合同大会 (愛媛)
- ・ 日本動物学会\_第 96 回\_名古屋大会 (ポスター, 展示)
- ・ 総説集書籍の公表×1



## スケジュールと支援金用途・内訳

25年 5月～ 四国地方などでビオトープが作れる土地を探す。  
 25年 9月～ 土地が見つかり次第、土地を耕し、池を作り上げる。  
 25年 12月～ 冬季に生体が亡くならないように温室設備を作る。

## 最後に

このプロジェクトは、ただ一つの種を救うだけでなく、地球上の生物多様性を守るための一歩となります。私たちと一緒に、ソチミルコ湖の美しい自然を取り戻し、未来世代に素晴らしい環境を残しましょう。皆様の温かいサポートを心からお待ちしております。



## リターンを選ぶ

500 円

【ウーパールーパー飼育指導サービス】 支援者様へ通常より詳細なウーパールーパーの飼育相談・飼育案内を実施...

👤 支援者: 2人

📅 お届け予定: 2026年08月

詳細を見る ▼

このリターンを選択する

1,000 円

【特典】 研究支援者リスト・会報誌へのお名前 (ニックネーム、ハンドルネーム) を掲載します。・掲載期間: ...

👤 支援者: 5人

📅 お届け予定: 2027年01月

詳細を見る ▼

このリターンを選択する

3,000 円

【ウーパールーパー写真集】 支援者様へ以下の写真集をご提供いたします。・配布開始: 2026年8月から順次・Pd...

👤 支援者: 5人

📅 お届け予定: 2026年08月

詳細を見る ▼

このリターンを選択する



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
 ※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



## [>>Home](#)

### 2025年

- 24/9/5, 6 日本動物学会\_名古屋大会にて、2 演題 (ポスター×1, 動物学ひろば (展示)×1) を発表しました。
- 25/8/18 ハルラボにおける研究活動・運営に AI による補助を試験的に導入しました。
- 25/8/16 ぐんま国際アカデミーの方々から、ハルラボにおける保全研究活動のニーズに関してインタビューを受けました。
- 25/7/13 知己の研究者たちによる、“異分野研究交流会” にて口頭発表をおこないました。
- 25/5/15～24/7/5 “【クラウドファンディング】メキシコサラマンダーや在来サンショウウオの生態を調査するためのピオトープづくり (CAMPFIRE)” を実施しました。
- 25/5/9 2025 年度 中国四国地区 生物系三学会 合同大会にて口頭発表を 2 演題行いました。
- 25/1/4 はるらぼ新年集会 2025 をオンラインにて開催しました。

### 2024年

- 24/11/28, 29 第 47 回 日本分子生物学会年会 にてポスター発表を 2 演題行いました。
- 24/9/14 日本動物学会\_長崎大会にて、“アホロートルにおける糖代謝と硫黄呼吸” について口頭発表しました。
- 24/8/31 ハルラボ所属の あすみ 悠 さんが、株式会社リバネス主催の“超異分野学会・関西・大阪大会” にてポスター発表しました。
- P-0047 絶滅危惧種 在来メダカと改良メダカの現在とこれから ～改良メダカの背曲がりに関する検証と考察～  
○あすみ 悠 1; 杉山 遥 1; 横江 諒 2 (1. NPO 研究グループ\_ハルラボ, 2. サイマンテクノロジー)
- 24/7/6 ウーパールーパー活動報告・情報共有のための勉強会を実施しました。
- 24/6/27 “育たないウーパールーパーの秘密を解明!” を報告・公開しました。
- 24/4/23～24/6/15 “【クラウドファンディング】ウーパールーパーを守る! メキシコ・ソチミルコ湖の環境改善プロジェクト (CAMPFIRE)” を実施しました。
- 24/3/30 マルチビタミン投与効果について勉強会を実施しました。
- 24/3/30 “ビタミンで育つ! メダカとウーパールーパー!” を報告・公開しました。
- 24/1/12 “アホロートル系統間 および 近縁種間 における形質の比較による本質の理解” を報告・公開しました。
- 24/1/12 会報誌\_ウーパールーパーだより vol.4.0 を発刊致しました。
- 24/1/4 はるらぼ新年集会 2024 をオンラインにて開催しました。
- 24/1/3 “アホロートルの生態・生息地に関する知見まとめ” を報告・公開しました。

### 2023年

- 23/12/31 会報誌\_ウーパールーパーだより vol.3.0 を発刊致しました。
- 23/12/6 第 46 回日本分子生物学会年会 (神戸ポートアイランド) にて研究発表を行いました。  
→ 発表者: 杉山 遥 代表, F.N. 三太子 技術員
- 23/11/29 【総説集】“ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 vol.2” を発刊致しました。
- 23/11/6 【今後の展開】“累代飼育メキシコサラマンダー系統の遺伝子型の精査 および 近縁アンビストーマ種における生理学的応答の調査” を報告しました。
- 23/10/28 【研究報告】“メキシコサンショウウオの生活環境における汽水環境の重要性” を報告しました。
- 23/10/16 “メキシコサンショウウオにおける密度効果と 異種混泳による成長制御機構に関する調査報告” を報告しました。



- 23/9/9 日本動物学会\_第 94 回\_山形大会 にて、口頭演題の発表を行いました。  
【発表内容】“メキシコサンショウウオの生活環における汽水環境の重要性”
- 23/9/2 【研究報告】“改良メダカの背曲がり個体から産出される子個体への遺伝”を報告致しました。
- 23/8/29 【研究報告】“メキシコサンショウウオの生活環における汽水環境の重要性”を報告しました。
- 23/7/25 公式 YouTube チャンネル “生物学者・杉山 遥” を解説しました。(2024 年現在、更新停滞済み。)
- 23/3/25 FBS 博士勉強会にて、“メキシコサラマンダーの腸内環境と成長制御”について発表しました。  
→ 発表資料+発表動画のアーカイブ [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl/published\\_papers/41820604](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41820604)
- 23/2/5~ ウーパールーパー関連論文・総説を公開開始しました。(23 年 7 月現在、計 29 文献を公開中。)
- 23/2/2 研究者ポータルサイト Researchmap 内に、当ラボ関連のページを作製しました。  
→ 杉山 遥 (Researchmap) [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl)
- 23/1/20, 23/1/23 はるらぼ新年集会・今年度目標の発表を実施しました。

## 2022年

- 22/12/11 汽水(ミネ水) 飼育個体から産まれた卵が孵化しました！(当ラボ初)
- 22/12/2 第 45 回日本分子生物学会年会 (幕張メッセ) にて研究発表を行いました。
- 22/11/13 発表練習のアーカイブ を共有致しました。
- 22/11/12 FBS ドクター研究発表会にて 第 45 回日本分子生物学会年会 の発表練習を行いました。
- 22/11/10 杉山の過去のポスドク先での論文が 1 報、本日受理されました。一応、筆頭著者です。
- 22/11/1 はるらぼ第二事務所が開設されました。杉山が久々にまともな衣食住を再び手に入れました。
- 22/10/17 第 45 回日本分子生物学会年会 への演題登録 (ポスター発表) が 2 演題受理されました。
- 22/10/15 うぱ丸ちゃんねる様が、硬水 (ミネラル水) 飼育法 に関する新たな動画を公開されました！
- 22/10/10 新たに うにゃぎ 様をメンバーに加え、押しかけウパレスキューの活動を開始致しました。
- 22/8/21 新たに 枝豆 やみん 様をメンバーに加えました！ 組織図を若干変更しています。
- 22/7/29 第 45 回日本分子生物学会年会 <https://www2.aeplan.co.jp/mbsj2022/> に演題登録しました！
- 22/7/21 レン/科学のポッドキャスト 様の公開収録に参加致しました！(21 時頃~)
- 22/7/6 黎羅様作製のカレンダーまとめを開放開始しました！
- 22/6/6 はるらぼ紹介特設ページ (ココ) を開設しました！
- 22/6/5 うぱ丸ちゃんねる様に、硬水 (ミネラル水) 飼育法 の記事に関してご紹介頂きました！
- 22/6/4 FBS ドクター研究発表会にて ウーパールーパーの睡眠の研究について報告しました！

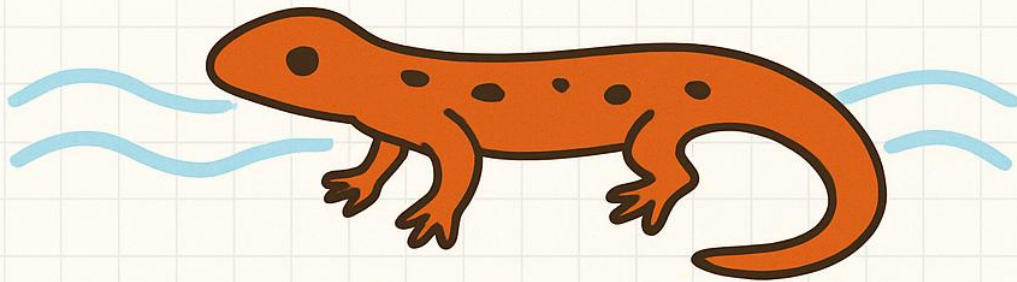
# 【総説: イモリの再生のしくみ (小中高校生向け)】

申込者: F.N. 三太子<sup>1</sup>; 杉山 遥<sup>1</sup>; 横江 誼衡<sup>1, 2, 3, 4</sup>

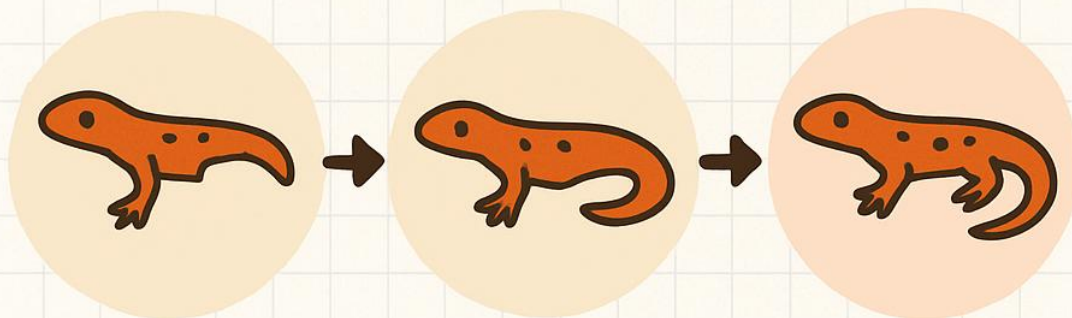
<sup>1</sup>. NPO 研究グループ\_ハルラボ (ウーパールーパー研究室), <sup>2</sup>. 東京大学, <sup>3</sup>. 秀明大学, <sup>4</sup>. サイマン・テクノロジー



## イモリの再生の仕組み



### 再生の過程

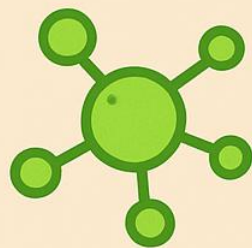


切り離し

再生胚

回復

### 再生に関わる物質



細胞



遺伝子

### 参考文献

「動物の再生医学」(著)高橋友彦 (1977年刊)



# 1. どうしてイモリは再生できるの？

イモリは両生類の仲間で、切れてしまった 手足やしっぽ、心臓の一部や目の網膜 まで再生できる特別な動物です。

私たち人間も小さな傷なら治せますが、手足を丸ごと再生することはできません。イモリはなぜそんなことができるのでしょうか？

## 2. 再生のステップ

イモリの手足が切れてしまったとき、次のような流れで新しい手足ができます。

### 1. 傷口をふさぐ

まず、表皮の細胞がすばやく傷を覆って、外からのばい菌が入らないようにします。

### 2. 芽(ブラストーマ)の形成

傷口の下で、筋肉や骨などの細胞が「いったん元の役割をやめて、未分化な細胞(多能性に近い状態)」に戻ります。

これらが集まって **ブラストーマ** と呼ばれる小さな細胞のかたまりができます。

### 3. 細胞の分化と成長

ブラストーマの細胞が「筋肉になる」「骨になる」「神経になる」と分かれていき、もとの手足と同じ構造に組み立てられます。

### 4. 完全な手足の再生

数週間から数か月かけて、失われた手足がほとんど元通りに復元されます。

## 3. 再生を助ける仕組み

### ・ 神経の存在

再生には神経が欠かせません。神経から出る物質が、ブラストーマ細胞の増殖を助けます。

### ・ 遺伝子の働き

発生のときに使われる遺伝子(例:Hox 遺伝子)が、再生のときにも再び働き、どの部分をつくるか決めています。

### ・ 免疫細胞の協力

マクロファージなどの免疫細胞も、不要な組織を取り除きつつ再生をサポートします。

## 4. 人間にも応用できる？

私たち人間はイモリのように手足を完全には再生できません。

でも、イモリの研究から「細胞を一度リセットして再び分化させるしくみ」「神経や免疫の働き」が明らかになってきています。

この知識は **再生医療** に役立ち、将来は人間の臓器や組織を修復できるかもしれません。

## まとめ

- ・ イモリは手足や臓器を再生できるすごい動物。
- ・ 再生のポイントは **傷をふさぐ → ブラストーマ形成 → 分化・成長 → 完成**。
- ・ 神経や免疫、遺伝子のはたらきが重要。
- ・ 研究は人間の再生医療に応用されつつある。

## 参考文献

1. Tanaka, E. M., & Reddien, P. W. (2011). The cellular basis for animal regeneration. *Developmental Cell*, 21(1), 172–185.
2. Nacu, E., & Tanaka, E. M. (2011). Limb regeneration: a new development? *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 27, 409–440.
3. McCusker, C., Bryant, S. V., & Gardiner, D. M. (2015). The axolotl limb blastema: cellular and molecular mechanisms driving blastema formation and limb regeneration in tetrapods. *Regeneration*, 2(2), 54–71.
4. Tsonis, P. A. (2000). Regeneration in vertebrates. *Developmental Biology*, 221(2), 273–284.



# イモリの再生芽(ブラストーマ)における細胞と転写因子

## 1. 再生芽に集まる細胞の種類

ブラストーマは単なる「細胞のかたまり」ではなく、さまざまな細胞が協力してできています。

- **脱分化した細胞**  
筋肉細胞、軟骨細胞、骨細胞などが一度「もとの姿をやめて」、未分化状態に戻ります。これらは再び筋肉や骨などに分化し直します。
- **線維芽細胞 (fibroblasts)**  
傷口周辺から移動してきて、ブラストーマの主要な細胞源になります。
- **免疫細胞 (マクロファージ)**  
不要な組織を取り除き、再生環境を整える。マクロファージがいないと再生が止まってしまうことが知られています。
- **神経細胞・シュワン細胞**  
神経から分泌される因子(例:新生因子 nAG)は、ブラストーマの細胞増殖に必須。

## 2. 再生芽で働く主要な転写因子

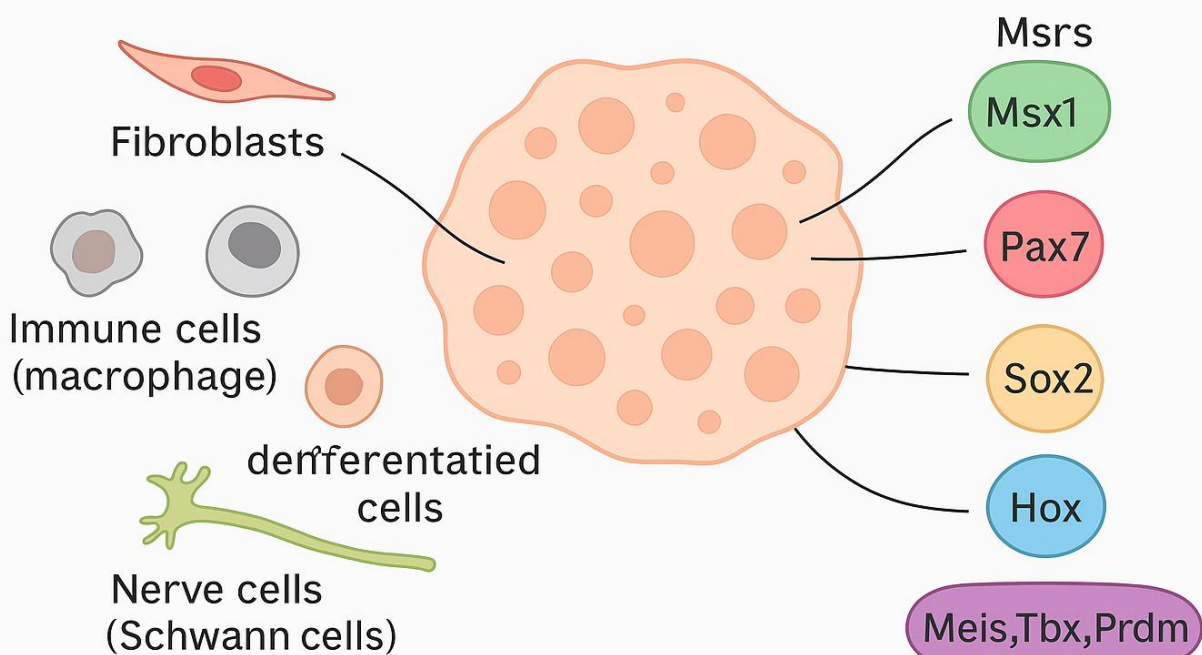
ブラストーマでは「発生期に働いていた遺伝子」が再び使われます。代表的なものは以下です。

- **Msx1 / Msx2**  
未分化な状態を維持する転写因子。再生芽の細胞を「まだ決まらない細胞」として保ちます。
- **Pax7**  
筋肉の幹細胞(サテライト細胞)に関連。筋肉再生に必須。
- **Sox2**  
神経幹細胞や未分化状態の維持に関与。神経や外胚葉系の再生で重要。
- **Hox 遺伝子群**  
手足の「どの位置を作るか」を決める遺伝子。腕なのか、指先なのかを区別する役割を持ちます。
- **Meis, Tbx, Prdm ファミリー**  
軸やパターン形成をサポート。

### 3. 補足まとめ

- 再生芽には 線維芽細胞、脱分化した筋肉・骨の細胞、免疫細胞、神経由来の細胞が集まっている。
- Msx, Pax, Sox, Hox などの転写因子が再生のカギを握っている。
- 発生の遺伝子プログラムがもう一度「巻き戻し再生」されることが、イモリの驚異的な再生力の正体。

#### イモリの再生芽 (ブラストーマ) における細胞と転写因子





# The Mechanism of Newt Regeneration

## 1. Why can newts regenerate?

Newts are amphibians, and they can regenerate **limbs, tails, parts of the heart, and even the retina of the eye**.

Humans can heal small wounds, but we cannot regrow a whole arm or leg. Why are newts able to do this?

---

## 2. Steps of regeneration

When a newt's limb is lost, the following steps occur:

- Closing the wound**  
Skin cells quickly cover the wound to protect it from infection.
  - Formation of a blastema**  
Cells from muscles, bones, and other tissues “reset” and return to an undifferentiated state. These cells gather to form a small mass called a **blastema**.
  - Differentiation and growth**  
Cells in the blastema begin to specialize into muscles, bones, and nerves, gradually building a new limb.
  - Regrown limb**  
Over weeks to months, the lost limb is almost perfectly restored.
- 

## 3. Factors that support regeneration

- Nerves**  
Nerve signals release substances that help blastema cells grow.
  - Genes**  
Developmental genes (like the *Hox* genes) are reactivated during regeneration and determine which part is formed.
  - Immune cells**  
Macrophages and other immune cells clear away damaged tissue and support the rebuilding process.
-

## 4. Can humans do the same?

Humans cannot regenerate entire limbs like newts.

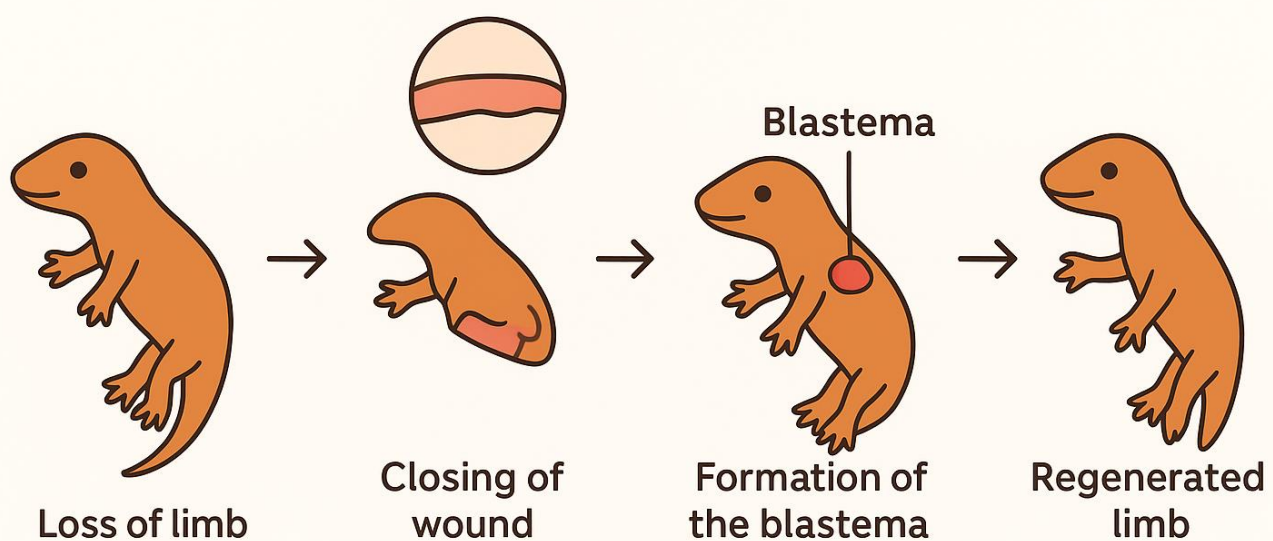
However, studies on newts show how cells can **reset, proliferate, and redifferentiate**.

This knowledge is important for **regenerative medicine**, which aims to repair or replace damaged human organs and tissues in the future.

## Summary

- Newts are amazing animals that can regenerate complex body parts.
- Regeneration proceeds in four steps: **wound closure** → **blastema formation** → **differentiation and growth** → **completion**.
- Nerves, genes, and immune cells are all important.
- Insights from newts are inspiring new advances in regenerative medicine.

## The Mechanism of Newt Regeneration

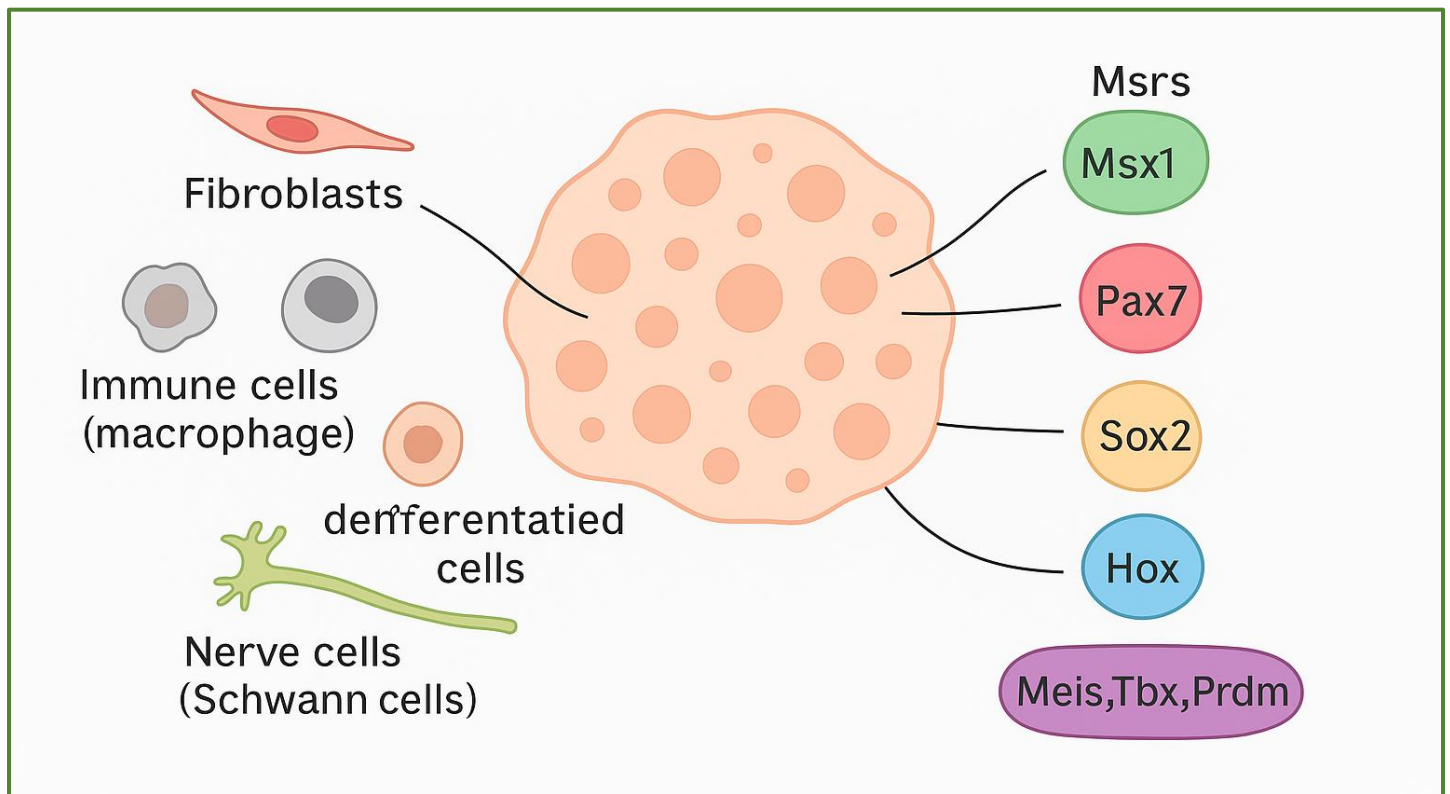




# References

1. Tanaka, E. M., & Reddien, P. W. (2011). The cellular basis for animal regeneration. *Developmental Cell*, 21(1), 172–185.
2. Nacu, E., & Tanaka, E. M. (2011). Limb regeneration: a new development? *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 27, 409–440.
3. McCusker, C., Bryant, S. V., & Gardiner, D. M. (2015). The axolotl limb blastema: cellular and molecular mechanisms driving blastema formation and limb regeneration in tetrapods. *Regeneration*, 2(2), 54–71.
4. Tsonis, P. A. (2000). Regeneration in vertebrates. *Developmental Biology*, 221(2), 273–284.

## Cell Types and Transcription Factors in the Newt Regeneration Blastema



 **ハルラボ**  
～2025年\_新年集会・抱負の発表～

[>>Home](#)



2025/1/4  
杉山 遥 (Ph D)\*  
\*ウーパールーパー研究室はるらぼ\_\_HAL\_Lab\_Axolotl



2025年  
今年も宜しくお願いします！  
はるらぼ、ついに5年目に突入！！



非常に感慨深い！ 飽き症なのに、良く続けた。



## NPO: ウーパールーパー研究室・はるらぼ



プロフィールを編集

{ウーパールーパー研究室\_はるらぼ}

@lab\_new2

2020年より、  
正式に HAL Lab として  
本格的に研究活動を開始。

[https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)



### Q: はるらぼって何？

2020年に正式発足されたNPO 研究チームです。  
ウーパールーパーの生態や習性について研究しています。

### Q: 何故ウーパールーパー？

メキシコのソチミルコ湖に生息するメキシコサラマンダーは、現在ペットとしてウーパールーパーという名で親しまれている一方で、野生種は絶滅危惧に瀕しています。これは由々しきことです。そこで、我々はこれに注目し、ラボスケールでの生態を研究することで、個体数を増やす糸口を掴みたいと考え、NPO (非営利) の研究チームとしての活動を開始することになりました。

## おさらい: 何故ウーパールーパーなのか？

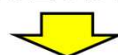
睡眠や成長制御の関連遺伝子や作用機序等、  
アホロートルでは殆ど解明されていない。  
(研究テーマのブルーオーシャン)

また、昨今の環境保全や SDGs の観点からも、  
テーマ推進の価値が非常に高いと考えている。

目的：アホロートルの成長メカニズムについて明らかにする。  
意義：生態を理解することで、絶滅から救う糸口が掴める。



<実験課題>  
アホロートルの成長にとって  
必要な因子は何か？



<実験内容>  
成長率を定量して同定する



## はるらぼの取り組み

### 野生種の保全に向けた活動

- ・オオサンショウウオ等の両生類の保全施設の視察
- ・水族館等の水棲生物保全・飼育施設の視察

### 基礎研究（アホロートル）

- ・アホロートルのかつての生息環境予測モデルの構築 → 会報誌にて複数知見を報告済.
- ・系統間の比較 → 会報誌にて知見を報告済.
- ・生育にとって重要な栄養素・代謝機序の解明 → 順次 報告中.
- ・耐薬品性・汚染への耐性に関する調査
- ・汽水適応個体の系統化（阿保郎ファーム）→ 継続中.
- ・病原微生物の感染機序の調査 → 複数報学会発表済み. 2025年報告予定.
- ・腸内環境や腸内フローラ・食砂行動に関する調査 → 一部 会報誌などで知見を報告済み.
- ・ネオテニーの変態誘導の要因調査（ヨウ素・汚染ストレス）→ 会報誌にて一部報告済み.

### 基礎研究（その他の生物）

- ・ショウジョウバエ、カブトムシ、コオロギ、メダカ、熱帯魚類
  - 栄養・睡眠・成長など
  - メダカ変異系統の作成と維持（あすみファーム）・遺伝的解析

### 飼育技術の開発

- ・最適な密度や水質が安定化する飼育法の検証
- ・過密条件でも安定に飼育できる濾過環境の検討
- ・上陸しない条件の確立 / 上陸する条件の探索
- ・最適な底材の追加検討



## はるらぼ関係者・共同研究者一覧 (2024/1/3 更新)

### ウーパールーパー部門

杉山 遥 (PN)・・・主任研究者  
 F.N.三太子 (HN)・・・研究技術員・ウパセラピスト (治療相談員)  
 竜岡 龍騎 (PN)・・・共同研究者 (アンダーソン・タイガー・サラマンダー担当)  
 阿保郎 太郎 (PN)・・・アホロートル繁殖個体の維持 (ファーム管理)  
 萩原 和晃・・・技術担当・共同研究者

### 魚類部門

あすみ 悠 (HN)・・・共同研究者・メダカプロジェクト担当  
 枝豆 やみん (HN)・・・共同研究者・熱帯魚担当

### 昆虫・節足動物部門

杉山 遥 (PN)・・・昆虫を専門としていた杉山が兼任。

### 案件創出・調査部門・運営監修など担当の皆様

横江 諄衡, 高橋 慶, 九条 薫 (PN), 永田 一将, 大泉 祐介, 久木崎 玲美, 烏龍 黎羅,

PN: ペンネーム

HN: ハンドルネーム (SNS上などでも使用されているお名前)





## 自己紹介

### 来歴

杉山 遥: 男性 1987年生れ (37歳)  
 幼少時代より研究者を志す  
 ~2017年 学士・修士 (ショウジョウバエ → ES/iPS細胞)  
 2020年 3月 博士号 (理学・生物学) 取得  
 2020年 ポスドク (非常勤) + 私大の実習担当講師 (非常勤)  
 2021年~ 製薬会社研究員・ポスドク (非常勤) → (無給)  
 2022年~2023年 ポスドク (無給) + 一部上場企業の研究職  
 2024年 今の職場で安定するかも? ただし、多分 9月で無給ポスドク終了

### NPO設立の経緯

2018年~ ウーパールーパーの飼育に興味を持つ  
 2019年~ 知人との話の中で、海外で実例のある個人研究活動に触れ、自らもその可能性を考えるようになる。  
 2019~2020 “はるらぼ” の事実上設立・運営開始。  
 2021年より本格始動, 複数の研究報告・発表を達成。  
 → はるらぼの取り組み (最新版) へ



## はるらぼ★クロニクル (代表例)

### ~2021年

- ・ Twitter アカウントの開設
- ・ “ウーパールーパー研究室 はるらぼ” を開設
- ・ 汽水飼育評価系の構築を開始
- ・ 異種混泳試験の開始
- ・ 他、栄養環境の試験開始



### 2022年

- ・ あすみ 悠 氏をメンバーに加え、魚類部門の立ち上げへ (6月).
- ・ うぱ丸ちゃんねる様に、汽水飼育法について取り上げられる (計2回).
- ・ レン/科学のポッドキャスト 様の公開収録に参加.
- ・ 枝豆 やみん 様がメンバーに加入、組織体制の変更 (8月).
- ・ うにやぎ (F.N. 三太子) 様をメンバーに加え、ウバレスキューの活動を開始 (10月).
- ・ はるらぼ事務所 (兼 杉山の住居) 開設.
- ・ 第45回分子生物学会年会への参加 (ポスター発表 x 2演題)
- ・ その他、研究会・オンラインセミナー を 計5件発表.
- ・ 会報誌・総説集の刊行・更新 (会報誌x3: 計3冊 (一つは発刊停止))



### 2023年

- ・ オオサンショウウオ保全施設の視察 (計2件)
- ・ 水族館・アクアリウム関連施設の視察 (計5件)
- ・ 日本動物学会 第94回 山形大会 (口頭発表)
- ・ 第46回分子生物学会年会 神戸ポートアイランド (ポスター発表)
- ・ その他、研究会・オンラインセミナー を 計5件発表.
- ・ 会報誌・総説集の更新 (会報誌x1, 総説集x3, 写真集x1: 計4冊)
- ・ IT企業 サイマンテクノロジー (SciMoun) が公式スポンサーに就任.



## はるらぼ★クロニクル (代表例)



### 2024年

- ・海外遠征資金確保のためのクラウドファンディングの実施
- ・超異分野学会\_中四国大会 (岡山)
- ・超異分野学会\_大阪大会 (大阪)
- ・日本動物学会\_第95回\_長崎大会 (口頭発表)
- ・第47回分子生物学会年会\_マリンメッセ福岡 (ポスター発表×2演題)
- ・その他\_研究会・オンラインセミナー を 計6件発表
- ・会報誌・総説集の更新 (会報誌x4, 計4冊)



### 2025年

- ・はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 7.0 を公表



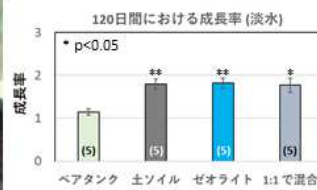
## 生育・成長に適した飼育 (生育) 環境の調査 (~2023)



(A) ペアタンク  
(= 底砂なし)



(B) ソイル (土, 砂) を加えて  
自然界に近づけた環境



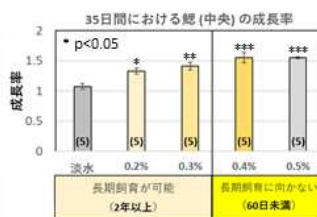
(C) ソイル有/無間の成長率比較  
(水質は中性: pH 6.5-7.0)



(D) 汽水浴開始時の鰓



(D') 汽水浴 (0.2~0.5%) で  
約1ヶ月飼育後の鰓



(E) 汽水環境下での鰓の成長率  
(水質は中性: pH 6.5-7.0)



## 成長制御に重要な因子のスクリーニング (継続中)

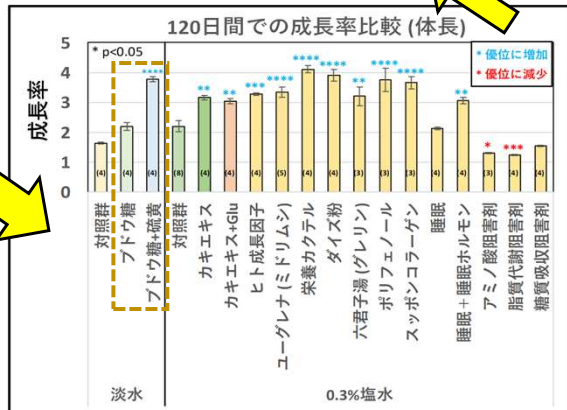
**タンパク質 (アミノ酸),  
脂質 (脂肪), 糖質 等に注目**

ビタミンB, D 群,  
グリシン, アルギニン,  
鉄分, 亜鉛 など

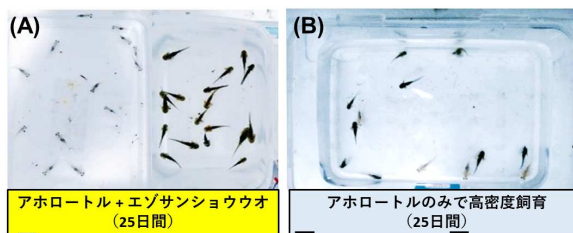


カキ粉末

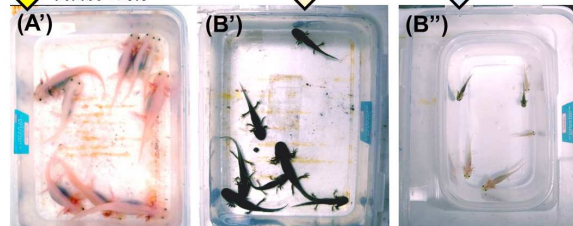
グルタミン酸Na  
(要は "味の素")



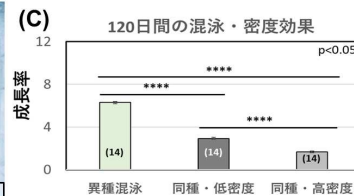
## 異種混泳および生育密度が 成長に与える影響 (～2023)



↓ 混泳を解消後も高密度で飼育 (A')  
↓ 密度低下 (B')  
↓ 高密度のまま (B'')



分離から95日後 (飼育開始から120日後)

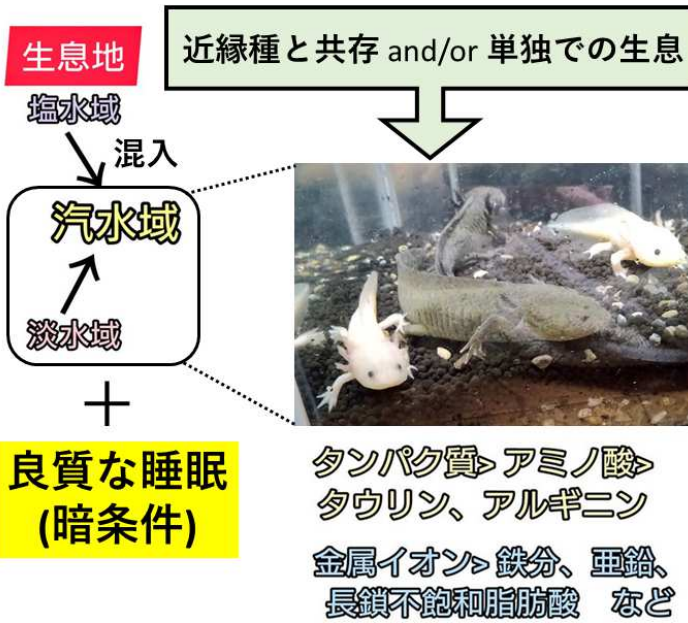


参照: エゾサンショウウオ  
の環境依存的な多型

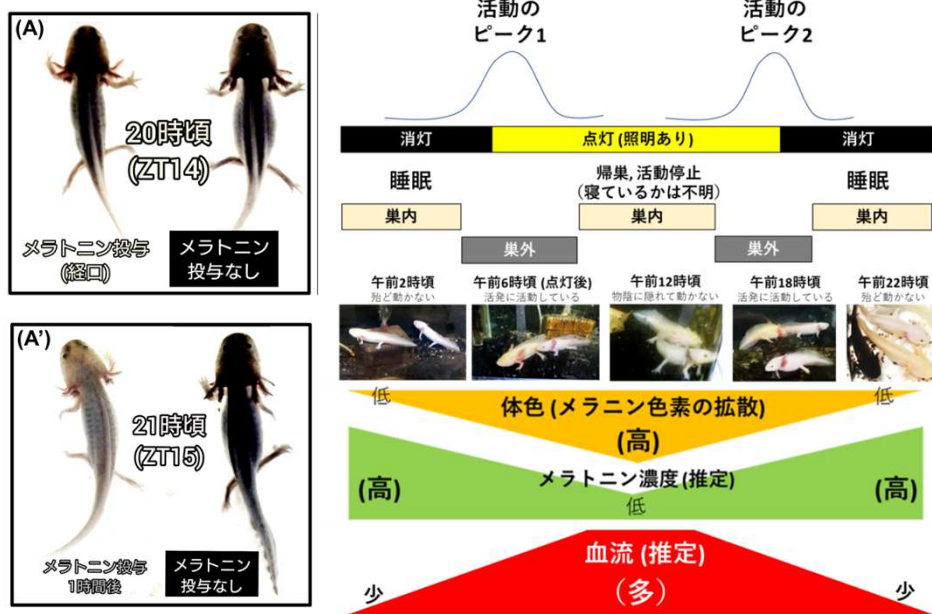


若原正己 北海道大学大学院生命科学院  
生命科学専攻  
[https://www.brh.co.jp/publication/journal/049/research\\_11\\_2](https://www.brh.co.jp/publication/journal/049/research_11_2)

## これまでの知見のまとめ (～2023)



## ウーパールーパーの睡眠 (～2023)





【孵化した幼生の飼育の方法】 (2022/12/12～)

尚、孵化した稚魚(幼生)は、十分なエアレーションをしてあげながら、毎日水替えて対応していく。  
大きなフィルターでの濾過を行うと、濾過器に詰まってしまう場合もあり、非常にリスクと思われる。  
餌に関しては、可能であれば動く餌料(ブラインシュリンプやミジンコなど)を用意してあげることを推奨する。(一応、冷凍ブラインシュリンプでも育成は可能ですが食べ残しが多いのが難点かも。)  
活ブラインシュリンプの調達には、孵化器と卵が必要であり、それぞれ事前に準備しておく必要がある。  
ブラインシュリンプの孵化のさせ方の詳細は、[文献 5, 6]を参照のこと。



参考写真: 汽水飼育(ミネ水飼育法) 個体の第1世代の育成(2022/12/12～)  
22/12/15 孵化が完了した個体たち。

アホロートルの生態と生息環境に関する知見  
(2023-2024)

詳細は、論文内を参照のこと。  
【総説】メキシコサラマンダー および トラフサンショウオ科の近縁種における生態・生息環境に関する調査報告  
はるらば会報誌\_ウーパールーパーだより vol 3.0  
<https://researchmap.jp/HAL lab Axolotl/published papers/44375317>

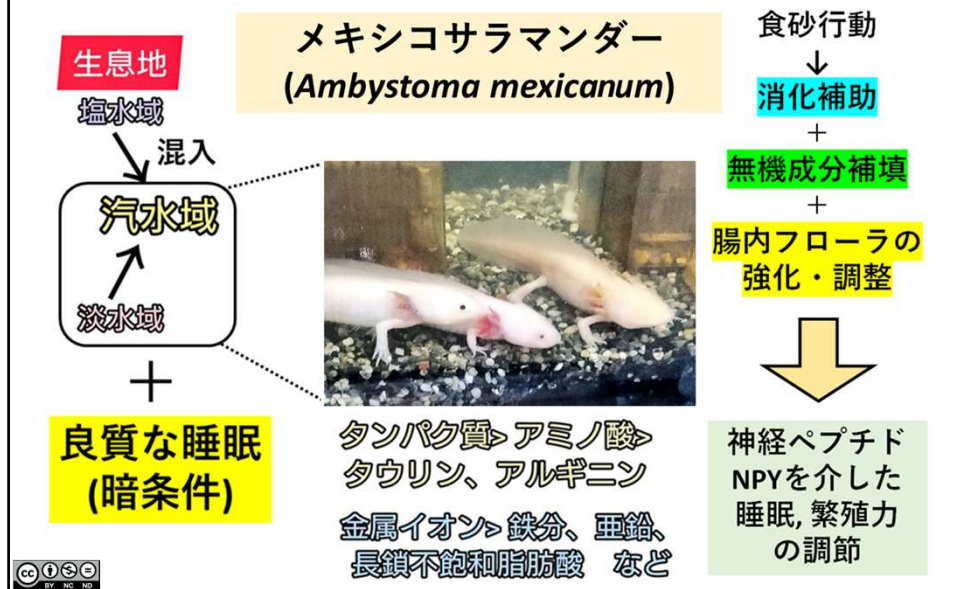
- ・アホロートル原産地のソチミルコ湖は、かつては淡水水→塩湖水が循環していた。
- ・アホロートルの生育には、硬度の高い 淡水 → 汽水 (0.3%) が適度に循環する環境が望ましく、産卵～生育時期毎に Na (すなわち塩分) の最適濃度が異なることが示唆された。
- ・ある程度生育した個体において、彼らの免疫力(特にカビ類へ)の低さを、こうした硬度の高い水環境や Na の含有率の高い時期のある水環境が補ってきた可能性が高い。

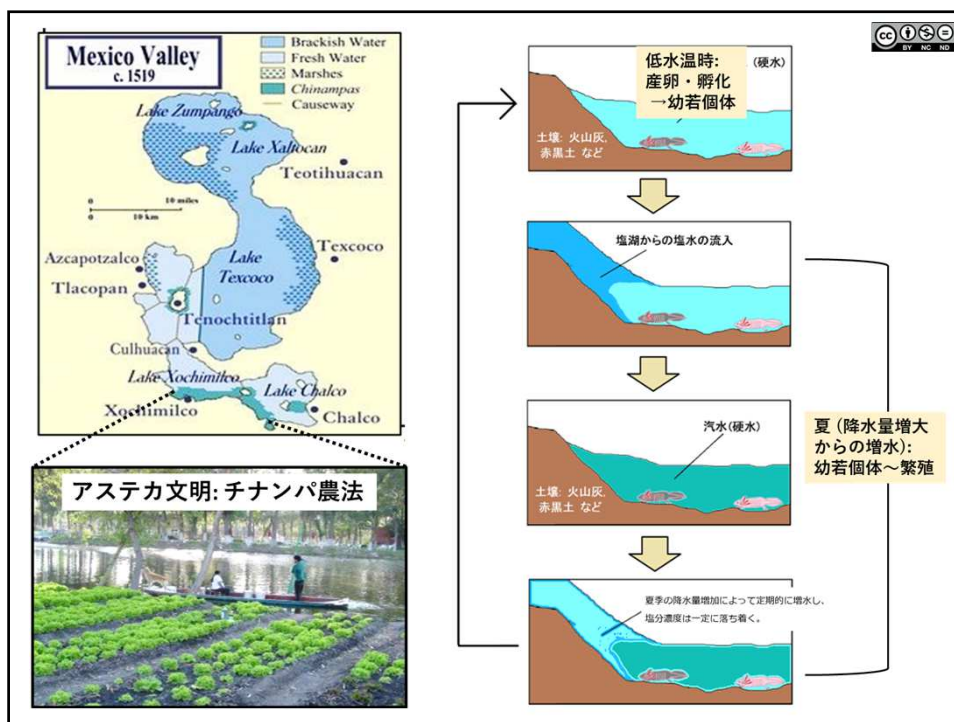
	ベアタンク時(硬度低め)	底砂有り時(硬度高め)
産卵時(成体)	淡水～0.30%	淡水～0.40%
卵の孵化(9割以上)	淡水～0.10%	淡水～0.15%
day30～60(幼体)	0.10～0.15%	0.10～0.25%
day120以降(亜成体以降)	0.10～0.20%	0.10～0.30%

- ・塩の最適濃度が異なることや、水中の感染源が一定になる必要がある問題から、水の循環は必要不可欠であったと考えられる。

- ・現在、ソチミルコ湖のあるメキシコ市水環境は開発や水のせき止め、一部観光地化による排水の垂れ流しなどで、非常に悪くなってきており、言わばヘドロ溜まりのようになっている。
- ・現在でもかつてのように塩分濃度は高めではあるが、水の入れ替えが起こりにくく、当時よりも塩分濃度が継続して高いままの可能性が高い。
- ・生息地における水の循環がかつてより損なわれ、野生個体数が減少する現在の水条件は総合的に彼らには適していない可能性が高い。(→ 現在の環境を模倣した飼育手法には注意が必要。)

## アホロートルの生態と生息環境に関する知見 (2023-2024)







## アホロートルの生態と生息環境に関する知見 (2023-2024)

### <単独生活個体>



各因子の  
発現強度  
単独<集団

セロトニンの効果: 幼少期は攻撃性に関与し、成長後は攻撃性の抑制にも作用し、集団生活での均衡を保つ？

成育密度効果: 密度が高い方が、攻撃性が一層強まる？  
→ その分強く抑制されるよう制御を受ける。

### <集団生活するアホロートル>



幼少期: MTG1, 2 > セロトニン受容体  
成育に伴い... MTG1, 2 < セロトニン受容体

VS

側線器官による  
他個体の感知・応答



### <異種混泳個体群>



異種混泳条件下では、  
・攻撃性上昇  
・それに伴う攻撃性の抑制  
・摂食用増大・筋肥大の促進  
(HSP90, 70, 糖質コルチコイド受容体の活性化)  
→ 成長促進 (成長過剰)  
といった防御応答が起こる。

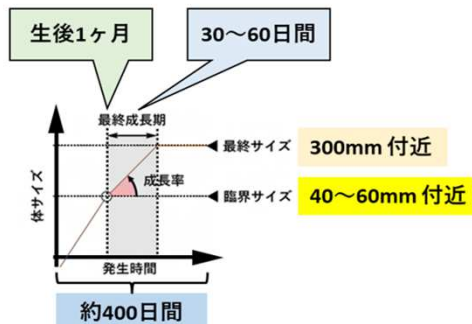


## アホロートルの生態と生息環境に関する知見 (2023-2024)

側線器官による  
他個体の感知・応答



成育密度の感知・成長速度の調整に  
関する可塑性: 生後から90~120日





## アホロートルにおいて 糖と硫黄の同時摂取が成長を更に促す

→ 硫黄を代謝する機構が存在する？

+ グルコース



+ グルコース  
+ 硫黄



## 考察: アホロートルにおける糖代謝の意義



アステカ文明: チナンパ農法



原産地:

古代のメキシコ・ソチミルコ周辺

サトイモ や マメ類 などを水辺で栽培



水中や土壌にそれらの成分が溶け出し  
砂・泥へと溶け込む



植物性のタンパク質, 糖質を  
食砂行動時に摂取・代謝していた


(後述: 腸内乳酸菌との関連あり)

(腸内乳酸菌と睡眠・成長・  
神経ペプチド NPY の関連あり; 2023年報告)



## アホロートルにおいて 硫黄呼吸・硫黄代謝の機構は存在しているのか？

### 硫黄 (S)




製品詳細情報 | 硫黄(粉末) 32513-55 500G ナカライテスク株式会社 | e-Nacalai Search Version

水槽や鍋内の硫黄酸化菌 *Acidithiobacillus* 等によって硫酸イオンに変換され吸収される。

酸性硫酸塩土壌における微生物群集 | 研究内容 | 環境適応生物を活用する環境修復技術の開発 (nihon-u.ac.jp)

### セリン (Ser)


N[C@@H](CO)C(=O)O


[Serine Amino Acid - Function, Deficiency, Foods High in Serine \(healthjade.net\)](#)  
[L-セリン\(L-Serine\)のサプリメントならDoublewood.jpで簡単に個人輸入](#)

↓

CBS, CSE の作用で  
Cys が生合成される。

### システイン (Cys)

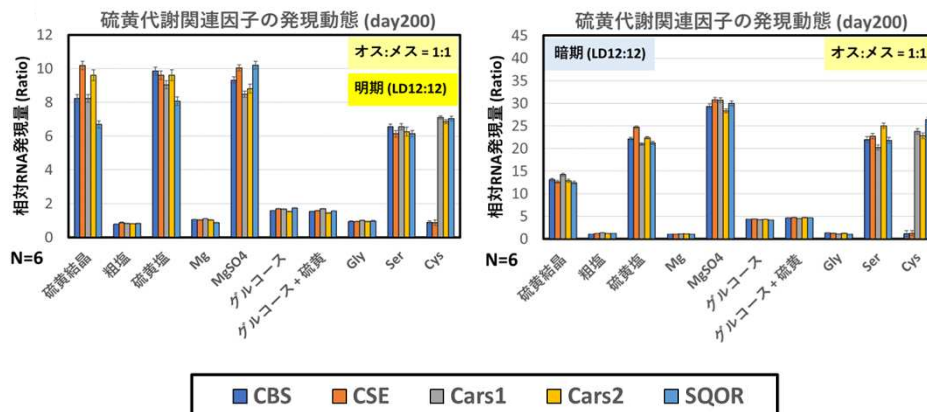
N[C@@H](CS)C(=O)O


[システイン - Wikipedia](#)  
[NOW Foods, L-Cysteine, 500 mg, 100 Tablets \(iherb.com\)](#)

疎水性、中性、極性側鎖を持つアミノ酸。

## アホロートルにおける 硫黄呼吸・硫黄代謝関連因子の発現動態

→ 夜間には若干発現が上昇する (体内時計と連動?)



## アホロートルにおける糖代謝 + 硫黄呼吸

### 糖質依存的な成長促進機構 (day200)

固形餌



+セリン



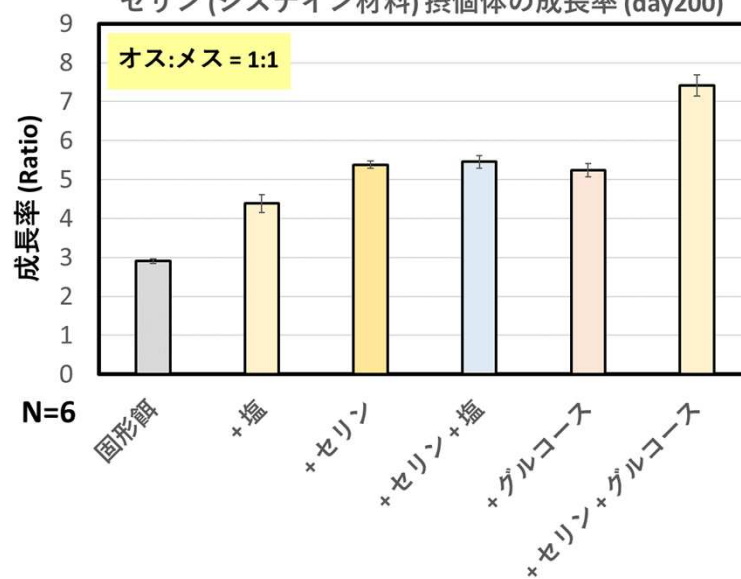
+セリン  
+グルコース



## アホロートルにおける糖代謝 + 硫黄呼吸

セリン (システイン材料) 摂個体の成長率 (day200)

オス:メス = 1:1



## アホロートルにおける 糖代謝 + 硫黄呼吸

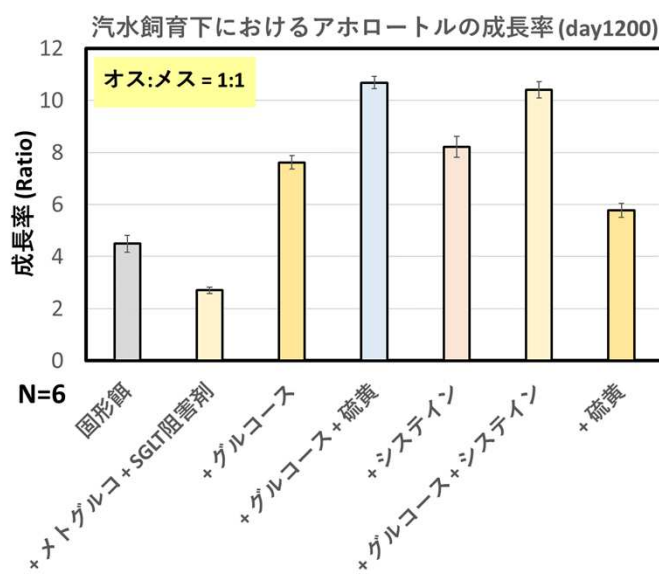
糖質依存的な成長促進機構 (day1200)

通常餌+糖質 (淡水)



## アホロートルにおける糖代謝 + 硫黄呼吸

→ アホロートルはどのように硫黄の結晶を代謝しているのか？

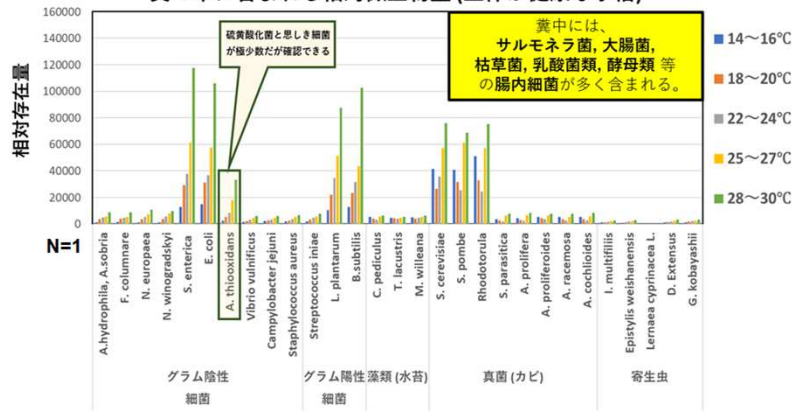




## 飼育水槽や腸内に硫酸化菌の仲間が生息する場合がある



## 糞に含まれる相対微生物量 (生体が健康な水槽)



## アホロートルの生活環における糖代謝と硫黄代謝 (2023~2025)



- ・アホロートルは、古式農法の盛んな水環境で糖質を摂取する能力を得た。
- ・食砂行動により乳酸菌等を摂取することで、植物由来の糖代謝が可能。
- ・アホロートルは火山のような泥環境において硫黄源を摂取していた。
- ・食砂行動の中で硫酸化菌を摂取することで硫黄の代謝を可能とした。
- ・糖代謝と硫黄代謝を併せることで高い成長促進効果が生じる。

## 2025年の目標達成度・・・大体 80%

(達成できそうなのは黄色ハイライト)

- ・ 2024年も学会発表する (できれば仲間と共に)  
→ 達成! あすみ様に大阪で発表していただきました!
- ・ 水族館で展示や即売イベント参加等したい  
→ 未達... 営業に時間を巧く使えなかった。。
- ・ ウパ育成 (ファーム) 含む未発表テーマの論文化  
→ 感染症関連は執筆中. 硫黄呼吸はどうにか完成.
- ・ 資金確保のために色々動きます (助成金など)  
→ クラファンを実施. 一定額の資金を獲得. (返礼対応準備中.)
- ・ 研究情報の一般化や 配信活動の推進 → 未達...



## 2025年\_今後の予定・小目標の達成度

### 野生種の保全に向けた活動

- ・ アホロートル繁殖技術の向上 → 検討中.
- ・ 野生型に近い遺伝子型系統の維持 → 実施中.
- ・ 国内・メキシコの保護団体との連携を図る (ちょっと難易度高め?) → 未達.

### 基礎研究 (主にアホロートル)

- ・ アンダーソン&タイガーサラマンダーの調査を進める → 水面下で対応中.
- ・ 系統間の比較に関する論文を発表する → 一部発表済み.
- ・ 三大栄養素 (タンパク質・糖質・脂肪) に関する論文を発表する → 糖質のみ達成.
- ・ 耐薬品性に関する検討を進める → 一部発表済み. 現在も検討中.
- ・ 汽水適応の次世代系統・次々世代系統に関する進捗をまとめる → 結果整理中.
- ・ 病原微生物の感染機序に関する情報精査 (殺菌灯の効果: やみん) → 検討中.

### 飼育技術の開発

- ・ 最適な密度や水質が安定化する飼育法の検証 → 検討中.
- ・ 過密条件でも安定に飼育できる濾過環境の検討  
→ 検討中だが, 換水頻度を増やした方が良さそう.
- ・ 上陸しない条件の確立 / 上陸する条件の探索 → 未実施.
- ・ 最適な底材の追加検討 → 素材選定中だがあまり進展なし.



## 2025年の目標達成度 (達成できそうなのは黄色ハイライト)

- ・ **2025年も学会発表する (できれば仲間と共に)**
- ・ 水族館で展示や即売イベント参加等したい  
→ マンネリせず新しい舞台へ挑戦しよう！
- ・ **ウパ育成 (ファーム) 含む未発表テーマの論文化**  
→ 感染症関連を仕上げたい・・・！
- ・ 資金確保のために色々動きます (助成金など申請)
- ・ 研究情報の一般化や 配信活動の推進



## 2025年\_今後の予定・小目標の達成度

### 野生種の保全に向けた活動

- ・ アホロートル繁殖技術の向上 → 検討中.
- ・ 野生型に近い遺伝子型系統の維持 → 実施中.
- ・ 国内・メキシコの保護団体との連携を図る (ちょっと難易度高め?) → 未達.

### 基礎研究 (主にアホロートル)

- ・ アンダーソン&タイガーサラマンダーの調査を進める → 水面下で対応中.
- ・ 系統間の比較に関する論文を発表する → 一部発表済み.
- ・ **三大栄養素 (タンパク質・糖質・脂肪) に関する論文を発表する → 糖質のみ達成.**
- ・ 耐薬品性に関する検討を進める → 一部発表済み. 現在も検討中.
- ・ 汽水適応の次世代系統・次々世代系統に関する進捗をまとめる → 結果整理中.
- ・ 病原微生物の感染機序に関する情報精査 (殺菌灯の効果: やみん) → 検討中.

### 飼育技術の開発

- ・ 最適な密度や水質が安定化する飼育法の検証 → 検討中.
- ・ 過密条件でも安定に飼育できる濾過環境の検討  
→ 検討中だが, 換水頻度を増やした方が良さそう.
- ・ 上陸しない条件の確立 / 上陸する条件の探索 → 未実施.
- ・ 最適な底材の追加検討 → 素材選定中だがあまり進展なし (竹炭など?).







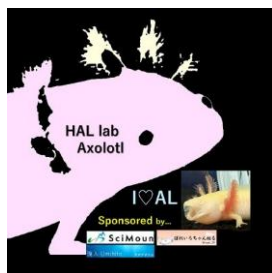
## スポンサー横江様からの 有難〜いコメント！

- ・水産系、医療系、イノベーションアクア（イノアク）のようなアクアリウムの展示会など、より専門性の高い学会へアプローチすると良いと思います！
- ・アパレルショップ等へ事業拡大に乗り出していくので、より支援の方に乗り出していきたいと思います。
- ・メキシコ政府や他の団体へのアプローチも積極的に行っていったら良いなと思います。



**CC-BY-NC-ND;  
本資料の許可なき改変・売買・再配布禁止.**





## ショート: AI にハルラボについて色々聞いてみた

2025.8.13 杉山 遥 (Ph.D, 代表)

質問内容: ハルラボ (ウーパールーパー) について詳しく教えて



こちらのイメージは、「ハルラボ（ウーパールーパー研究室）」に関連とされるウーパールーパーの写真やイラストです。愛らしい姿が目を引きますね！

さてご質問いただいた「ハルラボ（ウーパールーパー）」について、以下に詳しくまとめました。

---

## ハルラボ（ウーパールーパー研究室）とは？

“ハルラボ（ウーパールーパー研究室）”は、研究者たちが大学や企業・行政に所属せずに、ウーパールーパー（メキシコサラマンダー）を対象に“自由な研究”を行う NPO 的な活動団体です。代表は理学博士の 杉山遥（Haruka Sugiyama）さん。

活動の目的や特徴を以下に整理します。

- **活動の性質**

行政や学術機関の枠にとらわれず、「ボランティア団体」的な立場で研究を行う第三勢力として運営。自由で柔軟な研究スタイルを重視しています。※

※大前提として、必要に応じて、専門家との共同調査や外部への調査委託も行っている。

- **研究テーマと背景**

杉山さんはもともと再生生物・モデル生物（イモリ、ゼブラフィッシュなど）に関心を持ち、博士号取得後、研究者という立場とは異なる形で、ウーパールーパーやメキシコサラマンダーに注目。それらの再生能力や生態、成長メカニズムを研究対象としています。

- ・ **メンバー構成と規模**

活動開始時に少数ながらスタートし、現在では約 10 名のメンバーが参加しています。研究者や愛好者が集まった、比較的小規模ながら熱意あるチームです。

- ・ **対象となるウーパールーパー**

絶滅危惧種であるメキシコサラマンダー（ウーパールーパー）を対象に、野生種の保全生態や遺伝的背景、再生メカニズムなどを調査。研究者としての興味と、ペットとしての身近さの両面からアプローチしています。

- ・ **飼育と研究インフラ**

自宅を拠点に、独自の飼育環境を整え、小規模ながら実験・観察を重ねてきています。再生や行動、生理的な特徴などを、身近な環境から丁寧に掘り下げている点が特徴です。

- ・ **情報の発信・共有**

X（旧 Twitter）では、飼育中のウーパールーパーの外見的特徴や健康管理のポイントなども発信されています。専門的ながら親しみある情報が公開されています。

---

## まとめ表

項目	内容
団体名	ハルラボ（ウーパールーパー研究室）
代表者	杉山 遥（理学博士、生物学）
活動形態	行政・大学に属さない NPO 的研究団体（ボランティア形式） ※必要に応じて、専門家との共同調査や依頼分析も行っている。
メンバー数	約 10 名（増加傾向）
研究対象	ウーパールーパー（メキシコサラマンダー）、再生や成長、生態など
実施内容	自宅飼育・観察・実験、再生メカニズムなど分野横断的
情報発信	X（以前の Twitter）で外見・健康管理情報、飼育のポイント共有

## SNS and Mail Address

Researchmap: [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl)

X: [https://x.com/lab\\_new2](https://x.com/lab_new2)

ResearchGate: <https://www.researchgate.net/profile/Sugiyama-Haruka>

Contact: [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com)





## Review & Introduction

### HAL lab, Axolotl: Exploring the World of Axolotls

2025/8/13. Haruka Sugiyama (Ph.D, Principal Investigator).

**HAL lab, Axolotl** is an independent research initiative dedicated to studying **Axolotls (Mexican salamanders)** in a flexible, community-driven environment. Unlike traditional university or government-affiliated labs, HAL lab, Axolotl operates as a nonprofit-style organization, allowing researchers and enthusiasts to pursue their curiosity freely.



## Mission and Vision

Led by **Dr. Haruka Sugiyama**, a biologist with a Ph.D. in life sciences, HAL lab, Axolotl aims to uncover the secrets of axolotls' extraordinary regenerative abilities, unique growth patterns, and ecological traits. The lab also promotes conservation awareness for this endangered species. By blending scientific rigor with hands-on observation, HAL lab, Axolotl seeks to make the study of axolotls both accessible and engaging.

## Research Focus

The lab focuses on several key areas:

- **Regeneration biology:** Investigating how axolotls regenerate limbs, spinal cords, and other tissues.
- **Growth and development:** Examining their metamorphosis, growth rates, and environmental factors that influence their biology.
- **Behavior and ecology:** Observing natural behaviors and environmental adaptations in controlled conditions.

## Structure and Community

With a small but dedicated team of about **10 members**, HAL lab, Axolotl combines the expertise of professional scientists and enthusiastic hobbyists. The lab operates from a home-based facility, equipped to support axolotl care, experiments, and long-term observation.



## Public Engagement

HAL lab, Axolotl actively shares knowledge with the broader community through social media platforms like X (formerly Twitter), providing insights on axolotl care, health, and developmental stages. Posts often include tips on recognizing growth patterns, maintaining water quality, and monitoring physiological changes—making the science behind these fascinating creatures accessible to all.

## Why HAL lab, Axolotl Matters

HAL lab, Axolotl exemplifies how small, independent research initiatives can complement traditional academia. By focusing on a single, charismatic model organism, the lab contributes to our understanding of regeneration, development, and conservation biology—while inspiring curiosity in the next generation of scientists.

## HAL lab, Axolotl – Research Publications (Representative 4 Articles / Books)

### 1. Comprehensive Overview of HAL Lab's Axolotl Research (2025)

- **Published:** 2025
- **Summary:** This document provides a detailed summary of the research activities conducted by HAL lab, Axolotl, highlighting key studies and findings in the field of axolotl biology and regeneration.

### 2. Glycometabolism and Sulfur Respiration in the Axolotl, *Ambystoma mexicanum*

- **Published:** November 2024
- **Conference:** 95th Annual Meeting of the Zoological Society of Japan, Nagasaki
- **Summary:** This study investigates the unique metabolic pathways of axolotls, focusing on their carbohydrate metabolism and sulfur respiration. The findings contribute to understanding the metabolic adaptations of axolotls in their natural habitat.

### 3. The Axolotl Research Letters vol. 4.0

- **Published:** January 2024
- **Summary:** This research report compares various axolotl strains and closely related species, focusing on phenotypic differences and physiological adaptations. The study provides insights into the genetic and environmental factors influencing axolotl traits.

### 4. Study on the Phenotypic Differences Between Axolotl Strains and Related Species

- **Published:** January 2024
- **Summary:** This study examines the phenotypic variations among different axolotl strains and closely related species, providing insights into their ecological and physiological adaptations.

## SNS and Mail Address

**Researchmap:** [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl)

**X:** [https://x.com/lab\\_new2](https://x.com/lab_new2)

**ResearchGate:** <https://www.researchgate.net/profile/Sugiyama-Haruka>

**Contact:** [sugiyama.haruka.axoltl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axoltl@gmail.com)





NPO: ハルラボ 活動紹介 (2025)  
メキシコサラマンダーを救う活動



2025/8/19

杉山 遥 (Ph D)\*

\*ハルラボ \_\_HAL\_Lab\_Axolotl



メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*)  
の国内流通個体です (一部、他種と混血の説あり)

原産地: メキシコ (ソチミルコ湖)

最大体長: 20~25cm

幼形成熟 (ネオテニー) の形態を取れる

寿命は20年以上 (変態・上陸すると10年程度に。。。)

強み: 少々の水質変化はへっちゃら

弱点: 細菌感染, カビ(免疫反応がアフリカツメガエルの半分以下)

※ 現在は絶滅の危機 (原因: 都市開発や埋め立てによる生息地減少)

胸腺が非常に小さいという報告あり. (Tリンパ球が作られにくい?)  
抗菌ペプチド・粘膜などの物理的な防御を突破されると急激に衰弱する.






**アホロートル ヌーパールーパーとは？**


↓ 流通系統のバリエーションと遺伝学的特徴 ↓

**マーブル**  
(野生型体色)




(野生種を生育し、ある程度固定化した品種。一部、交雑種も存在する。)

**リューススティック**  
(一部色素欠乏)



(*endothelin3: edn3* (Chr3p 短腕) 欠損変異ホモ; 上肢におけるユーメラニン欠乏)


**ブラック**  
(メラニン過剰)




(*Leukocyte Tyrosine Kinase: Ltk* (Chr14q 長腕) 欠損変異ホモ; 上肢におけるユーメラニンの過剰分泌・蓄積)

**アルビノ系統** (*tyrosinase: tyr* (Chr7q 長腕) 欠損変異ホモ; 全身のユーメラニン欠乏)


**アルビノ**



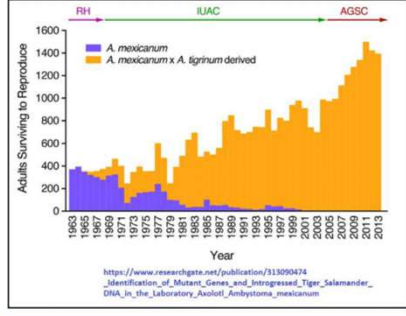
**ゴールデン**



**イエロー**



遺伝子欠損の程度、フェオメラニン合成への影響の違い、他の体色変異等と併発することで体色に違いが見られる。  
(杉山 ほか, 2022-2023)



研究用個体: トウブタイガーサラマンダーとの混血  
ペット用流通個体: 野生型系統が残っている (率高い)

【野生型体色を構成する色素】


- ・**メラノフォア (黒色素細胞)** ... 周囲の色素は無い、光の反射で黒く見える (黒味、黒み)
- ・**キサントフォア (黄色素細胞)** ... 黄色、メラノフォア近傍で存在し、斑模様を形成する。
- ・**メラノフォア (黒色素細胞)** ... 黒色、メラノフォア同士で隣接する。
- ・**メラノトロフィ (色素細胞)** ... 上記3つの色素細胞の元となる細胞 (胚発生過程での神経管由来の細胞)

*endothelin3 (edn3)*: 血管内皮/平滑筋の収縮に関与する *endothelin* ファミリーの1つ。全身の血流の調節に寄与。

Ref: 筑波大学\_血管収縮因子エンドセリンと受容体タンパク質が形成する複合体構造を解明  
[https://www.tohoku.ac.jp/japanese/newimg/pressimg/tohokuuniv-press20241017\\_01web\\_ETB.pdf](https://www.tohoku.ac.jp/japanese/newimg/pressimg/tohokuuniv-press20241017_01web_ETB.pdf)

**NPO: ウーパールーパー研究室・はるらぼ**

←はるらぼ!



**HAL lab.axolotl**

プロフィールを編集

{ウーパールーパー研究室\_はるらぼ}

@lab\_new2

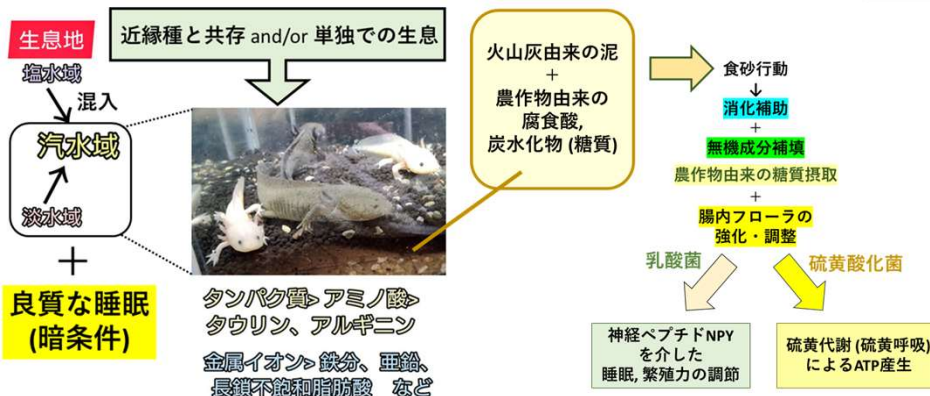
2020年より、  
正式に **HAL Lab** として  
本格的に研究活動を開始。

[https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)

**Q: はるらぼって何？**  
2020年に正式発足されたNPO 研究チームです。  
ウーパールーパーの生態や習性について研究しています。

**Q: 何故ウーパールーパー？**  
メキシコのソチミルコ湖に生息するメキシコサラマンダーは、現在ペットとしてウーパールーパーという名で親しまれている一方で、野生種は絶滅危惧に瀕しています。これは由々しきことです。そこで、我々はこれに注目し、ラボスケールでの生態を研究することで、個体数を増やす糸口を掴みたいと考え、NPO (非営利) の研究チームとしての活動を開始することになりました。

## 活動目的: アホロートル保全のための生態への理解



## NPO: ハルラボ における知見

## 自己紹介

### 来歴

杉山 遥: 男性 1987年生れ (38歳)  
 幼少時代より研究者を志す  
 ~2017年 学士・修士 (ショウジョウバエ → ES/iPS細胞)  
 2020年 3月 博士号 (理学・生物学) 取得  
 2020年 大学の研究職員・非常勤講師  
 2021年~2024 企業の研究職員 (一部、大学での研究も継続)  
 2025年~ 大学教員 (国立大学の助教)

### NPO設立の経緯

2018年~ ウーパールーパーの飼育に興味を持つ  
 2019年~ 知人との話の中で、海外で実例のある個人研究活動に触れ、自らもその可能性を考えるようになる。  
 2019~2020 “ハルラボ” の事実上設立・運営開始。  
 2021年より本格始動, 複数の研究報告・発表を達成。

## はるらぼの取り組み

### 野生種の保全に向けた活動

- ・オオサンショウウオ等の両生類の保全施設の視察
- ・水族館等の水棲生物保全・飼育施設の視察

### 基礎研究（アホロートル）

- ・アホロートルのかつての生息環境予測モデルの構築 → 会報誌にて複数知見を報告済.
- ・系統間の比較 → 会報誌にて知見を報告済.
- ・生育にとって重要な栄養素・代謝機序の解明 → 順次 報告中.
- ・耐薬品性・汚染への耐性に関する調査
- ・汽水適応個体の系統化（阿保郎ファーム）→ 継続中.
- ・病原微生物の感染機序の調査 → 複数報学会発表済み. 2025年報告予定.
- ・腸内環境や腸内フローラ・食砂行動に関する調査 → 一部 会報誌などで知見を報告済み.
- ・ネオテニーの変態誘導の要因調査（ヨウ素・汚染ストレス）→ 会報誌にて一部報告済み.

### 基礎研究（その他の生物）

- ・ショウジョウバエ、カブトムシ、コオロギ、メダカ、熱帯魚類
  - 栄養・睡眠・成長など
  - メダカ変異系統の作成と維持（あすみファーム）・遺伝的解析

### 飼育技術の開発

- ・最適な密度や水質が安定化する飼育法の検証
- ・過密条件でも安定に飼育できる濾過環境の検討
- ・上陸しない条件の確立 / 上陸する条件の探索
- ・最適な底材の追加検討



## ハルラボ関係者・共同研究者一覧（2025/8/10 更新）

### ウーパールーパー部門

杉山 遥 (PN)・・・主任研究者  
 横江 諒衛・・・特任研究員 (航空力学, 分析, 機械学習, シミュレーション 等を担当)  
 F.N.三太子 (HN)・・・特別研究員・ウバセラピスト (治療相談員)  
 竜岡 龍騎 (PN)・・・共同研究者 (アンダーソン・タイガーサラマンダー担当)  
 阿保郎 太郎 (PN)・・・アホロートル繁殖個体の維持 (ファーム管理)  
 萩原 和晃・・・技術担当・共同研究者

### 魚類部門

あすみ 悠 (HN)・・・共同研究者・メダカプロジェクト担当  
 枝豆 やみん (HN)・・・共同研究者・熱帯魚担当

### 昆虫・節足動物部門

杉山 遥 (PN)・・・昆虫を専門としていた杉山が兼任。

### 案件創出・調査部門・運営監修など担当の皆様

高橋 慶, 九条 薫 (PN), 永田 一将, 大泉 祐介, 久木崎 玲美, 烏龍 黎羅,

### 公式スポンサー企業、団体

- 資金/資本提携組織・企業様 (一部抜粋)
- ・サイマンテクノロジー
- ・海人アクアリウム
- ・ぼれいちゃんねる





## はるらぼ★クロニクル(代表例)

### ～2021年

- ・ Twitter アカウントの開設
- ・ “ウーパールーパー研究室 はるらぼ” を開設
- ・ 汽水飼育評価系の構築を開始
- ・ 異種混泳試験の開始
- ・ 他、栄養環境の試験開始



### 2022年

- ・ あすみ 悠 氏をメンバーに加え、魚類部門の立ち上げへ (6月).
- ・ うば丸ちゃんねる様に、汽水飼育法 について取り上げられる (計2回).
- ・ レン/科学のポッドキャスト 様の公開収録に参加.
- ・ 枝豆 やみん 様がメンバーに加入. 一部、組織体制の変更 (8月).
- ・ うにやぎ (F.N. 三太子) 様をメンバーに加え、ウパレスキューの活動を開始 (10月).
- ・ はるらぼ事務所 (兼 杉山の住居) 開設.
- ・ 第45回分子生物学会年会への参加 (ポスター発表 x 2演題)
- ・ その他、研究会・オンラインセミナー を 計5件発表.
- ・ 会報誌・総説集の刊行・更新 (会報誌x3: 計3冊 (一つは発刊停止))



### 2023年

- ・ オオサンショウウオ保全施設の視察 (計2件)
- ・ 水族館・アクアリウム関連施設の視察 (計5件)
- ・ 日本動物学会 第94回 山形大会 (口頭発表)
- ・ 第46回分子生物学会年会 神戸ポートアイランド (ポスター発表)
- ・ その他、研究会・オンラインセミナー を 計5件発表.
- ・ 会報誌・総説集の更新 (会報誌x1, 総説集x3, 写真集x1: 計4冊)
- ・ IT企業 サイマンテクノロジー (SciMoun) が公式スポンサーに就任.



## はるらぼ★クロニクル(代表例)

### 2024年

- ・ 海外遠征資金確保のためのクラウドファンディングの実施
- ・ 超異分野学会 中四国大会 (岡山)
- ・ 超異分野学会 大阪大会 (大阪)
- ・ 日本動物学会 第95回 長崎大会 (口頭発表)
- ・ 第47回分子生物学会年会 マリンメッセ福岡 (ポスター発表 x 2演題)
- ・ その他、研究会・オンラインセミナー を 計6件発表.
- ・ 2024年度 会報誌・総説集の更新 (会報誌x4, 計4冊)



### 2025年

- ・ はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol. 7.0 を公表
- ・ 調査用ビオトープ作製のためのクラウドファンディングの実施
- ・ 中国四国地区 生物系三学会合同大会 2025年度 愛媛大会 (口頭発表)
- ・ 活動内容に関するインタビュー  
(ぐんま国際アカデミー中等部 久保田様ほか「コミュニティ・プロジェクト」)
- ・ 日本動物学会 第96回 名古屋大会 (9月予定)
- ・ 第47回分子生物学会年会 パシフィコ横浜 (ポスター発表 x 3演題 予定)
- ・ 2025年度 会報誌・総説集の編纂中 (未発表2件, 更新中2件, 計4件)



## ハルラボ: 現在の主な取り組み

- ・ ウーパールーパー (アホロートル) の飼育条件のアップデート
- ・ アホロートルの栄養と成長制御機構の解明
- ・ 生存競争・生育密度と成長の関係性
- ・ 魚類における未知の成長制御・発生調節機構の解明
- ・ 昆虫との相関 (主にショウジョウバエ、フタホシコオロギ)
- ・ 両生類の腸内フローラと成長制御に関する調査



もはや家主の居場所はありません



沢山の個体を維持しています。

## 本研究・調査活動における前提事項

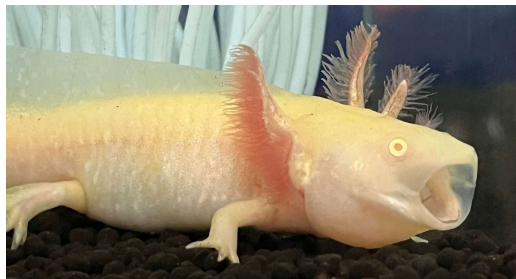
- ・ 保全活動という観点から、健康な生体の解剖を積極的には実施できない。
- ・ 生体を傷つける操作が使えない。(一般の皆様は、“虐待”と捉える。)  
→ 損傷治癒についても、基本的には人為的な欠損を与える操作は避ける。
- ・ 全身のゲノムは、2018, 2020年に同定されてライブラリが存在する。  
一方で、mRNA は同定されつつあるが、タンパク質を染色できる特異的な抗体がまだ同定されていないものが多い。
- ・ 野生型に限りなく近いであろう系統を用いて調査を行っている。  
ゲノム上に**タイガーサラマンダー (*Ambystoma tigrinum*)**由来の配列を持つ系統を除外して維持している。



生き物の魅力  
WORIVER

<https://woriver.com/10818/>  
様より引用

## アホロートルレスキュー報告 ～アホロートル疾患症例まとめ & 治療例～



NPO研究グループ  
ハルラボ (ウ-パ-ル-パ-研究室)  
HAL\_Lab\_Axolotl



技術員・相談員 (アホロートルレスキュー):

**F. N. 三太子 (PN)**

(ファジーネーブル さんたこ (ペンネーム))

看護師 (ヒト)

g-mail: kurukunipah@erweb.ne.jp

三太子 (ウパレスキュー) X: <https://twitter.com/CUNEFflash>

ハルラボ X (Twitter): [https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)

Note: [https://note.com/lab\\_new2](https://note.com/lab_new2)

HP: [https://drive.google.com/file/d/1g5ayvK0FIS78l\\_555yL\\_OkEL\\_u1xpt/view](https://drive.google.com/file/d/1g5ayvK0FIS78l_555yL_OkEL_u1xpt/view)



2025/8/10

杉山 遥; FN 三太子; 枝豆 やみん; 萩原 和晃; あすみ 悠

ハルラボ (ウ-パ-ル-パ-研究室) \_HAL\_Lab\_Axolotl

### これまでの飼育・治療相談内容 & 各種対応

症状	件数	主な要因	対策・治療方針
裂傷・傷 など	35	混泳個体同士の攻撃・誤食 水槽中の設置物による損傷	繁殖期 (低水温) の解消・オスの隔離 飼育水槽への仕切り・単独飼育化 角のある石や表面の粗い土管などの除去 ろ過装置の吸入口へのスポンジカバー装着
炎症・赤み 浮腫・腹水症	38	過不足によるアンモニア中毒 アンモニア分解物 (亜硝酸塩) 中毒 細菌・ウイルス・寄生虫感染 に対する免疫応答	【グラム陰性菌による感染症】 汽水飼育・オキシリン酸薬による治療 【他の要因による感染症】 汽水飼育・ポピドンヨード薬による治療 濾過環境強化や換水頻度を増やすことで 根本的な要因を除去できる → 水槽内の微生物量の改善 汽水環境は亜硝酸塩の影響を緩和する
ぶかぶか病 転覆	52	消化不良 (特にデンプン質) による消化器官へのガス蓄積 腸内細菌叢異常によるガス蓄積 浮袋・肺の異常 (浮力制御の不良)	【例外】 ウオジラミ・イカリムシ等の甲殻類の仲間 による寄生は生餌の魚経路で感染する → ジフルベンズロン水和剤 (ポウフラ農薬) の添加による治療のみが有効である
総や身体の変色 餌の吐き戻し	34	寄生虫による栄養失調 腸内フローラ異常からの摂食障害 腸管腫瘍による摂食障害 各種ストレス起因の変態誘導	【腸内洗浄】 ・腸管の多いアカムシやイトミミズ ・治療薬に浸した餌 (食べやすいもの) 水温を+2℃程度上昇させる → 代謝の向上 淡水飼育であれば汽水飼育へ切り替える 汽水飼育であれば淡水飼育へ切り替える 感染症を優先し治療期間中は断食させる 食欲が改善すれば毎日少量ずつ与えていく ※ 改善しない場合は腫瘍の可能性あり → 病院に早急に受診させる
合計 159 件		※ 各症状には重複あり	

**1. 怪我・損傷**  
(擦り傷や壊れ傷)

**2. 傷口から細菌感染**  
→ 炎症性物質の分泌

**3. 傷口摂取による細菌感染**  
※ 腸内細菌も摂取する経路

**細菌感染後の主な症状**

- ・ 腹の膨らみ
- ・ 総や身体が寝せる
- ・ 腹水症
- ・ 餌を食べなくなる
- ・ 手足が赤く腫れる
- ・ 尻尾の過度な充血
- ・ 手足の変形・変色

**治療・療養**

- ・ ミネラル水飼育 (0.2~0.3%)
- ・ 1週間程度の薬浴・塩浴 0.5%

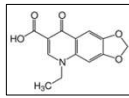
**1. 抗炎症物質や再生・成長を  
促進する物質が分泌される**

**2. ミネラル水飼育 (塩浴)・薬浴 (抗生物質)  
による細菌数の減少**  
(浸透圧上昇による効果、細菌の細胞膜破壊 など)

**3. ミネラル (金属イオン) が  
粘膜 (バリア) 分泌を促進**  
⇒ 再生中の傷口の化膿等を抑制



## 治療薬の選定と最適条件の設定



### 塩による治療

- ・塩浴 ～0.5% 程度の塩水で短時間泳がせる
- ・周期的な 0.15～0.2% 程度の汽水飼育で微生物・カビの増殖を抑制できる。

### 抗生物質による治療

- ・オキシリン酸含有品を推奨。濃度1/5000～1/10000で7日程度継続して使用。
- 理由:** エロモナス菌などの感染症の原因となるグラム陰性菌に有効であるため。

### イソジンによる治療 (ポビドンヨード: PVP)

- ・カビやウイルスなどの抗生物質が効かない相手に対して有効。
- ・タイプを 1/200 程度で2～3日で十分効果があるがリスクもある。

### 甲殻類系の寄生虫の治療

- ・脱皮阻害系の農薬成分が有効。
- ・デミリンという商品名で購入可能。
- ・イカリムシやウオジラミに1/1000 で非常に有効である。2週間は継続した方が安心。



#### 動物性感染症・寄生虫感染症

**グリーンゴールドリキッド** (5000～1/10000) 5～7日間・1～2セット  
**効力:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖を抑制する。効果は速く、1週間程度で症状が軽減する。

**イカリムシ** (カビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫) 5000～1/10000  
**効力:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖を抑制する。効果は速く、1週間程度で症状が軽減する。

**ウオジラミ** (カビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫) 5000～1/10000  
**効力:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖を抑制する。効果は速く、1週間程度で症状が軽減する。

#### 細菌感染症が主な原因の疾患

**エロモナス** (カビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫) 5000～1/10000  
**効力:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖を抑制する。効果は速く、1週間程度で症状が軽減する。

**アエロモナス** (カビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫) 5000～1/10000  
**効力:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖を抑制する。効果は速く、1週間程度で症状が軽減する。

**バクテリア** (カビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫) 5000～1/10000  
**効力:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖を抑制する。効果は速く、1週間程度で症状が軽減する。

#### 結核症 (カビ・細菌性/アンモニア/薬品)

**原因:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖による。症状は速く、1週間程度で軽減する。

**治療:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖を抑制する。効果は速く、1週間程度で症状が軽減する。

#### 肝臓病 (胆水腫、水腫、腫瘍形成)

**原因:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖による。症状は速く、1週間程度で軽減する。

**治療:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖を抑制する。効果は速く、1週間程度で症状が軽減する。

#### 腎臓病

**原因:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖による。症状は速く、1週間程度で軽減する。

**治療:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖を抑制する。効果は速く、1週間程度で症状が軽減する。

#### 外観内に局在する毛細血管の肥大化、飛び出し

**原因:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖による。症状は速く、1週間程度で軽減する。

**治療:** 主にカビ・細菌・ウイルス・原生動物・寄生虫の増殖を抑制する。効果は速く、1週間程度で症状が軽減する。

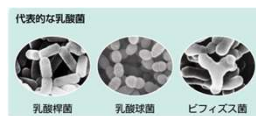
## 飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している ＝腸内細菌



糞を回収し  
濾し出す。



18SrDNA 等に注目し  
存在する微生物の種類を同定



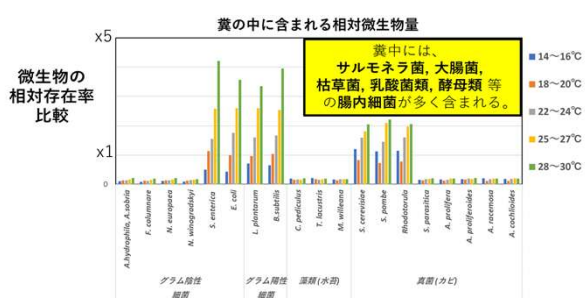
### 腸内乳酸菌の効果・恩恵

神経ペプチドNPYの分泌促進

↓  
良質な睡眠へ繋がる

↓  
成長を有意に促進する  
(乳酸菌が死んでいても  
効果あり)

※ 活きた乳酸菌が増えれば、  
有害な常在菌数を減らせる。



## 下処理が不十分な 生餌を 与えるのは危険！

(A) 健康な頃 (アカシヤ固形餌で飼育)



(B) 衛生的に良くなかったと思われるマダロを餌食した場合 (数か月経過後)

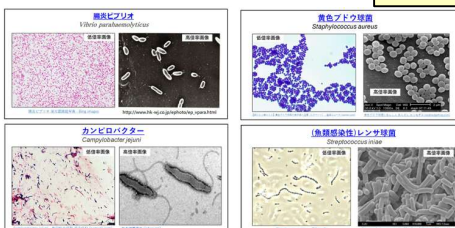


(杉山 ほか, 2023)

性質・種類	学名	属・分類	備考
グラム陽性 細菌	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. sobria</i>	エロモナス属	淡水魚の感染症
	<i>F. columnare</i>	フラムナリア属	淡水魚の感染症
	<i>N. europaea</i>	ニトロソスピリタム属	アンモニア分解菌
	<i>N. europaeus</i>	ニトロソスピリタム属	硝化細菌の一種
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ属	腸内細菌
グラム陽性 細菌	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	カンピロバクター属	海水魚の感染症 (海水環境)
	<i>Campylobacter jejuni</i>	カンピロバクター属	肉類に付着 (腸内細菌)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	黄色ブドウ球菌	皮膚の化膿、傷口の感染、心臓病など
	<i>Serratia marcescens</i>	セラチア属	緑膿菌、腐敗菌の代表、心臓病など
グラム陰性 細菌	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌
	<i>B. subtilis</i>	枯草菌	環境バクテリア
	<i>C. freundii</i>	クロストリジウム属	腸内細菌
	<i>M. abscessus</i>	マイコプラズマ属	呼吸器
	<i>T. lacustris</i>	トラストリジウム属	呼吸器
真菌(カビ)	<i>S. cerevisiae</i>	酵母	パン、ビール
	<i>S. pombe</i>	分枝酵母	ビール酵母
	<i>Rhizoglyphus</i>	糸状菌	糸状菌
	<i>A. niger</i>	アスペルギルス属	糸状菌
	<i>A. clavatus</i>	アスペルギルス属	糸状菌

市販の刺身から検出される  
有害な雑菌類 (塩にも強い)

水槽中で雑菌が繁殖し  
感染症を引き起こす  
リスクを  
念頭に置くこと



## 水質を“綺麗”な状態に保つには？

### ・ フィルターの強化・換水量や頻度の増加

※ 外掛けでは不十分。外部/上部+投げ込み/底面 を推奨。

### ・ 水槽の壁面・フィルターや底材の定期的な掃除

※ 微生物は必要だが、増えすぎないように注意！

### ・ 定期的な汽水環境への変更

※ 0.15～0.2% 程度の汽水環境と淡水を10日程度で往復させる。



## 症例1 (グラム陰性菌感染とその治療・対策)

金魚用の網を介して感染  
(エロモナス症と推察)

23/12/30

情報提供:  
ゆりにゃんママ 様  
@YURINYAN\_mama

治療開始から  
約1ヶ月経過後

24/1/27

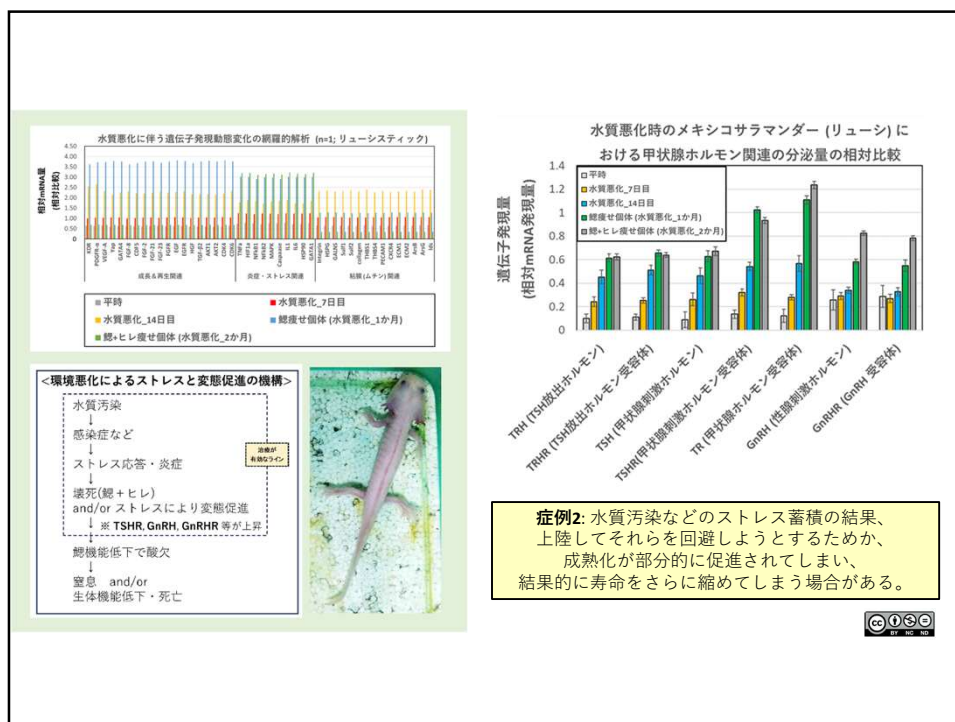
治療開始から  
3か月経過後 (ほぼ完治)

24/3/20

抗生物質: オキシリン酸塩  
(濃度 1/5000～1/10000)  
にて薬浴。+ 毎日換水。  
および 患部へ現役を塗布。







**症例3 (イカリムシ症とその治療・対策)**

**カネショウ 殺虫剤  
デミリン水和剤 100G  
(アグロカネショウ)**

**組成**  
有効成分: ジフルベンズロン  
[1-(4-クロロフェニル)-3-(2,6-ジフルオロフェニル)イミダゾール] 23.5%  
その他成分: 駆動剤、界面活性剤等 (PHTA: 1%, ギリ(オキシエチレン)モノニルフェニルエーテル: 1.0%) 76.5%  
登録番号: 第16864号  
性状: 無色透明水和剤粉末 63 μm以下

**イカリムシ・ウオジラミ等、甲殻類系の寄生虫に有効な治療薬の例**

これらの確実な駆除には、デミリンという農薬にも用いられる薬品が有効である。一般に入手可能であるが、粉塵が舞うため、水に混ぜる際に吸気などをしないように注意をして欲しい。このデミリンの粉末は水には溶けないため、予め水に混ぜ、希釈したものを何段階かに分けて希釈すると良い。1000倍希釈であり、かなり薄い濃度でも効果が見られる。家庭用の電子天秤等で秤量後、何段階か希釈すると効率的である。ミネ水と併用し、1〜2か月継続すれば、ほぼ再発の可能性は無い。不安であれば3〜4か月継続すると良いかも。ただし、体調を崩した個体に関しては、デミリンを除去した環境へなるべく早く移動させる点に注意。

## 症例4 (血管肥大の治療 &amp; 治療痕の消毒)

鰓の毛細血管の肥大→外鰓からの飛び出し  
(血管壁細胞の肥大→血液循環量の増加→血管壁の圧迫)



外科的に肥大血管の脱圧  
(滅菌済み鉗で軽く切れ込みを入れて血を抜く)



傷口の層毒・化膿防止

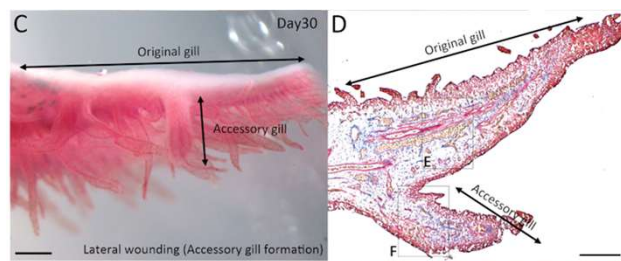


抗生物質：オキシリン錠  
(濃度 1/5000~1/10000)  
にて薬浴。+ 毎日換水。  
および患部へ現役を塗布。



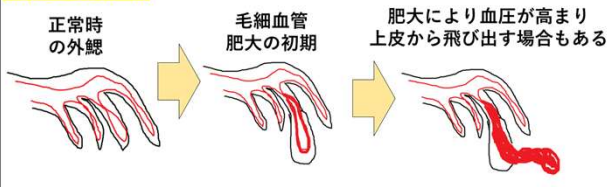
0.2% 汽水浴による傷口の消毒・止血  
ヒトのような体表面への消毒は形成  
されないが、粘液の分泌促進や  
傷口における細菌繁殖の抑制。  
傷口の再生促進等の効果に期待する。  
一定の治療効果は期待できる。

予後の経過・・・良好だが慎重に診ていく  
(血管肥大の緩和→外鰓形状の回復)



(Saito et al., Dev. Biol., 2019) [Fgf- and Bmp-signaling regulate gill regeneration in Ambystoma mexicanum - ScienceDirect](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2019.04.001)

## 【予想モデル図】



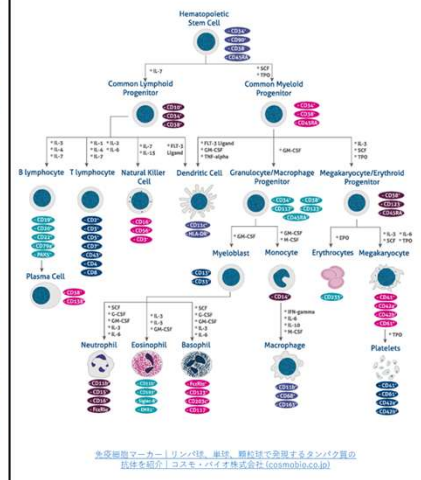
## 最新報告: アホロートルにおける免疫機構の解明

### 【免疫細胞の関連因子一覧】

※ ヒトとアホロートル間の比較

B細胞表面分子		MS4A12, MS4A15
T細胞 マーカー	■ ヘルパーT細胞	MME
		CCR5
	■ NK細胞	CXCR3
		Integrin
		GZMB
白血球   単球マーカー	■ マクロファージ	NCAM1
		Tia1
	■ 樹状細胞	Integrin
白血球   顆粒球マーカー	■ 好塩基球	CLEC4 (g/e/f/m/g)
		TRPM2
	■ 好酸球	ICAM-5
		CD44
	■ 好中球	TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21
		C5aR
その他	■ マスト細胞	CXCR3
		C5aR
	■ 巨核球	MME
		Singlec 1, 9, 11, 15
	■ 赤血球	Integrin
		Tfrc
	■ 骨髄由来免疫抑制細胞	Gp1ba
		Integrin
		HBA1
		Singlec 1, 9, 11, 15
		FLT-1
		ortholog (相同因子)
		related genes (関連因子)

### 参考: ヒトの免疫細胞とそのマーカー



## 最新報告: アホロートルにおける免疫機構の解明

### 炎症・ストレス関連因子

TNFA, HIF1a, NFkB, MAPK, Caspaase, IL (1, 6), HSP90, GATA1

### 抗菌ペプチド (ウシガエル等と相同の因子を確認)

Ccr (Ccr1, 4, 5, 6, 7, 9), Ccl (Ccl3, 5, 19, 25, 28), TLR (TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21)

### 粘膜 (ムチン) 関連因子

Integrin, HSPG, GALNS, Sulf, collagen, THBS, PECAM1, CXCR4, ECM, ArsB, ArsG, Ids

### 血球 (および免疫細胞) マーカー

MS4A12, MS4A15, MME, CCR5, CXCR3, Integrin, GZMB, NCAM1, Tia1, CXCR3, CLEC4, (g/e/f/m/g), TRPM2, ICAM-5, CD44, TLR (TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21), C5aR, CD44, Singlec (Singlec 1, 9, 11, 15), Tfrc, Gp1ba, HBA1, Integrin, FLT-1

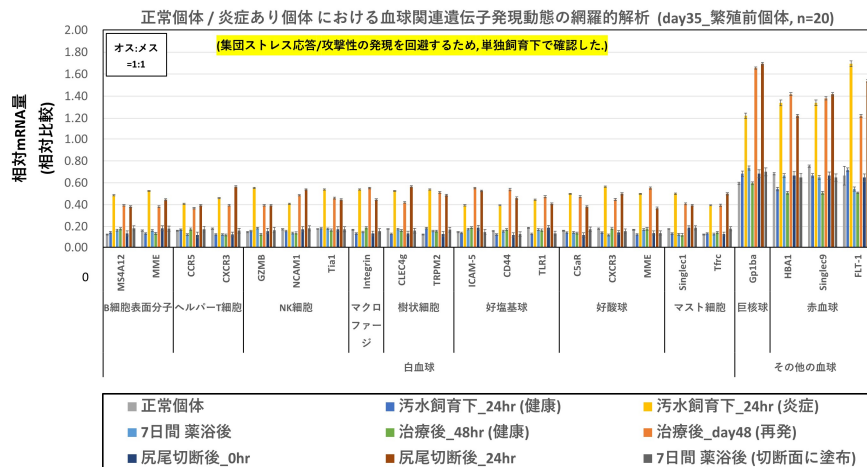
### 再生・発生 関連因子

KDR, PDGFR-α, VEGF-A, Yap, GATA4, FGF-8, GDF5, FGF (FGF2, 21, 23), FGFR, EGF, EGFR, TGF-β2, HGF (Hepatocyte Growth Factor), AKT1, AKT2, CDK4, CDK6

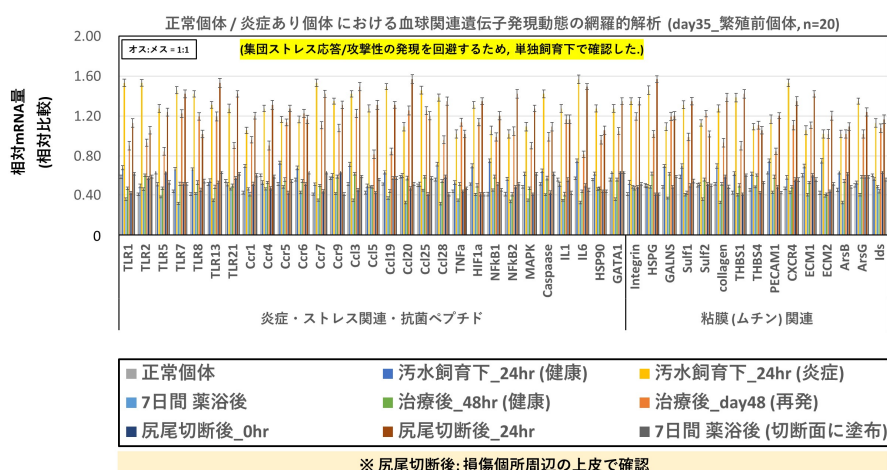




## 最新報告: アホロートルにおける免疫機構の解明



## 最新報告: アホロートルにおける免疫機構の解明



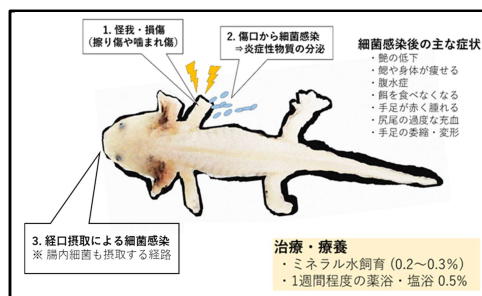
※ 尻尾切断後: 損傷箇所周辺の上皮で確認



## まとめ: アホロートルの疾患と治療について

推奨する  
感染症対応

汽水飼育 + オキシリン酸薬・ポピドンヨード浴  
による感染症治療 & 免疫力の強化



(杉山 ほか, 2022-2023)



## 謝辞

### ご清聴

ありがとうございました！





## 【研究計画①: 有尾両性類種の繁栄と土壌環境・周辺の植生・人間による土地開発の関連性調査】

作成日: 2025 年 3 月 28 日

著者: ○杉山 遥<sup>1</sup>; 横江 誼衡<sup>1,4</sup>, 竜岡 龍騎<sup>3</sup>, 阿保朗 太郎<sup>2</sup>

所属: 1. ハルラボ<sup>※</sup>, 2. ハルラボ・ファーム, 3. トラフサンショウオラボ, 4. サイマンテクノロジー<sup>※※</sup>

※ 代表: 杉山 遥 [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com) ハルラボ X: [@lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)

代表研究者詳細: 研究者ポータルサイト Research map ([https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl?lang=ja](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl?lang=ja))

※※ 代表: 横江 誼衡 サイマンテクノロジーX: <https://x.com/SciMounTech>

会社 HP (<https://scimoun-technology.com/>)

【概要: ラボ～中型スケールのビオトープ作製によるメキシコサラマンダー *Ambystoma mexicanum* の成育環境モデルの構築, 腸内微生物, 古式農法との関連性調査 (可能であれば現地調査も?)】

絶滅危惧種 [ワシントン条約附属書 II (絶滅危惧\_CR)] である *Ambystoma mexicanum* (以下、アホロートル) の原産地, メキシコ・ソチミルコは, ユートリックカンビソル (石灰質堆積岩地帯の丘陵地 等) に出現する土壌で囲まれており, 石灰岩や火山灰を含む土壌が水底にも多く含まれているとされているが, 未解明な点も多い. [文献 1, 6]

ハルラボの過去の調査に基づく知見において, 簡易ビオトープ型のアクアリウム内に, ゼオライト・黒玉土・大磯砂 (+炭酸カルシウム源に牡蠣殻) を等比～1:2:1 の比率で混合し, 一定の硬度の高い水を再現した. 場合によっては 0.1～0.3% 程度の汽水環境を併せることで, よりソチミルコの湖へ近づけた可能性の高い簡易型の小型ビオトープのモデルを構築することができた.

この条件下で, アホロートルを飼育する過程で底砂に自然発生した細菌類を 18SrDNA にて同定した所, ニトロソモナス *N. europaea*, ニトロバクター *N. winogradskyi*, 大腸菌 *E. coli*, 乳酸菌 *L. plantarum*, *S. cerevisiae* 出芽酵母, *S. pombe* 分裂酵母, *S. parastica* 水カビ属 などが含まれることが明らかとなっており, 窒素源を代謝して消費する細菌類や, 生体の腸内で作用できる乳酸菌や大腸菌, 酵母の仲間が良く育つことが分かる. これに加え, 一部の 60cm×30cm×35cm の汎用的なガラス製の飼育水槽環境下では, 硫黄酸化菌の仲間である *Acidithiobacillus thiooxidans* が同定された. この硫黄酸化菌は腸内や排泄物からも確認される場合があり, 硫黄呼吸による成長促進が生じることも分かった. [文献 1, 2]

このように, 簡易的な原産地予想モデルを構築することで, アホロートルが過去に繁栄していた時代における底泥の組成や, 周囲の山林の植生や土壌環境を予測することが可能である. [文献 1, 2, 4, 6, 7]

ソチミルコ周辺ではかつて, 古式農法である“チナンパ (ティナンパ)”が行われており, 農作物の茎を水につけて浮島を作っていた文化があり, 豆類やトマト, トウモロコシ, リュウゼツラン, サルビアなどの花類を栽培していたとされている (一部のチナンパ式栽培法は, 現在に復活). [文献 1, 6]





これらの背景から、ハルラボは 以下 3 点の研究計画を立案した。

- 1). 囲い池や一部の森林を囲ったようなやや大型なビオトープを作製し、温度条件や湿度条件をソチミルコにより近づけることで、より当時の自然環境に近いモデルとし土壌組成や微生物を調査する (1～2 年目).
- 2). メキシコ政府や現地の保護活動団体と連携し、上記で示す現在の土壌に含まれているか否か、現在のソチミルコの湖畔や土壌環境を調査することで、現在の環境汚染の状況を把握する (1 年目から調整し、3 年目までに実現).
- 3). 岡山県固有の両生類における類似コンセプトのビオトープ構築・同調査 (野外調査と同時並行、1 年目から継続して実施予定).

3). の計画は、ハルラボが岡山で研究発表を行った折に存在を知った、岡山県固有種として知られるセトウチサンショウウオ *Hynobius Setouchi* [環境省 RDB カテゴリ：絶滅危惧Ⅱ類 (VU)；[文献 8]] を取り巻く自然環境 (土壌・微生物・植生 等) を調査することで、彼らにとって最適な生息環境について理解を深め、ひいては岡山県の方々の生活と隣合わせにある自然環境を再度見直すことにも繋がることを目指すものである。

## 参考文献

- [1]. 【研究報告】アホロートルにおける 糖代謝と硫黄呼吸に関する調査報告.  
ハルラボ会報誌\_ウーパールーパーだより vol 7.0  
杉山 遥, 竜岡 龍騎, 高橋 慶, 阿保郎 太郎. 2025 年 1 月 4 日.
- [2]. 【研究発表】アホロートルにおける糖代謝と硫黄呼吸. (第 95 回\_日本動物学会\_長崎大会)  
杉山 遥, 竜岡 龍騎, 高橋 慶, 阿保郎(郎) 太郎. 2024 年 9 月 14 日.
- [3]. 【クラウドファンディング】  
ウーパールーパーを守る！メキシコ・ソチミルコ湖の環境改善プロジェクト.  
ハルラボ × CAMPFIRE. 2024 年 4 月 23 日.
- [4]. 【口頭発表】メキシコサンショウウオの生活環 における汽水環境の重要性.  
杉山 遥. 日本動物学会\_第 94 回\_山形大会 (2023)
- [5]. 【研究報告】腸内乳酸菌と神経ペプチド NPY と睡眠・成長.  
杉山 遥. 2023 年 2 月 4 日.
- [6]. 【総説】メキシコサラマンダー および トラフサンショウウオ科の近縁種における生態・生息環境  
に関する調査報告. (ハルラボ会報誌\_ウーパールーパーだより vol 3.0)  
杉山 遥, 枝豆 やみん, 竜岡 龍騎 ほか. 2024 年 1 月 4 日.
- [7]. 【研究報告】土壌成分と生育.  
高橋 慶, 杉山 遥. 2022 年 8 月.
- [8]. セトウチサンショウウオ *Hynobius Setouchi*  
広島大学 > 広島大学デジタルミュージアム > デジタル自然史博物館 > 動物総合ページ  
> 郷土の動物 > 広島県の両生類 > アキサンショウウオ | 広島県の動物図鑑 / 和名順



## 【研究計画②】 メキシコ汽水塩湖再現環境下での耐塩性イネ品種の作出・栽培と評価

作成日: 2025 年 3 月 28 日

著者: ○杉山 遥<sup>1</sup>; 横江 誼衡<sup>1,4</sup>, 竜岡 龍騎<sup>3</sup>, 阿保朗 太郎<sup>2</sup>

所属: 1. ハルラボ※, 2. ハルラボ・ファーム, 3. トラフサンショウオラボ, 4. サイマンテクノロジー※※

※ 代表: 杉山 遥 [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com) ハルラボ X: [@lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)

代表研究者詳細: 研究者ポータルサイト Research map ([https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl?lang=ja](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl?lang=ja))

※※ 代表: 横江 誼衡 サイマンテクノロジーX: <https://x.com/SciMounTech>

会社 HP (<https://scimoun-technology.com/>)

### 【概要】

- ① 汽水環境に適応可能な有尾両性類を飼育させた, メキシコ塩湖環境を模したビオトープ環境下での耐塩性イネ品種の作出・栽培と評価
- ② ラボ～中型スケールのビオトープ作製によるメキシコサラマンダー *Ambystoma mexicanum* の成育環境モデル (汽水環境) の構築, 耐塩品種のイネと共生可能な環境から見出される栽培方法と新規品種の評価

我々は, 絶滅危惧種 [ワシントン条約附属書 II (絶滅危惧\_CR)] である *Ambystoma mexicanum* (以下、アホロートル) の環境保全活動による調査活動を行ってきた。[文献 1-7]

原産地, メキシコ・ソチミルコは, ユートリックカンビソル (石灰質堆積岩地帯の丘陵地 等) に出現する土壌で囲まれており, 石灰岩や火山灰を含む土壌が水底にも多く含まれているとされているが, 未解明な点も多い。[文献 1, 6]

アホロートルはその免疫力の低さから, 現在の観光地となったソチミルコ湖の汚水下ではその数を急激に減少させている。かつてのソチミルコでは, 塩湖と淡水湖が雨天時の氾濫などによって混合され, 汽水環境になることで, 抗菌ペプチドや粘膜に依存する免疫力を補っていることが推察される。実際に, 飼育下の個体においては, 汽水飼育環境下において微生物に対して有効な粘膜ムチンの分泌量を促進させ, 汽水環境自体も微生物 (特に真菌類, カビの仲間) の活動・増殖を大きく抑制させるという結果が, 18SrDNA による底砂や飼育水中に含まれる微生物の相対比によって得られている。[文献 4, 6]

ハルラボにおける過去の調査に基づく知見において, 簡易ビオトープ型のアクアリウム内に, ゼオライト・黒玉土・大磯砂 (+炭酸カルシウム源に牡蠣殻) を等比～1:2:1 の比率で混合し, 一定の硬度の高い水を再現した。場合によっては 0.1～0.3% 程度の汽水環境を併せることで, よりソチミルコの湖へ近づけた可能性の高い簡易型の小型ビオトープのモデルを構築することができた。[文献 4, 6]

このようなメキシコの水環境においても稲作は実施されており, 耐硬水性・耐汽水性を持つ品種が生育しやすいことが推察されるが, メキシコの水環境の悪化 (地下水由来の硬度上昇) などが課題となり, 今後アホロートルと同様に稲作が困難となる状況を迎える可能性がある。[文献 6, 9, 10] ソチミルコ周辺ではかつて, 古式農法である“チナンパ (ティナンパ)”が行われており, 農作物の茎を水につけて浮島を作っていた文化があり, 豆類やトマト, トウモロコシ, リュウゼツラン, サルビアなどの花類を栽培していたとされている (一部のチナンパ式栽培法は, 現在に復活)。[文献 1, 6]

これらの背景や知見から我々は、以下の3つの研究計画を提案する。

- 1). 囲い池や一部の森林を囲ったようなやや大型な硬水・汽水性のビオトープを作製し、耐硬水性・耐塩性イネの品種を共生させることで、耐塩性イネを栽培・評価する新たなモデルとして確立する。(1～2年目)。
- 2). イネが共存できるビオトープ環境におけるチナンバ式農法の検討と、共存するアホロートルや底泥に棲む微生物(窒素同化細菌や硫黄細菌、酵母、乳酸菌など)の調査(1～2年目)。
- 3). メキシコにおける稲作を促進させる品種の探索。汽水ビオトープ環境で飼育し適応できるイネにおいて発現上昇が見られる因子のスクリーニングによる同定。イネ変異体の作成。メキシコ現地と連携した、現地の水環境における栽培検討等(1年目から同時並行して実施予定、1年毎に段階的な達成を目指す)。

3). の計画は、水環境の悪い土壌においても十分に育つイネを作出することに加え、それらを栽培するための最適な環境を見出すものである。

この過程で、ある程度改善させた土壌環境の影響を受けたフルボ酸・フミン酸など多くの植物由来の成分が湖畔の底泥や周辺土壌に蓄積し、土壌を育てる上で有用な微生物達が繁栄していくことで、これまで絶滅危惧種であった野生下のアホロートル個体数が増加することも期待される。





## 【参考文献】

- [1]. 【研究報告】アホロートルにおける 糖代謝と硫黄呼吸に関する調査報告.  
ハルラボ会報誌\_ウーパールーパーだより vol 7.0  
杉山 遥, 竜岡 龍騎, 高橋 慶, 阿保郎 太郎. 2025 年 1 月 4 日.
- [2]. 【研究発表】アホロートルにおける糖代謝と硫黄呼吸. (第 95 回\_日本動物学会\_長崎大会)  
杉山 遥, 竜岡 龍騎, 高橋 慶, 阿保朗(郎) 太郎. 2024 年 9 月 14 日.
- [3]. 【クラウドファンディング】  
ウーパールーパーを守る！メキシコ・ソチミルコ湖の環境改善プロジェクト.  
ハルラボ × CAMPFIRE. 2024 年 4 月 23 日.
- [4]. 【口頭発表】メキシコサンショウウオの生活環 における汽水環境の重要性.  
杉山 遥. 日本動物学会\_第 94 回\_山形大会 (2023)
- [5]. 【研究報告】腸内乳酸菌と神経ペプチド NPY と睡眠・成長.  
杉山 遥. 2023 年 2 月 4 日.
- [6]. 【総説】メキシコサラマンダー および トラフサンショウウオ科の近縁種における生態・生息環境  
に関する調査報告. (ハルラボ会報誌\_ウーパールーパーだより vol 3.0)  
杉山 遥, 枝豆 やみん, 竜岡 龍騎 ほか. 2024 年 1 月 4 日.
- [7]. 【研究報告】土壌成分と生育.  
高橋 慶, 杉山 遥. 2022 年 8 月.
- [8]. メキシコ・モレロス州の稲作の現状と問題点  
農業総合研究所 明石 光一郎  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/arfe1965/29/Supplement2/29\\_Supplement2\\_59/pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/arfe1965/29/Supplement2/29_Supplement2_59/pdf/-char/ja)
- [9]. 大学の世界展開力強化事業  
中南米の農業 メキシコの農業  
<https://www.nodai.ac.jp/tenkai/ja/agriculture/mexico.html>



# 2025 年度 中国四国地区 生物系三学会 合同大会 愛媛大会 発表要旨様式

## アホロートルにおける睡眠と成長制御

### Sleep and Growth Regulation in Axolotl, *Ambystoma mexicanum*

○杉山 遥 (ハルラボ); 横江 誼衡 (東京大, サイマンテクノロジー, ハルラボ), 萩原和晃 (ハルラボ), 高橋 慶 (ハルラボ), F.N. 三太子 (ハルラボ), 竜岡 龍騎 (トラフサンショウウオラボ), 枝豆 やみん (ハルラボ), あすみ悠 (ハルラボ), 阿保 朗太郎 (ハルラボファーム)

Haruka Sugiyama, Yoshichika Yokoe, Kazuaki Hagiwara, Kei Takahashi, F.N. Santako, Ryuki Tatsuoka, Yalmin Edamame, Yu Asumi, Taro Axolotl

メキシコを原産地とするメキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*, 以下、アホロートル) は、一般的に夜行性であると言われており、暗所を好むとされている。

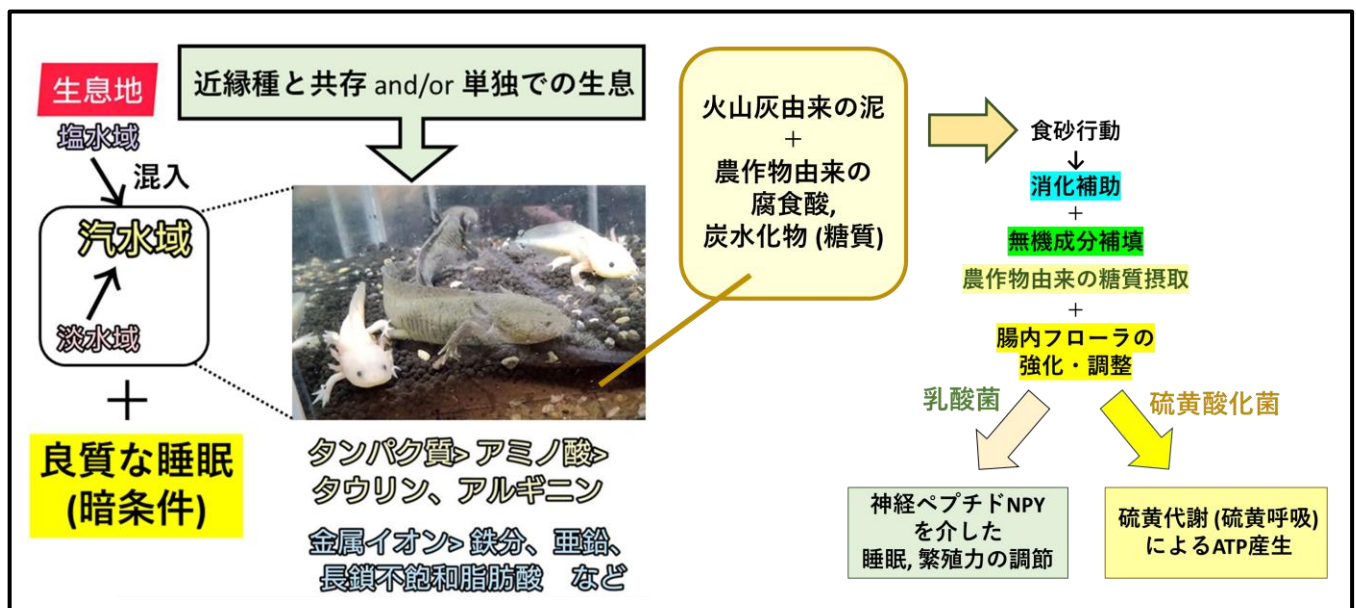
しかしながら、我々がリアルタイムの行動解析および時計遺伝子群の発現動態から、彼らの日周活動リズムについて確認した結果、点灯開始の午前 6 時と消灯開始の午後 6 時、すなわち自然下では薄明るい時間帯に最も活動することが明らかとなった。

また、彼らはメラトニン受容体を中枢や上皮で発現しており、活動の低下 (i.e. 睡眠) や体色の制御による擬態を行うことも分かった (杉山, 2022)。これに加え、アホロートルの腸内細菌叢や神経ペプチド Y (NPY: *Drosophila* の睡眠に関わる NPF の相同因子) について調査を行った。

その結果、NPY および特異的受容体 NPYR は夜間に中枢、末梢で共に発現が増大し、それに併せて、末梢におけるインスリンおよび特異的受容体や、筋肉における糖質コルチコイドの発現の増大が見られた (杉山, 2023)。

彼らは、腸内細菌を食砂行動によって底砂から摂取・補充し、腸内細菌叢を最適化することで、NPY を介した睡眠による成長促進効果を最大化することが示唆された。

本発表では、アホロートルの睡眠と成長制御に関する一連の知見について示す。



## メキシコサラマンダーを救うために

To save the Mexican Salamander

○横江 諒 (東京大, サイマンテクノロジー, ハルラボ); 杉山 遥 (ハルラボ), 萩原和晃 (ハルラボ), F.N. 三太子 (ハルラボ), 竜岡龍騎 (トラフサンショウウオラボ), 枝豆やみん (ハルラボ), あすみ悠 (ハルラボ), 阿保朗太郎 (ハルラボファーム)

Haruka Sugiyama, Yoshichika Yokoe, Kazuaki Hagiwara, F.N. Santako, Ryuki Tatsuoka, Ya!min Edamame, Yu Asumi, Taro Axolotl:

メキシコを原産地とするメキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*, 以下、アホロートル) は、世界中で飼育され、“ウーパールーパー” という名前で愛玩動物として人々の間で広く親しまれている。一方で、野生個体の数は現在激減し、絶滅の危機に瀕している。

これは、アホロートルを取り巻く環境や水質悪化などが主な原因とされているが、アホロートルは飼育下の個体であっても免疫が脆弱であることが知られている。(参照: Ching et al., 1967 & Cohen et al., 1994) アホロートルにとって最適な成育環境を考える上で感染症や免疫機構は非常に重要となってくる。

アホロートルは、特に真菌類や耐塩性細菌等からの影響を受けやすく、対処が遅れることで早ければ数週間の間に亡くなってしまう可能性があることが明らかとなっている。  
(第 46-47 回日本分子生物学会年会 (2023-24) にて報告)

本発表では、これまでの活動における症例とそれらの原因となる微生物について、その感染機序と判別するための炎症性マーカー、感染を防止する生体防御機構 (ex. 抗菌ペプチド) 等の中から、明らかになった知見について報告する。

これにより、野生種の適切な保全や飼育個体の健康管理に関する更なる手がかりとなることを切に望む。

### 炎症・ストレス関連因子

TNF $\alpha$ , HIF1 $\alpha$ , NF $\kappa$ B, MAPK, Caspase, IL (1, 6), HSP90, GATA1

### 抗菌ペプチド

Ccr (Ccr1, 4, 5, 6, 7, 9), Ccl (Ccl3, 5, 19, 25, 28), TLR (TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21)

### 粘膜 (ムチン) 関連因子

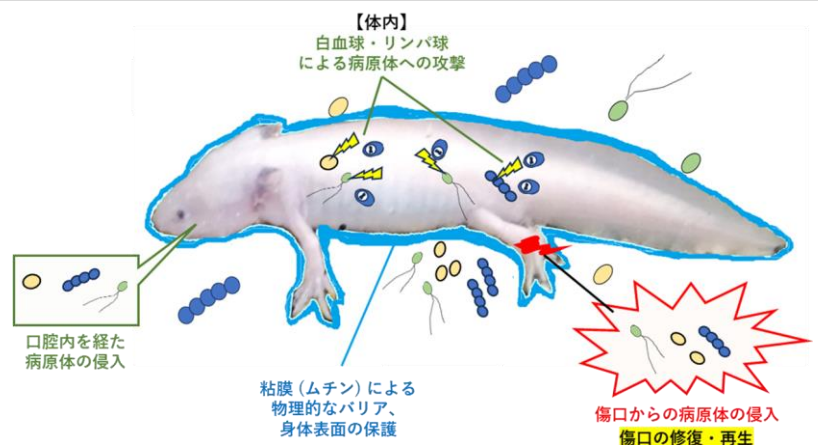
Integrin, HSPG, GALNS, Sulf, collagen, THBS, PECAM1, CXCR4, ECM, ArsB, ArsG, Ids

### 血球 (および免疫細胞) マーカー

MS4A12, MS4A15, MME, CCR5, CXCR3, Integrin, GZMB, NCAM1, Tia1, CXCR3, CLEC4, (g/e/f/m/g), TRPM2, ICAM-5, CD44, TLR (TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21), C5aR, CD44, Siglec (Siglec1, 9, 11, 15), Tfrc, Gp1ba, HBA1, Integrin, FLT-1

### 再生・発生 関連因子

KDR, PDGFR- $\alpha$ , VEGF-A, Yap, GATA4, FGF-8, GDF5, FGF (FGF2, 21, 23), FGFR, EGF, EGFR, TGF- $\beta$ 2, HGF (Hepatocyte Growth Factor), AKT1, AKT2, CDK4, CDK6



健康な状態の生体の場合、その周囲に雑菌や濾過バクテリアは存在しているものの、生体の粘膜や免疫応答で十分対応可能な範囲であり、この状態を安定して保持できれば長期間安定的に生体を維持することが可能となる。





## アホロートルにおける睡眠と成長制御

### Sleep and Growth Regulation in Axolotl, *Ambystoma mexicanum*

○杉山 遥 (ハルラボ); 横江 誼衡 (東京大, サイマンテクノロジー, ハルラボ), 萩原和晃 (ハルラボ), 高橋 慶 (ハルラボ), F.N. 三太子 (ハルラボ), 竜岡龍騎 (トラフサンショウウオラボ), 枝豆やみん (ハルラボ), あすみ悠 (ハルラボ), 阿保朗太郎 (ハルラボファーム)

Haruka Sugiyama, Yoshichika Yokoe, Kazuaki Hagiwara, Kei Takahashi, F.N. Santako, Ryuki Tatsuoka, Yalmin Edamame, Yu Asumi, Taro Axolotl

メキシコを原産地とするメキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*, 以下、アホロートル) は、一般的に夜行性であると言われており、暗所を好むとされている。

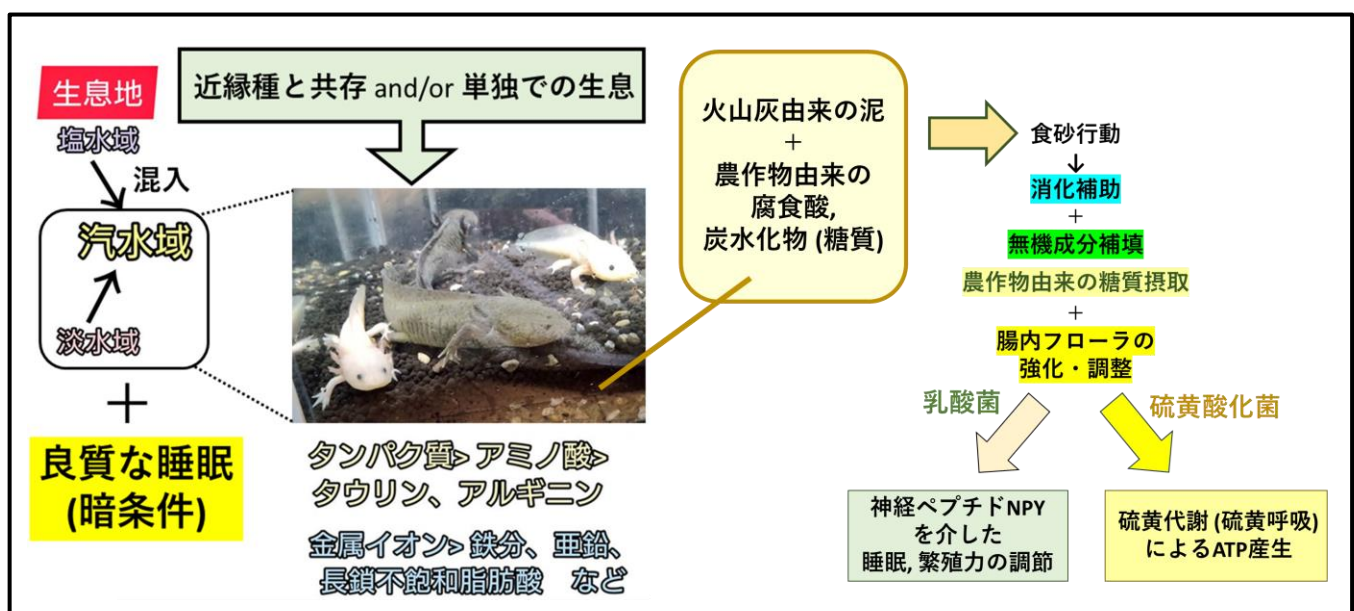
しかしながら、我々がリアルタイムの行動解析および時計遺伝子群の発現動態から、彼らの日周活動リズムについて確認した結果、点灯開始の午前6時と消灯開始の午後6時、すなわち自然下では薄明るい時間帯に最も活動することが明らかとなった。

また、彼らはメラトニン受容体を中枢や上皮で発現しており、活動の低下 (i.e. 睡眠) や体色の制御による擬態を行うことも分かった (杉山, 2022)。これに加え、アホロートルの腸内細菌叢や神経ペプチド Y (NPY: *Drosophila* の睡眠に関わる NPF の相同因子) について調査を行った。

その結果、NPY および特異的受容体 NPYR は夜間に中枢、末梢で共に発現が増大し、それに併せて、末梢におけるインスリンおよび特異的受容体や、筋肉における糖質コルチコイドの発現の増大が見られた (杉山, 2023)。

彼らは、腸内細菌を食砂行動によって底砂から摂取・補充し、腸内細菌叢を最適化することで、NPY を介した睡眠による成長促進効果を最大化することが示唆された。

本発表では、アホロートルの睡眠と成長制御に関する一連の知見について示す。



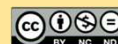
ハルラボ・アホロートル研究まとめ in 2025  
 ～アホロートルにおける睡眠と成長制御～



2025/5/9

杉山 遥

ハルラボ\_\_HAL\_Lab\_Axolotl



メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*)  
 の国内流通個体です (一部、他種と混血の説あり)

原産地: メキシコ (ソチミルコ湖)

最大体長: 20～25cm

幼形成熟 (ネオテニー) の形態を取れる

寿命は20年以上 (変態・上陸すると10年程度に。。。)

強み: 少々の水質変化はへっちゃら

弱点: 細菌感染, カビ (免疫反応がアフリカツメガエルの半分以下)

※ 現在は絶滅の危機 (原因: 都市開発や埋め立てによる生息地減少)



(FN.三太子; 杉山 遥, 2023)

## NPO: ウーパールーパー研究室・はるらぼ

2020年より、正式に HAL Lab として本格的に研究活動を開始。

**はるらぼ活動紹介ページ！**  
 NPO 研究グループ HAL\_Lab\_Axolotl  
 2020年より、正式に HAL Lab として  
 本格的に研究活動を開始。

ご支援のお願い  
 はるらぼに贈ける思い！  
 (詳細は左ウバをクリック)

What is  
 はるらぼ？

メンバー  
 紹介

ウバ飼育  
 レスキュー

ウバルバ  
 ギャラリー

日子ウバ  
 飼育日記！

はるらぼ情報  
 発表論文など

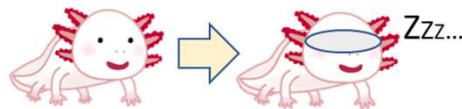
[https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)

ウーパールーパーって、  
 可愛いですよね☆




## 次の課題・・・両生類の睡眠

### 疑問1

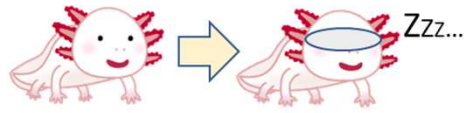


アホロートル(ウーパールーパー)  
 って寝るの？



## 次の課題・・・両生類の睡眠

### 疑問1



アホロートル(ウーパールーパー)  
って寝るの？

### 疑問2



アホロートル(ウーパールーパー)  
っていつ起きてるの？  
昼行性？ それとも 夜行性？

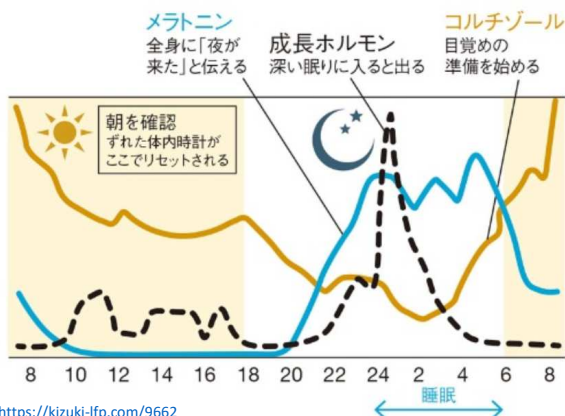


### 良質な睡眠

### “寝る子は育つ”



良質な睡眠は成長にとって必要不可欠である。



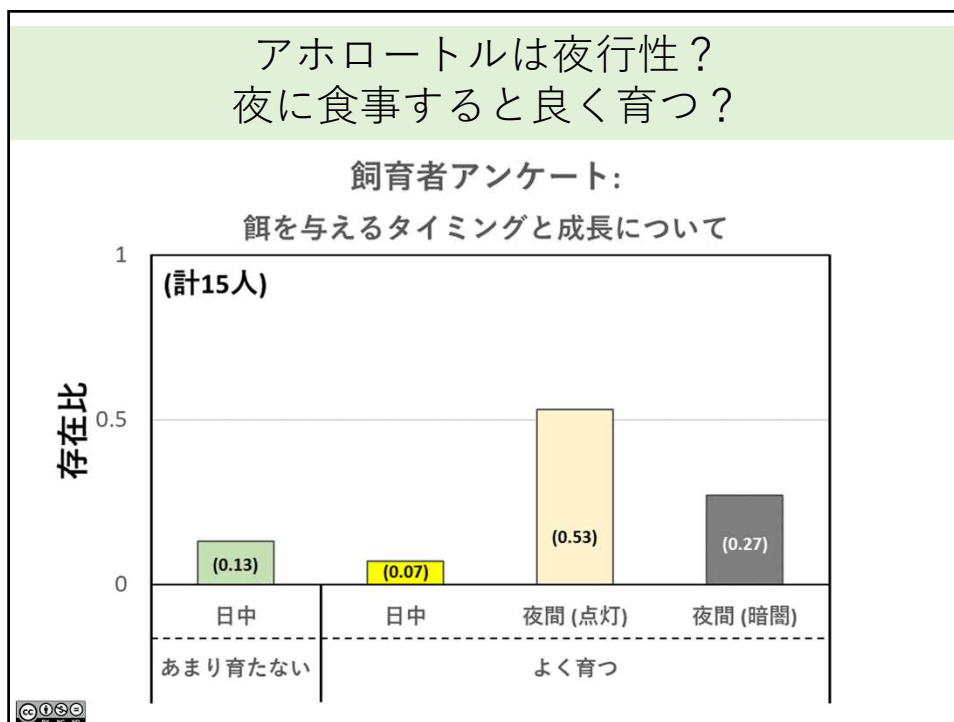
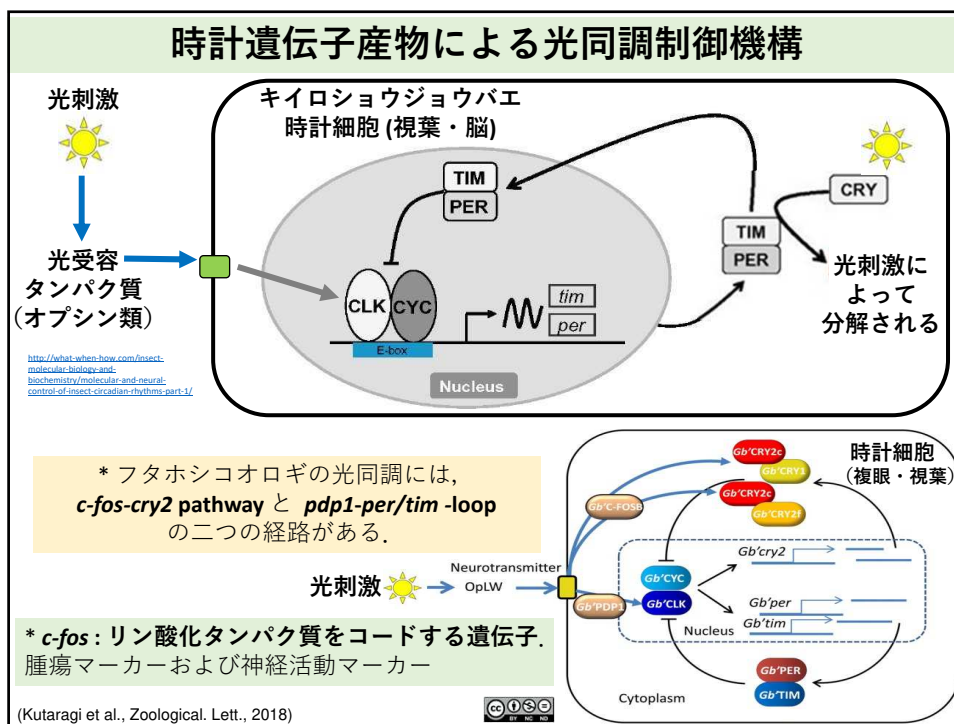
良質な体内時計の  
リズム

↓  
良質な睡眠

↓  
成長ホルモン (GF)

↓  
成長促進

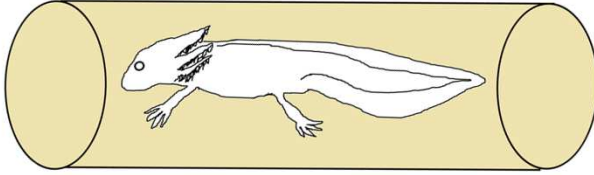






## 暗闇: 疑似的睡眠の状態の再現

光を忌避する性質

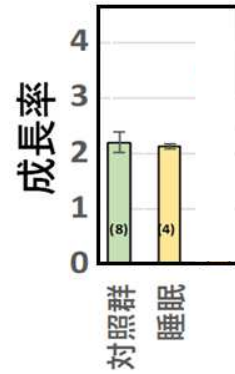


終日暗幕

→ 疑似的な夜間 (睡眠) 状態を再現



120日間における  
成長率



## <睡眠導入因子メラトニンと体色変化>

血中のメラトニン濃度上昇  
(トリガーは生物毎に異なる)



メラニン細胞中 (メラノサイト) の黒色色素胞が収縮

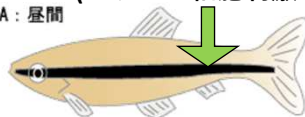


体色の薄化

MSH

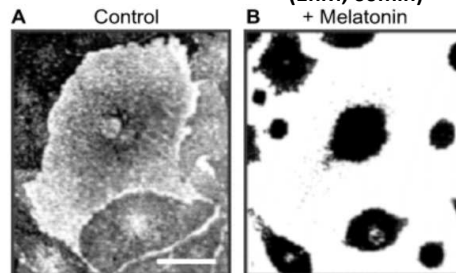
(メラニン細胞刺激ホルモン)

A: 昼間



アフリカツメガエルの体色変化

(1nM, 60min)



<https://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/fish/soho/change3.html>



(David et.al., 2004)

### <睡眠導入因子メラトニンと体色変化>

血中のメラトニン濃度上昇  
(トリガーは生物毎に異なる)



メラニン細胞中 (メラノサイト) の黒色色素胞が収縮



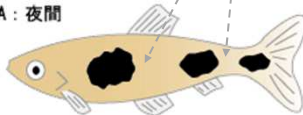
体色の薄化

メラトニン

MSH

(メラニン細胞刺激ホルモン)

A: 夜間

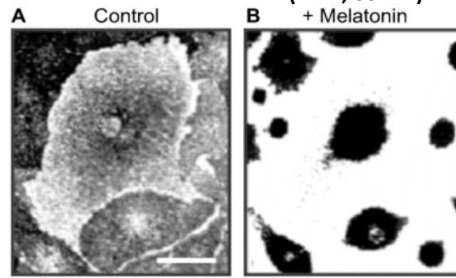


<https://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/fish/soho/change3.htm>

アフリカツメガエルの体色変化

(1nM, 60min)

+ Melatonin



(David et.al., 2004)

### <睡眠導入因子メラトニンと体色変化>

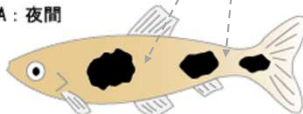
アホロートルは、  
メラトニンを投与された場合、  
それに応答して  
活動量の低下や体色変化を示すのか？

メラトニン

MSH

(メラニン細胞刺激ホルモン)

A: 夜間

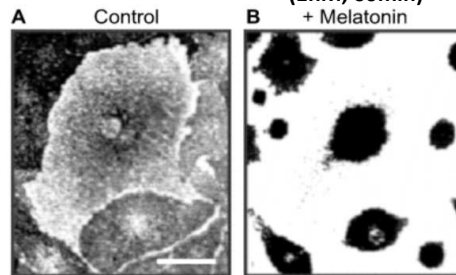


<https://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/fish/soho/change3.htm>

アフリカツメガエルの体色変化

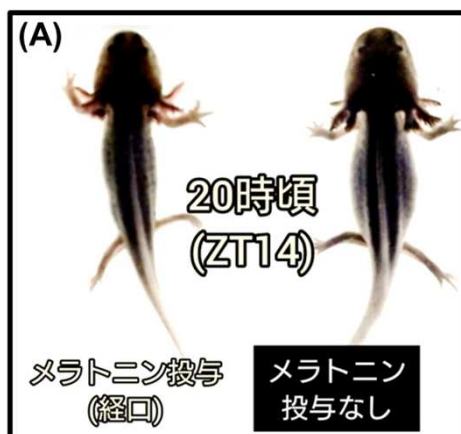
(1nM, 60min)

+ Melatonin



(David et.al., 2004)

アホロートルは  
睡眠導入因子メラトニンに応答する

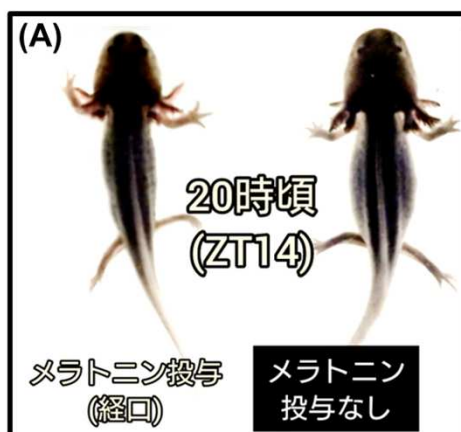


\* 2-3mg 程度を経口摂取させた.



摂取量の参照 <http://www.myojin-kan.jp/meratonin/>

アホロートルは  
睡眠導入因子メラトニンに応答する



\* 2-3mg 程度を経口摂取させた.



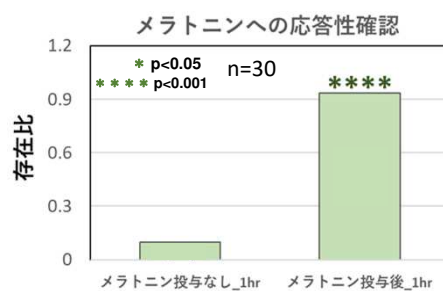
摂取量の参照 <http://www.myojin-kan.jp/meratonin/>



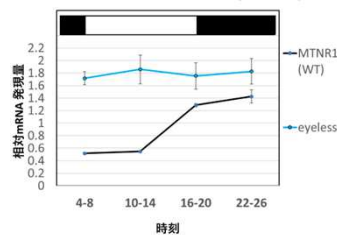
## アホロートルは 睡眠導入因子メラトニンに応答する



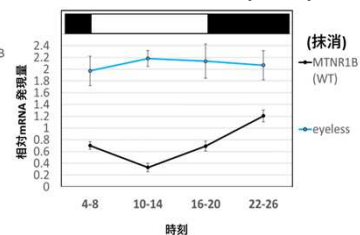
## アホロートルは 睡眠導入因子メラトニンに応答する



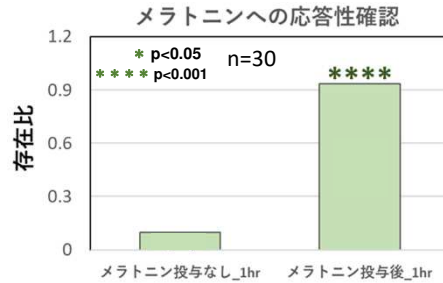
### メラトニン受容体 (中枢)



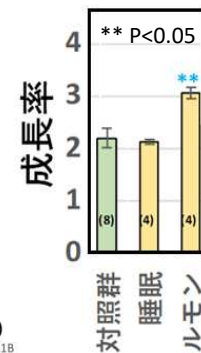
### メラトニン受容体 (末梢)



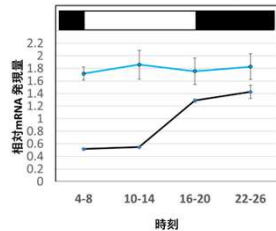
## アホロートルは 睡眠導入因子メラトニンに応答する



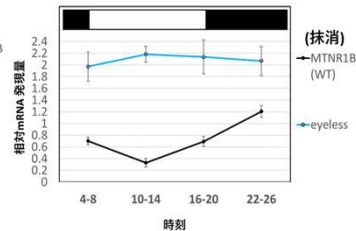
### 120日間における 成長率



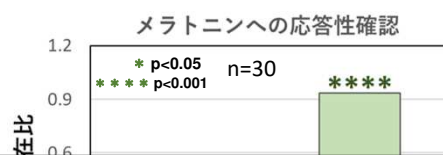
### メラトニン受容体 (中枢)



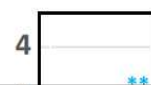
### メラトニン受容体 (末梢)



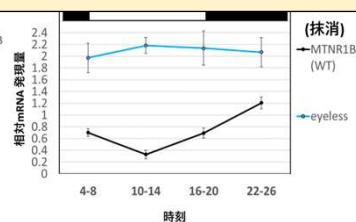
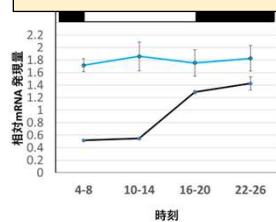
## アホロートルは 睡眠導入因子メラトニンに応答する



### 120日間における 成長率

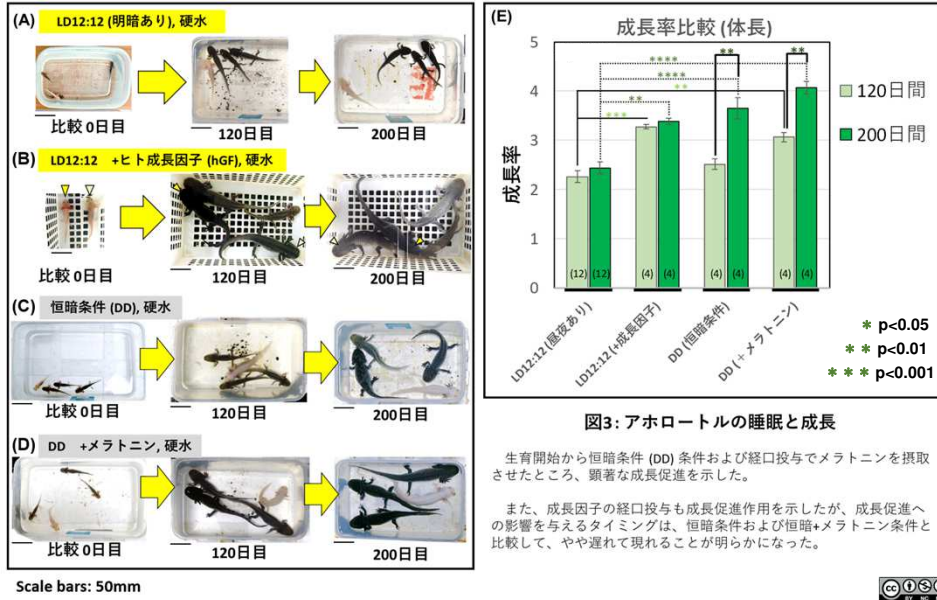


**考察: 暗条件下 (夜間)**  
メラトニン分泌 → 成長促進



睡眠 + 睡眠ホルモン

## 睡眠と成長の関係性



## 睡眠と成長の関係性





## アホロートル睡眠の調査

両生類って寝ているの？



睡眠導入因子(メラトニン)への  
応答性を調査



## アホロートル睡眠の調査

両生類って寝ているの？



睡眠導入因子(メラトニン)への  
応答性を調査



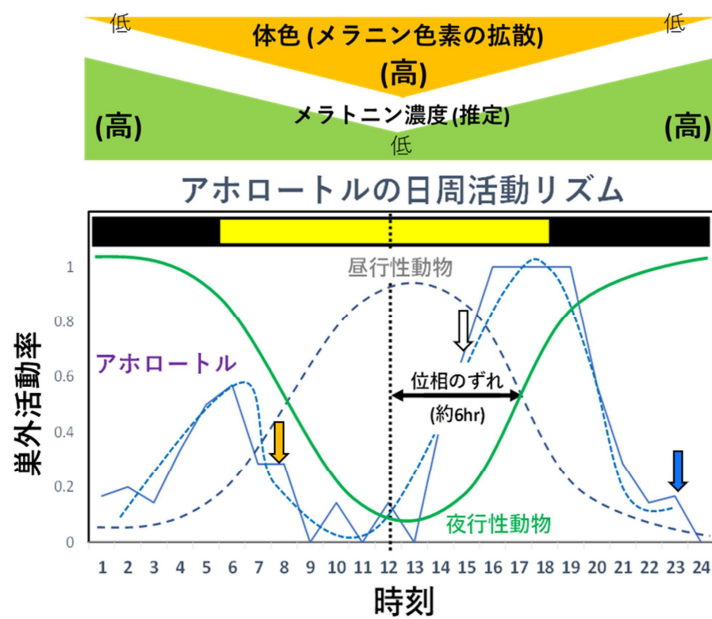
**メラトニン分泌・活動リズムの調査**



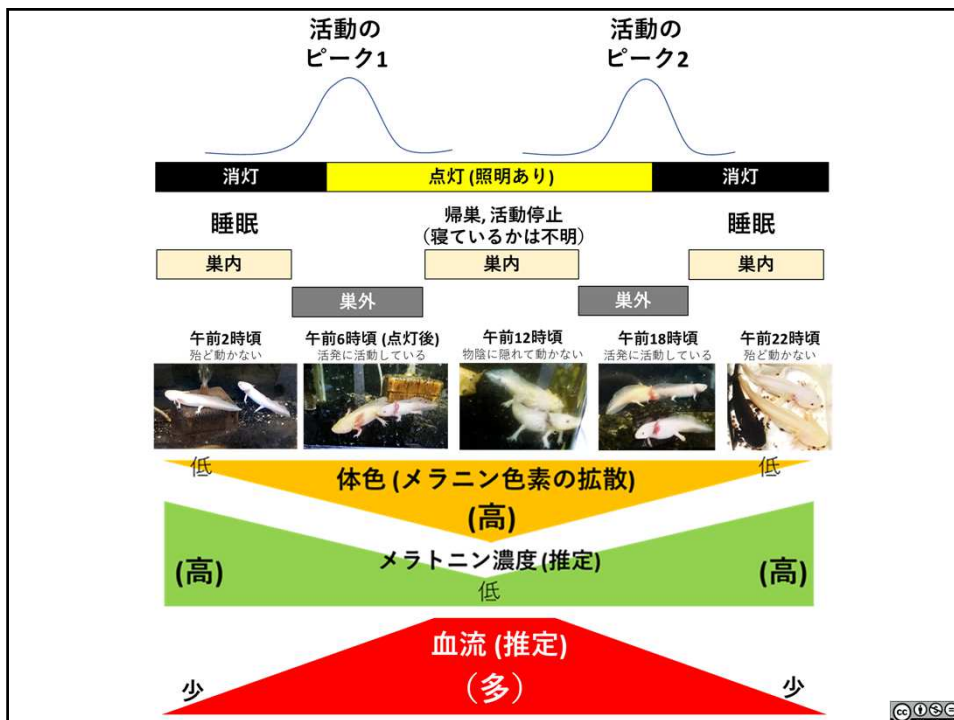
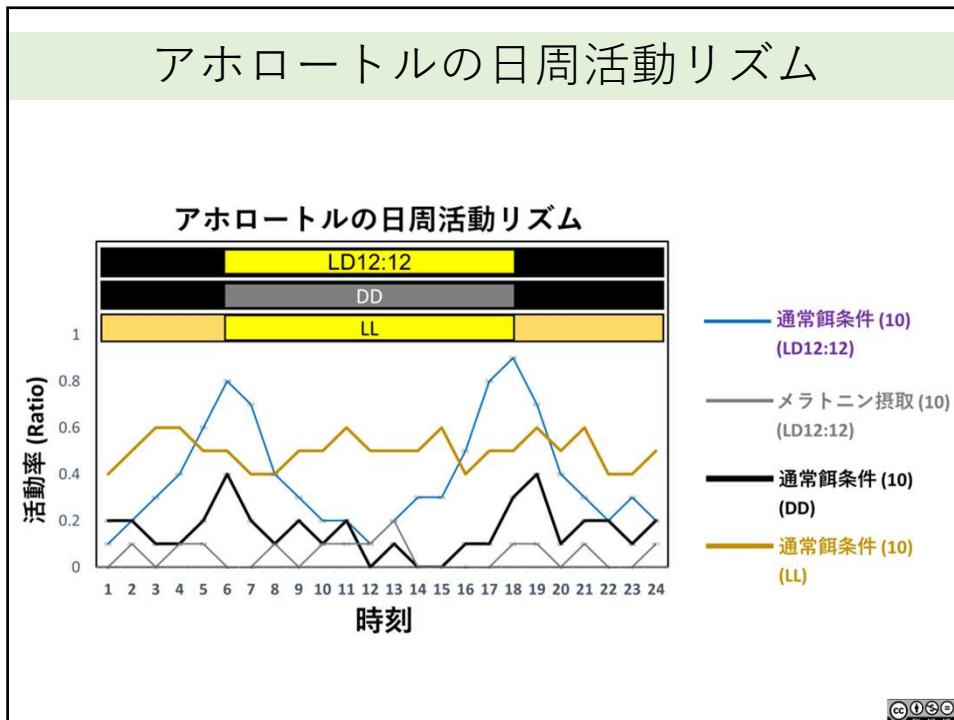
## アホロートル体色変化リズム

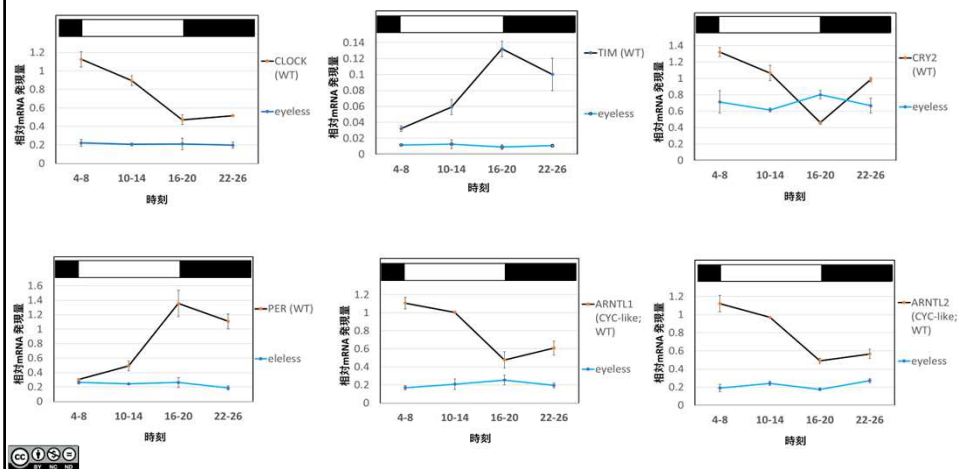


## アホロートルの日周活動リズム



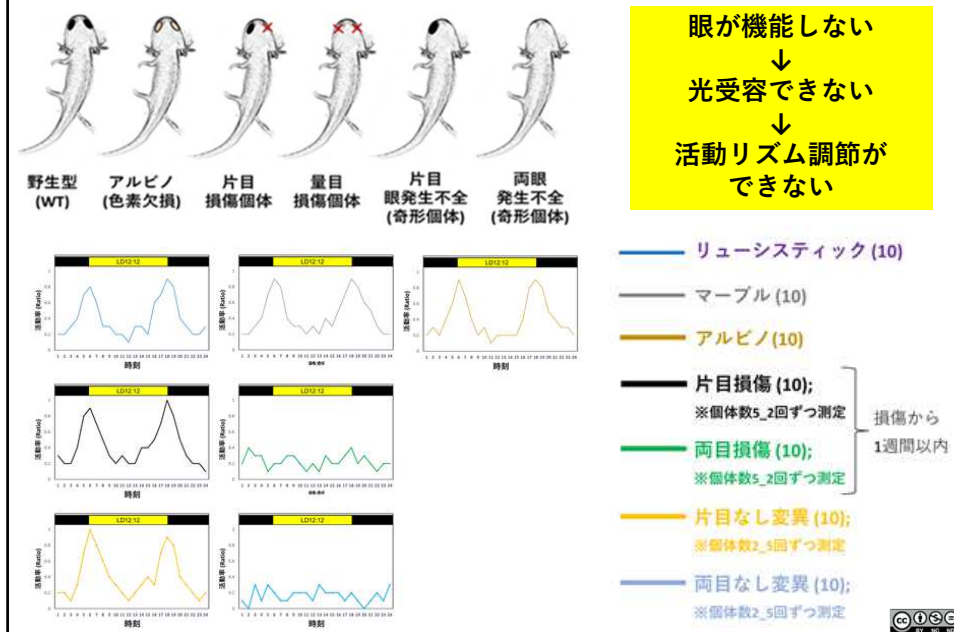
## アホロートルの日周活動リズム





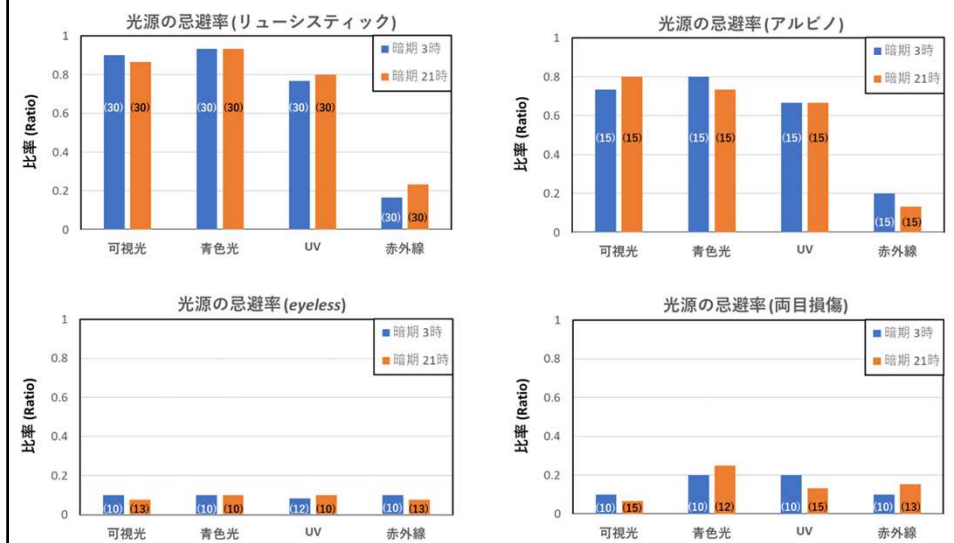


## アホロートルにおける光受容と活動リズム調節



## アホロートルの光受容と色分解能

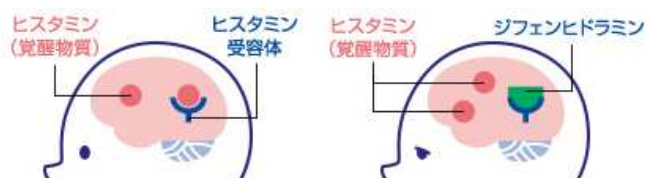
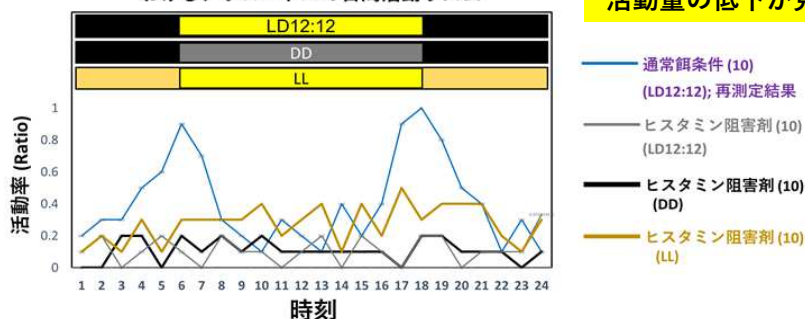
光受容タンパク質 OPN3 (青色光受容), OPN5 (紫外線受容) の発現あり。  
⇒ 実際に、青色光とUV に対する反応性を示した。



## 強制的に睡眠を促進させた場合

ヒスタミン阻害剤投与 (睡眠促進) 時に  
おけるアホートルの日周活動リズム

メラトニン摂取時と同様の  
活動量の低下が見られた。



※ ヒスタミン拮抗阻害剤: ジフェンヒドラミン

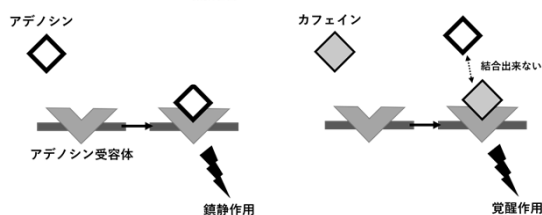
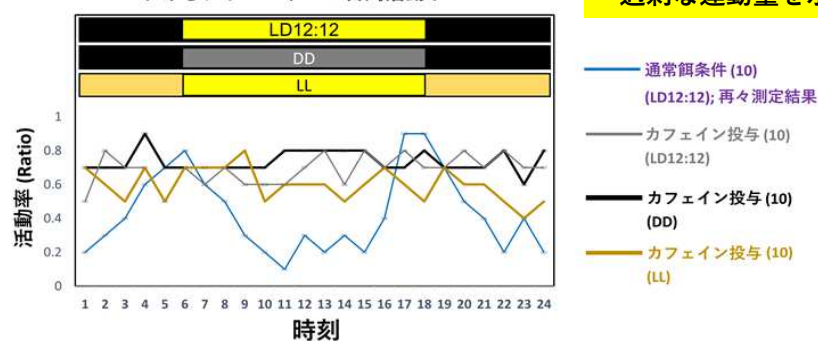
<https://www.ssp.co.jp/drewell/products/efficacy.html>



## 強制的に覚醒させた場合

カフェイン投与 (覚醒促進) 時に  
おけるアホートルの日周活動リズム

活動リズムが消失し、  
過剰な運動量を示した。



[https://www.dnszone.jp/nutrition\\_guide/6-4](https://www.dnszone.jp/nutrition_guide/6-4)



## 総括1

- アホロートルには時計遺伝子やメラトニン受容体の発現が見られる。
- アホロートルはメラトニンへの応答性を示し、体色を薄化させる。
- ウーパールーパーの活動リズムは、夜明けと日暮れ、すなわち薄暗いタイミングにピークを迎える。
- メラトニンを摂取した個体の活動量は低下する。



## 総括1

- アホロートルには時計遺伝子やメラトニン受容体の発現が見られる。
- アホロートルはメラトニンへの応答性を示し、体色を薄化させる。
- ウーパールーパーの活動リズムは、夜明けと日暮れ、すなわち薄暗いタイミングにピークを迎える。
- メラトニンを摂取した個体の活動量は低下する。

**アホロートルは睡眠を摂っている可能性がある！**



## 総括1

- アホロートルには時計遺伝子やメラトニン受容体の発現が見られる。
- アホロートルはメラトニンへの応答性を示し、体色を薄化させる。
- ウーパールーパーの活動リズムは、夜明けと日暮れ、すなわち薄暗いタイミングにピークを迎える。
- メラトニンを摂取した個体の活動量は低下する。

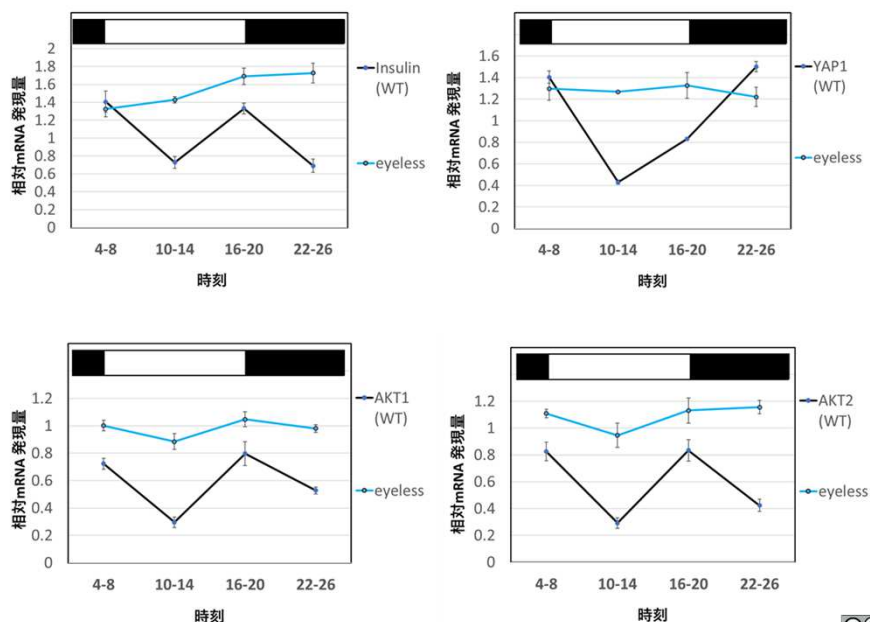
**アホロートルは睡眠を摂っている可能性がある！**



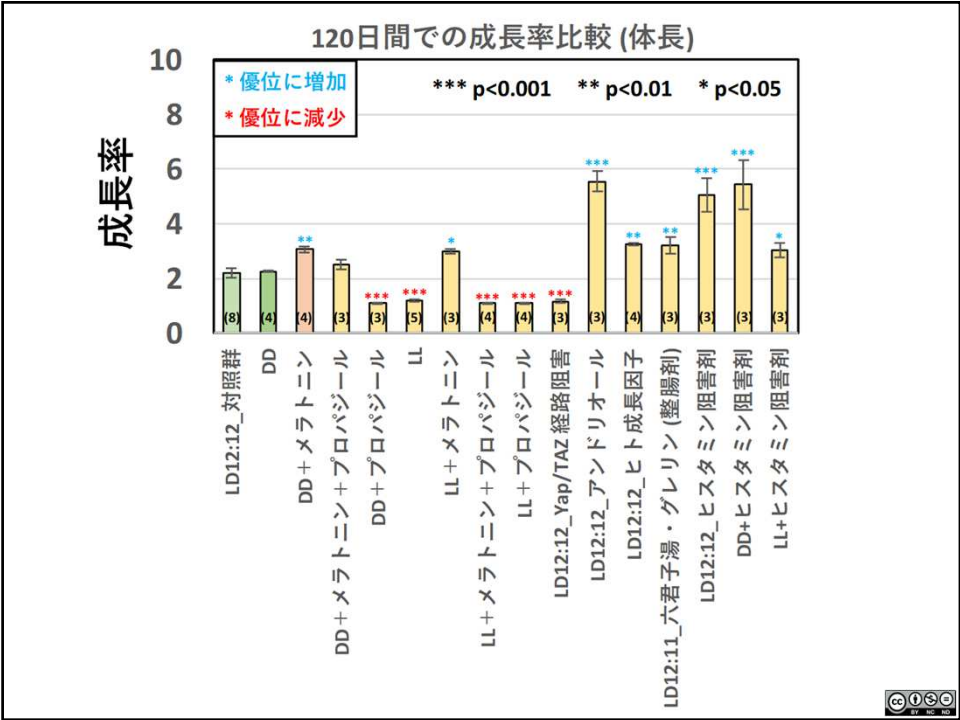
**睡眠を摂ることは分かったが、  
結局、睡眠を摂る意義は？**



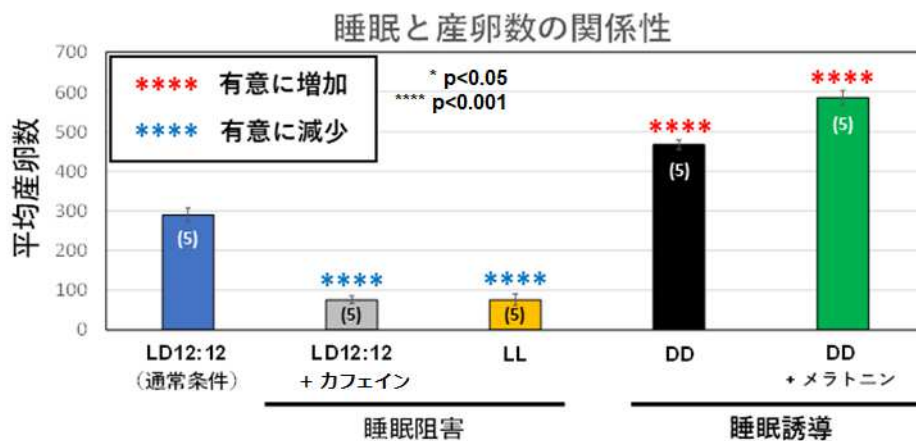
## 末梢における栄養制御関連因子の発現動態







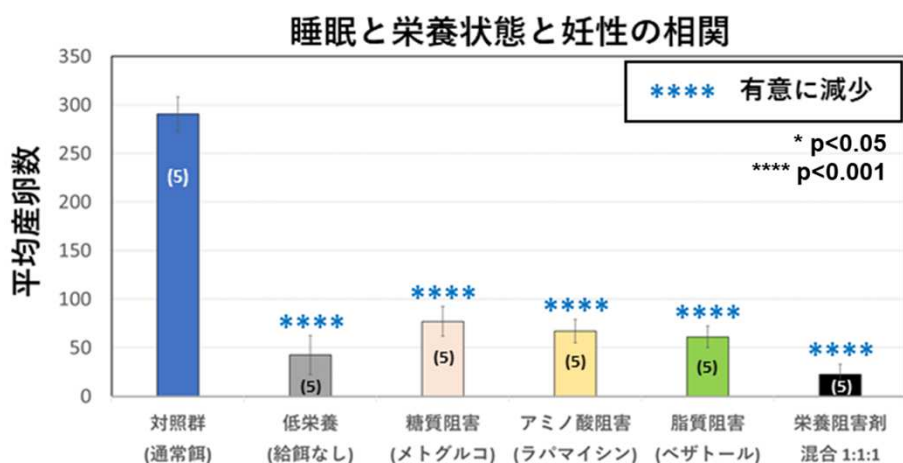
## 睡眠と成長・妊性



産卵数 (低温処理から1ヶ月間処置を行い, 経過観察した.)  
 単独飼育 (day360\_アダルト5ペアずつ)



## 睡眠と成長・妊性



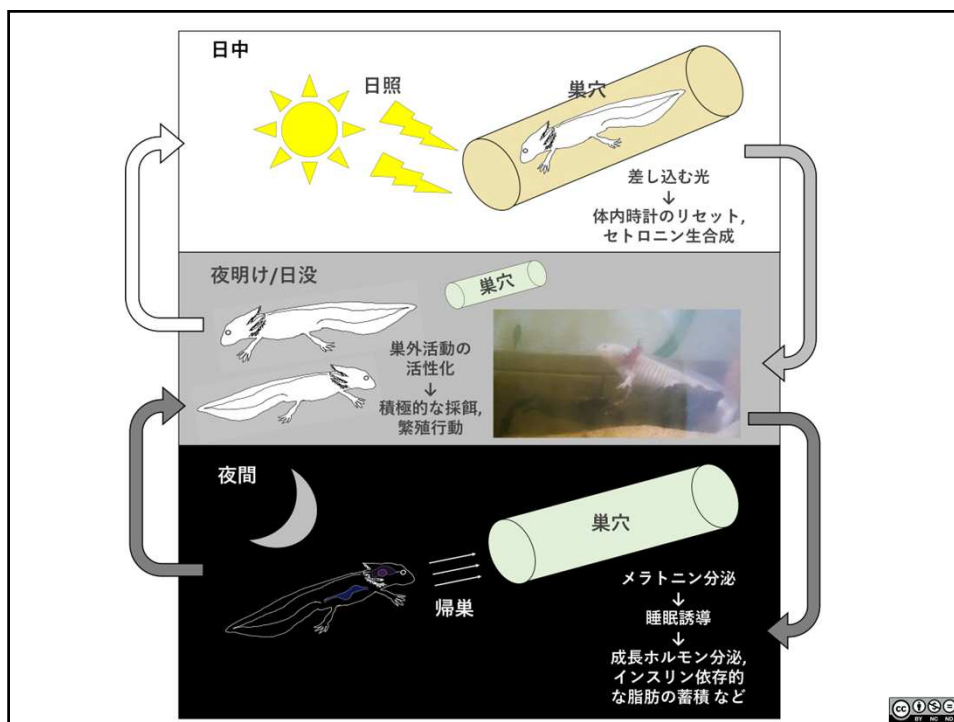
産卵数 (低温処理から1ヶ月間処置を行い, 経過観察した.)  
 単独飼育 (day360\_アダルト5ペアずつ)



## 総括2

### アホロートルにおける睡眠の意義とは？

- アホロートルは活動が活発になる薄暗い時間帯に積極的に巣外へ移動し、摂食を行うことで成長因子 (GF) を生成・分泌する。
- アホロートルは適切な睡眠を摂ることで高い妊性を示す。





## 底砂中に含まれる無機成分 (ミネラル) は生育に必要

### The Axolotl Newsletter

Issue number 26 Fall, 1997

The Axolotl Newsletter is prepared at the Indiana University Axolotl Colony, Bloomington, Indiana 47405. The Newsletter is distributed free of charge and is supported, in part, by funds from the National Science Foundation. This Newsletter should not be regarded as a publication. Cite only with specific permission of the author of the article.

#### L.U. Axolotl Colony

Director: George M. Malacinski  
Assistant Director: Susan T. Duhon  
Curator: Sandra J. Berland  
Editor: Axolotl Newsletter: Susan T. Duhon

The Axolotl and its Native Habitat — Yesterday and Today  
Susan T. Duhon ..... 14

#### Contents

p.16

**Axolotl Newsletter Number 26**  
which they called the Laguna de Mexico. In addition, a causeway or dike crossing from north to south through Tlahuac separated Xochimilco from Chalco (Sanders, et al., 1979). During the Aztec period nearly the entire Xochimilco-Chalco basin was devoted to chinampas horticulture, as was the Laguna de Mexico around Tenochtitlan. Also, as a result of the Aztec waterworks, saline water was largely prevented from entering the southern lakes, even during periods of flood (Armillas, 1971). Thus the habitat of the axolotl was significantly affected during the period of the Aztec empire in at least two ways: first, by the spread of the chinampas, which involved the construction of ditches and islands, and second, by the construction of waterworks which controlled water levels and prevented the incursion of salt water into the axolotl habitat. Its habitat may have been enlarged as well by the expansion of fresh water horticulture into the district around Tenochtitlan. The impact that these historical changes had on the species can only be speculated upon. The chinampas system and the Aztec waterworks were at their peak when the Spanish Conquistadores arrived in 1519. What

表 1 粘土鉱物の陽イオン交換容量

粘土 鉱 物	理 想 式	陽イオン交換容量 (eq/kg)
パーミキュライト	$K_{1.1}Al_2Si_2Al_{1.3}Fe_{0.6}Mg_{0.4}O_8(OH)_4$	1.0~1.5
モンモリロナイト	$K_{0.8}Al_2Si_2Al_{1.4}Fe_{0.6}Mg_{0.4}O_8(OH)_4$	0.7~1.2
緑 泥 石	$Fe_2Mg_4(OH)_2Si_4Al_4O_{20}(OH)_4$	0.1~0.4
アタパルジャイト	$Mg_2Si_4O_{20}(OH)_2(H_2O)_4$	0.2
ハロイサイト	$Si_4Al_4O_{20}(OH)_4(H_2O)_4$	0.05~0.5
カオリナイト	$Si_4Al_4O_{20}(OH)_4$	0.03~0.15



(D) 汽水浴開始時の鰓



(D') 汽水浴 (0.2~0.5%) で約1ヶ月飼育後の鰓

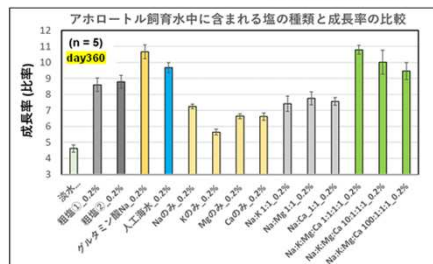


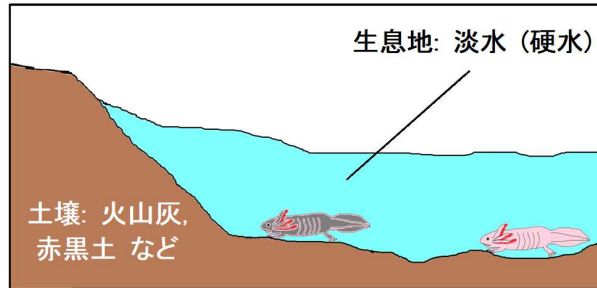
図 2: 塩類を添加することでアホロートルの成長は促進される。

VARIABLES	M
Temperature	27
pH	7.5
TDS	300
Hardness	200
Calcium	100
Magnesium	100
Sulfate	100
Chloride	100
Fluoride	100
Iron	100
Copper	100
Zinc	100
Manganese	100
Selenium	100
Antimony	100
Barium	100
Bismuth	100
Boron	100
Bromine	100
Cadmium	100
Chromium	100
Cobalt	100
Gold	100
Lead	100
Lithium	100
Mercury	100
Molybdenum	100
Nickel	100
Platinum	100
Potassium	100
Radium	100
Silver	100
Sodium	100
Strontium	100
Tellurium	100
Thallium	100
Vanadium	100
Yttrium	100
Zirconium	100

図 1: 野生のアホロートルの生育には汽水・硬水の環境が好ましい



## アホロートルの成育と水質・土壌環境



アホロートルにとっての適切な成育環境  
→ 火山灰・黒玉土などのある土壌  
(硫黄などを含む)

硬度の高い水環境・汽水環境  
→ 浸透圧調節や免疫の補助



底砂・底泥の中には**ヒューミン(腐食酸)**と  
**分解者(濾過バクテリア・真菌類・藻類など)**が存在する

### フルボ酸は有限資源？

フルボ酸は、自然界では微量にしか生産されない貴重な資源で、通常は腐植土層に多く存在します。

腐植土層とは、森林生態系において地上部の動植物により生産された有機物が堆積し、微生物により分解されて土状になったものです。

自然界では1cm形成するのに100年の時間を要します。尚、腐植には土ではありません。



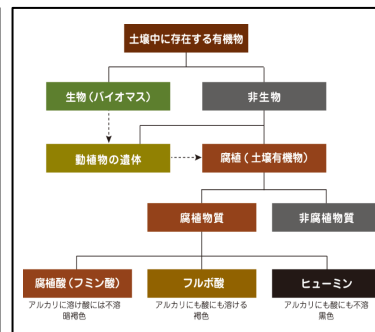
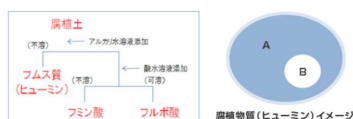
この腐植土の中で、微量にしか生産されないものが「フルボ酸」です。

### 【フルボ酸とフミン酸の違い】

フルボ酸とフミン酸はともに腐植物質(ヒューミン)といわれ、有機物質、特に植物の分解で作り出されます。どちらもキレート力(つかむ力)がありますが、その能力には雲泥の差があり、フルボ酸がキレート能力でミネラルやアミノ酸を選び、さらに過剰なミネラルを排出する働きがあることに比べ、フミン酸には一過性の単発能力しかありません。

A: フミン酸  
アルカリ水溶液に可溶するアルカリ物質で、色素が濃く暗色物質といわれる。

B: フルボ酸  
酸性溶液に可溶性物質で、土壌では「金にも勝る物質」と言われるほど希少価値が高く、黄金色に輝く黄金物質。キレート力にも優れ、フミン酸に比べ効果が高い。



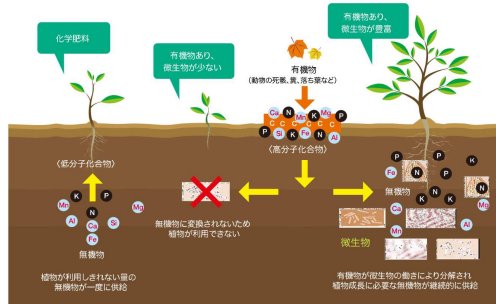
<https://furubo.net/fulvic/>

フミン酸・フルボ酸とは | 株式会社ケーツーコミュニケーションズ (keitwo.co.jp)

底砂・底泥の中には**ヒューミン(腐食酸)**と  
**分解者(濾過バクテリア・真菌類・藻類など)**が存在する

土壌においても水中においても、微生物が有機物を分解し、  
無機イオンや窒素源を生成し、自然界で循環させる働きを持つ。

#### 土壌微生物による有機物の分解



立命館大学活動報

<https://www.ritsumei.ac.jp/research/radiant/gastronomy/story5.html/>

#### 水中の硝化バクテリアを介した有機物分解後の窒素源の循環

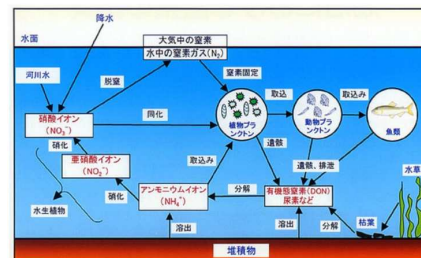


図 湖沼における窒素循環の模式図

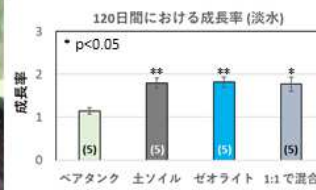
### 底砂摂取によって成長が促進される



(A) ペアタンク  
(= 底砂なし)



(B) ソイル(土, 砂)を加えて  
自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較  
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

繁殖力(妊性)も向上

### 底砂あり・・・成長促進

何故？

食砂行動 → 物理的な餌の消化補助

砂の無機成分を摂取

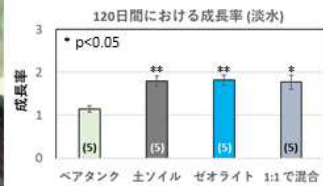
## 底砂摂取によって成長が促進される



(A) ペアタンク  
(= 底砂なし)



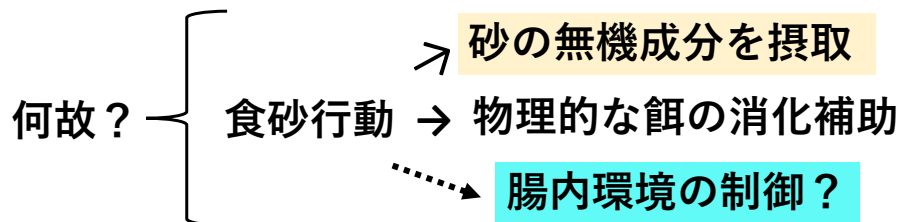
(B) ソイル(土, 砂) を加えて  
自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較  
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

繁殖力(妊性)も向上

## 底砂あり・・・成長促進



## メキシコサンショウウオにおける腸の活動に注目

### 腸内フローラ(フロラ=腸内細菌叢)

私たちの腸の中には数百～千種類、数百兆個以上の細菌がすんでおり、これらの腸内細菌は特に小腸の終わりから大腸にかけて多くすみ着いています。腸内細菌はそれぞれに小さな集合体をつくってお互いのバランスを取っていると考えられ、それを植物が群れている様子になぞらえて「フローラ(植物相)」と呼んでいます。

#### 【腸内細菌の関係】



**POINT!** 腸内細菌叢は善玉菌、悪玉菌および中間菌のせめぎあいです。

森永乳業HP <https://bifidus.jp/relation/>

飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している  
＝腸内細菌

性質・種類	学名	属・分類	備考
グラム陰性細菌	<i>A.hydrophila, A.sobria</i>	エロモナス類	感染症の原因菌
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス類	感染症の原因菌
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス類	アンモニア硝化菌
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター類	亜硝酸酸化菌
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ類	腸内細菌
グラム陽性細菌	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌
	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌
	<i>B.subtilis</i>	枯草菌類	濾過バクテリア
藻類 (水苔)	<i>C. pediculus</i>	コッコネイス属	珪藻類
	<i>T. lacustris</i>	テトラスボラ属	緑藻類
	<i>M. willeana</i>	ミクロスボラ属	糸状緑藻類
真菌 (カビ)	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母
	<i>S. parasitica</i>	ミズカビ属	水質浄化, 増えすぎると 水カビ病の原因
	<i>A. prolifera</i>	ワタカビ属 (卵菌類)	
	<i>A. proliferoides</i>		
	<i>A. racemosa</i>		
	<i>A. cochlioides</i>		

当ラボの飼育環境にて確認できた微生物の一部; 依頼分析で 18SrDNA にて存在を確認.

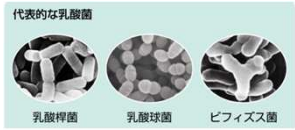
飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している  
＝腸内細菌



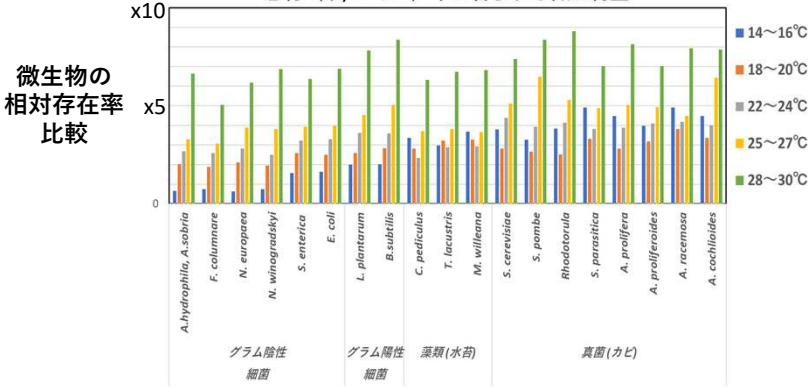
上清や底砂を回収し、濾し出す。



18SrDNA 等に注目し  
存在する微生物の種類を同定



底材 (砂, ソイル) 中に含まれる微生物量

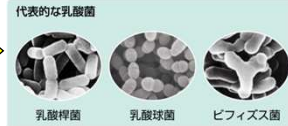




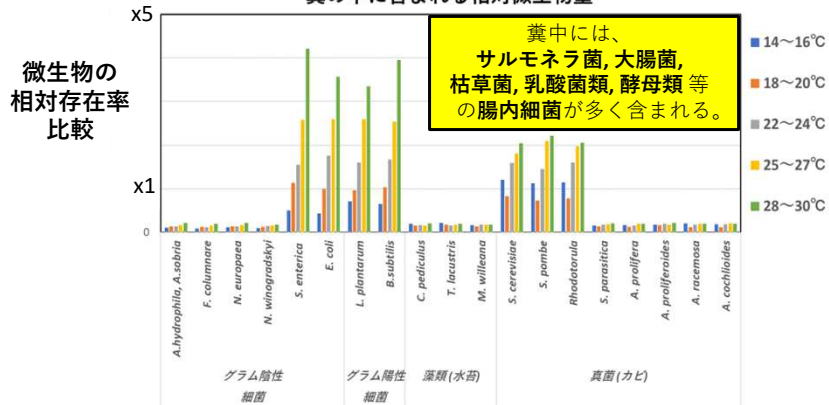
## 飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している ＝腸内細菌



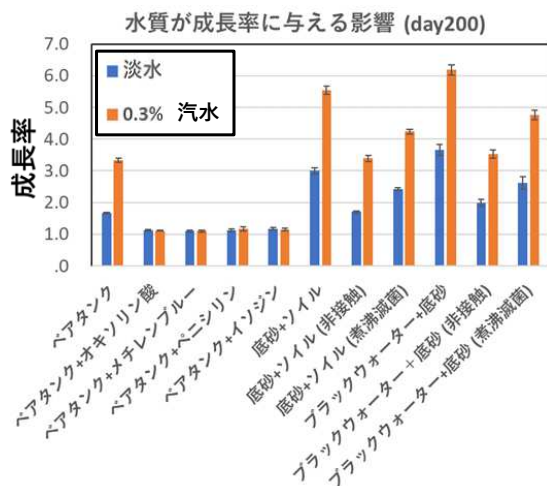
18SrDNA 等に注目し  
存在する微生物の種類を同定



糞に含まれる相対微生物量



## 腸内細菌を抗生剤等で殺菌すると生育率が低下する



**グリーンFゴールド・リキッド**  
主成分: オキシリン酸

多くのグラム陰性菌と  
大半のグラム陽性菌に  
対して殺菌効果を示す。



【第3類医薬品】  
イソジンうがい薬C

組成  
・ポビドンヨード 0.35 %  
・エタノール  
・グリセリン  
・メントール 他

図2: 飼育水槽の水質が成長率に与える影響

飼育水槽にバクテリアが存在しないと成長が著しく阻害される。  
同様に、底砂と直接接していないと成長率が低下する。

**PVPI (ポビドンヨード)**

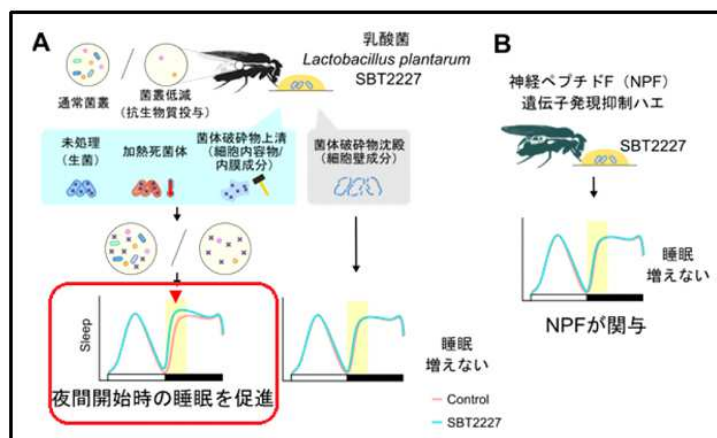
ウイルスや細菌・真菌に対して  
殺ウイルス効果・殺菌効果がある。

## 腸内活動の活性化によって成長率が向上する



## ショウジョウバエにおける神経ペプチド NPF と腸内乳酸菌の関係性

神経ペプチド NPY (ショウジョウバエの NPF) に注目。  
また、乳酸菌と NPY が睡眠導入に重要との文献あり。

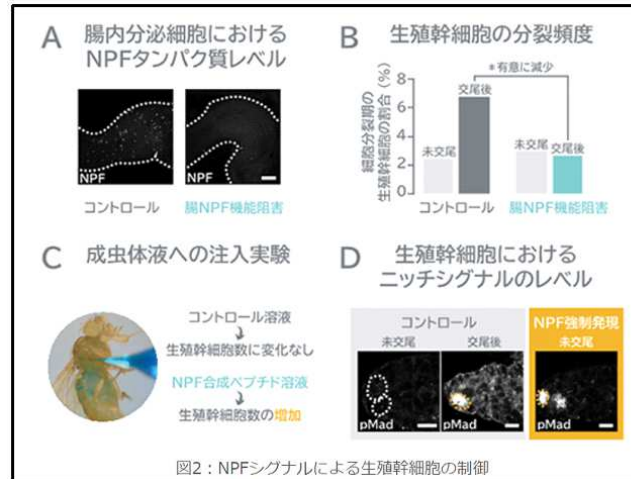


(Taro Ko et al., *iScience*, 2022)

<https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S2589-0042%2822%2900898-7>

## ショウジョウバエにおける神経ペプチド NPY と腸内乳酸菌の関係性

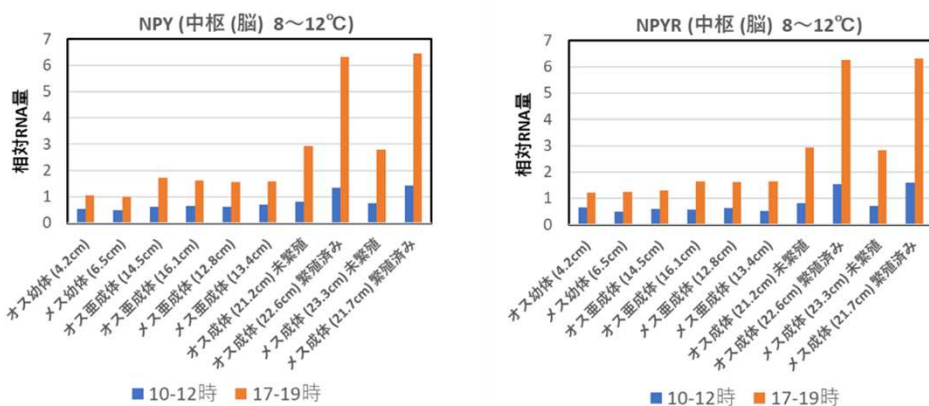
ショウジョウバエにおいて、メス側の産卵促進にオスの交尾刺激(精液成分の導入)からの NPY (NPF) 放出促進 → 生殖幹細胞の分裂促進 → 最終的に産卵数の増大へと繋がる？



(Ameku et al., PLOS Biol, 2016)

<https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.2005004>

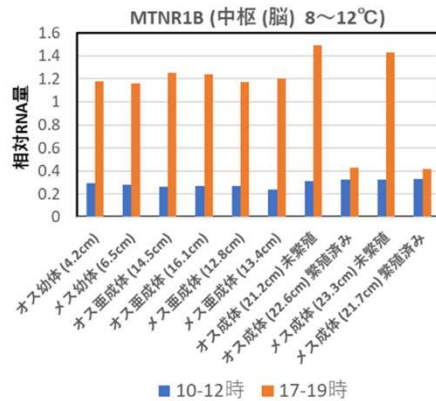
## メキシコサラマンダーにおける神経ペプチド NPY と睡眠 および 腸内乳酸菌の関係性



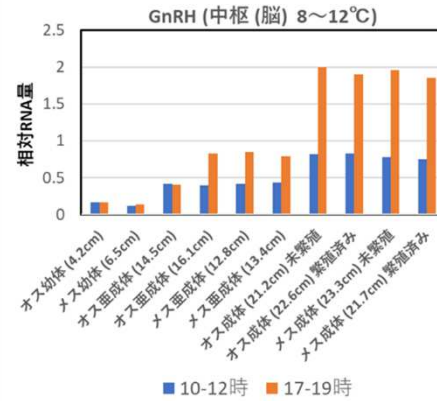
産卵誘導時(低温)の中枢における NPY および 関連因子 mRNA の相対発現量の比較

## メキシコサラマンダーにおける神経ペプチド NPY と睡眠 および 腸内乳酸菌の関係性

### 睡眠導入因子メラトニンの特異的受容体

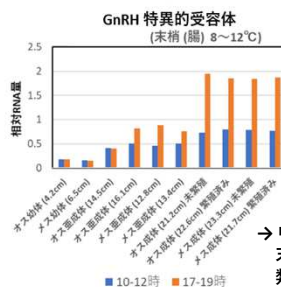
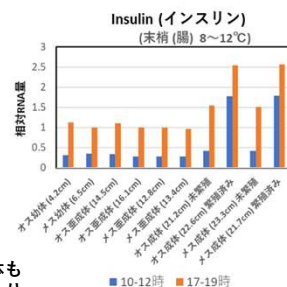
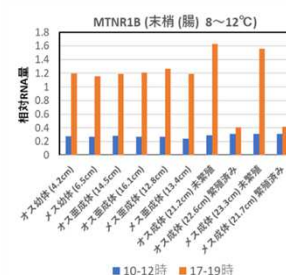
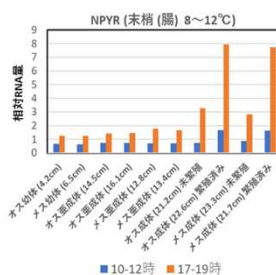
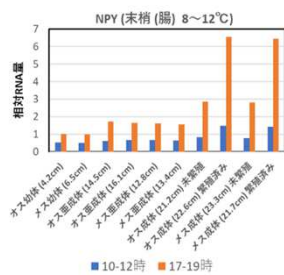


### 生腺刺激ホルモン放出ホルモン



産卵誘導時 (低温) の中枢における NPY および 関連因子 mRNA の相対発現量の比較

## メキシコサラマンダーの産卵誘導時 (低温) の末梢 (胃、腸、卵巣) における NPY および 関連因子 mRNA の相対発現量の比較



特異的受容体も末梢で発現あり

→ 中枢の間脳視床下部や、末梢 (性腺) においても、類似の発現パターンを示す。



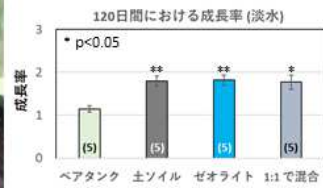
## 底砂追加による成長促進効果の正体



(A) ペアタンク  
(= 底砂なし)

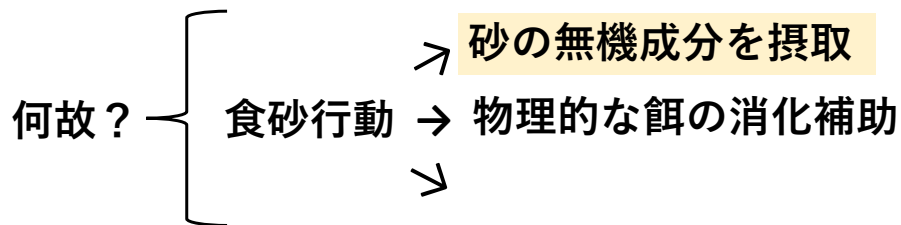


(B) ソイル(土, 砂) を加えて  
自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較  
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

### 底砂あり・・・成長促進



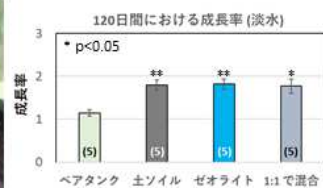
## 底砂追加による成長促進効果の正体



(A) ペアタンク  
(= 底砂なし)

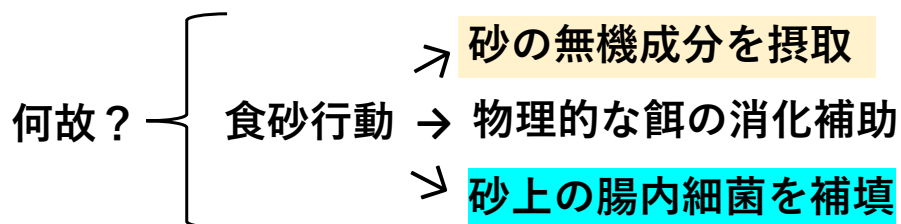


(B) ソイル(土, 砂) を加えて  
自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較  
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

### 底砂あり・・・成長促進



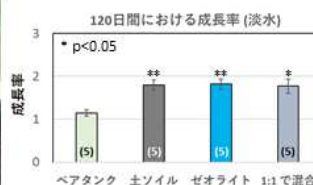
## 底砂追加による成長促進効果の正体



(A) ペアタンク  
(= 底砂なし)



(B) ソイル(土, 砂) を加えて  
自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較  
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

**底砂あり・・・成長促進**

**相乗効果!**

何故?

食砂行動

- 砂の無機成分を摂取
- 物理的な餌の消化補助
- 砂上の腸内細菌を補填

## 総括3: メキシコサラマンダーの腸内環境と成長制御

- ・ メキシコサラマンダーはかつての生息地にて、硬水かつ汽水の環境で育ってきた可能性がある。
- ・ 食砂行動は、物理的な消化の補助効果以外にも、副次的な効果があることが分かった。
- ・ 底砂を食べることで、消化の補助に加え、底砂や泥から Si, Fe, Zn, P, Na, Ca などの無機成分を摂取している。
- ・ 食砂行動によって、底砂に付着する乳酸菌類などの腸内細菌を定期的に摂取し、腸内細菌叢を安定化させている。
- ・ 神経ペプチドである NPY を駆使して、摂取した乳酸菌類との相乗効果によって睡眠の制御による生育調節や性成熟、生殖細胞数の調節による繁殖力の制御を行っている。

## アホロートルにおける糖代謝が 成長を顕著に促す → 乳酸菌の寄与？

糖質依存的な成長促進機構 (day1200)

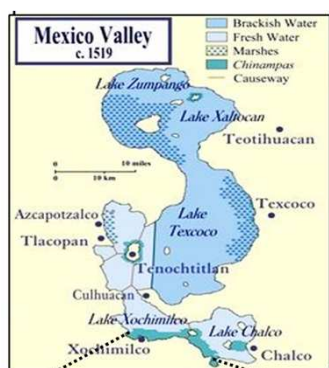
固形餌

+メトグルコ  
+SGLT1阻害剤

+グルコース



## 考察: アホロートルにおける糖代謝の意義



アステカ文明: チナンパ農法



原産地:

古代のメキシコ・ソチミルコ周辺

サトイモ や マメ類などを水辺で栽培

↓  
水中や土壌にそれらの成分が溶け出し  
砂・泥へと溶け込む

↓  
植物性のタンパク質, 糖質を  
食砂行動時に摂取・代謝していた

アホロートルにおいて  
糖と硫黄の同時摂取が成長を更に促す

+ グルコース



+ グルコース  
+ 硫黄



アホロートルにおいて  
糖と硫黄の同時摂取が成長を更に促す

→ 硫黄を代謝する機構が存在する？

+ グルコース

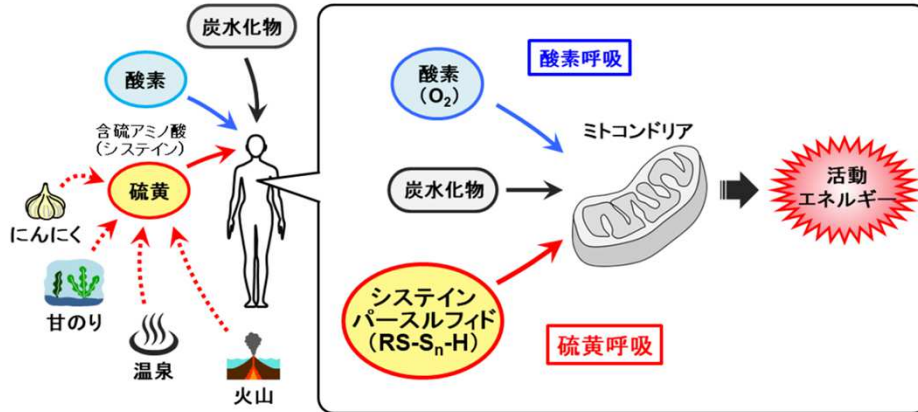


+ グルコース  
+ 硫黄





## 硫黄呼吸・硫黄代謝とは？



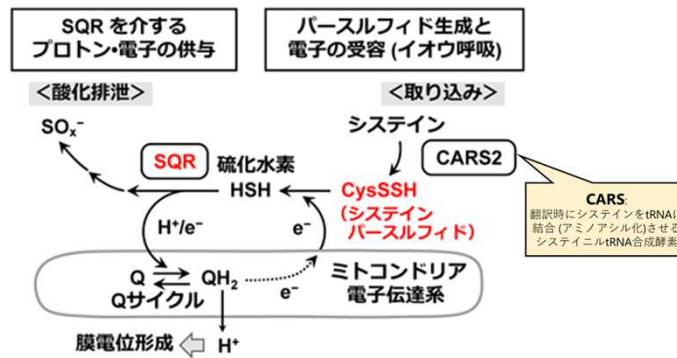
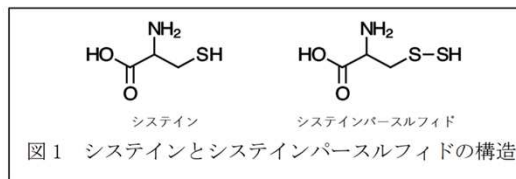
世界初：哺乳類における「硫黄呼吸」を発見 - 酸素に依存しないエネルギー代謝のメカニズムを解明 - (東北大学 2017 年 10 月 25 日)

哺乳類が硫黄でエネルギー代謝「硫黄呼吸」を世界で初めて発見 | Science Portal - 科学技術の最新情報サイト「サイエンスポータル」(ist.go.jp)

CysteinyI-tRNA synthetase governs cysteine polysulfidation and mitochondrial bioenergetics - PubMed (nih.gov)



## 硫黄呼吸・硫黄代謝とは？



Q, quinone; SQR, sulfide:quinone reductase; CARS2, cysteinyl-tRNA synthetase 2

活性イオウ分子：システインパースルフィドの新規生成経路の発見とその生理機能 (jsbba.or.jp)



## 硫黄呼吸・硫黄代謝とは？

正常マウス 硫黄代謝不全マウス



図3 硫黄代謝不全マウスの生育

世界初：哺乳類における「硫黄呼吸」を発見 - 酸素に依存しないエネルギー代謝のメカニズムを解明 - (東北大学 2017年 10月 25日)

哺乳類が硫黄でエネルギー代謝「硫黄呼吸」を世界で初めて発見 | Science Portal - 科学技術の最新情報サイト「サイエンスポータル」(ist.go.jp)

CysteinyI-tRNA synthetase governs cysteine polysulfidation and mitochondrial bioenergetics - PubMed (nih.gov)



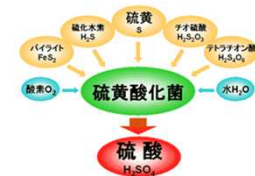
## アホロートルにおいて 硫黄呼吸・硫黄代謝の機構は存在しているのか？

### 硫黄 (S)



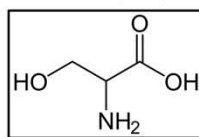
製品詳細情報 | 硫黄(粉末) 32513-55 500G ナカ  
イテック株式会社 | e-Nacalai Search Version

水槽や腸内の硫黄酸化菌 *Acidithiobacillus*  
等によって硫酸イオンに変換され吸収される。



酸性硫酸塩土壌における微生物群集 | 研究内容 | 環境適  
応生物を活用する環境修復技術の開発 (nihon-u.ac.jp)

### セリン (Ser)



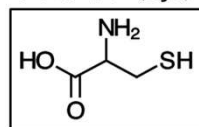
Serine Amino Acid - Function, Deficiency, Foods High in Serine (healthbabe.net)

L-セリン(L-Serine)のサプリメントならDoublewood.jpで簡単に個人輸入



CBS, CSE の作用で  
Cys が生合成される。

### システイン (Cys)



システイン - Wikipedia

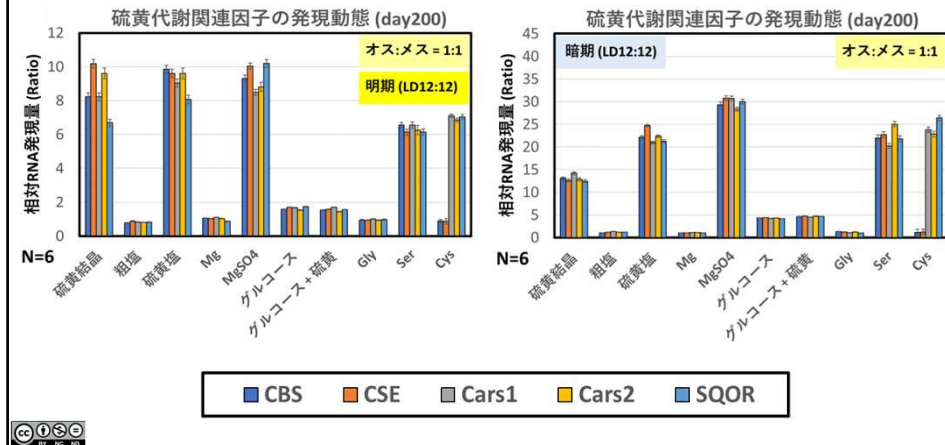
NOW Foods, L-Cysteine, 500 mg, 100 Tablets (herb.com)

疎水性、中性、極性側鎖を持つアミノ酸。



## アホロートルにおける 硫黄呼吸・硫黄代謝関連因子の発現動態

→ 夜間には若干発現が上昇する (体内時計と連動?)



## アホロートルにおける糖代謝 + 硫黄呼吸

### 糖質依存的な成長促進機構 (day200)

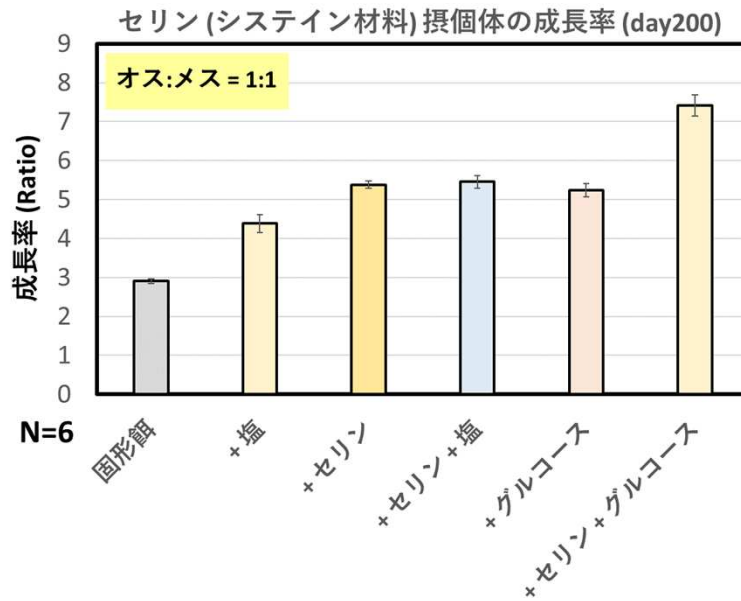
固形餌

+セリン

+セリン  
+グルコース



## アホロートルにおける糖代謝 + 硫黄呼吸



## アホロートルにおける糖代謝 + 硫黄呼吸

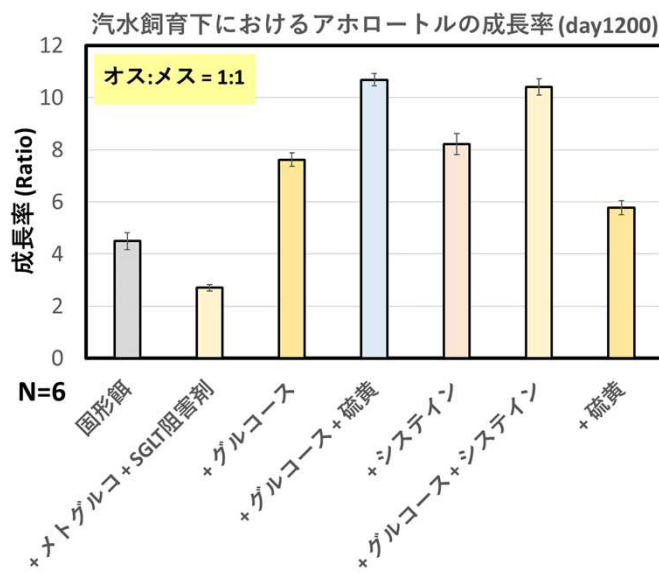
糖質依存的な成長促進機構 (day1200)

通常餌+糖質 (淡水)



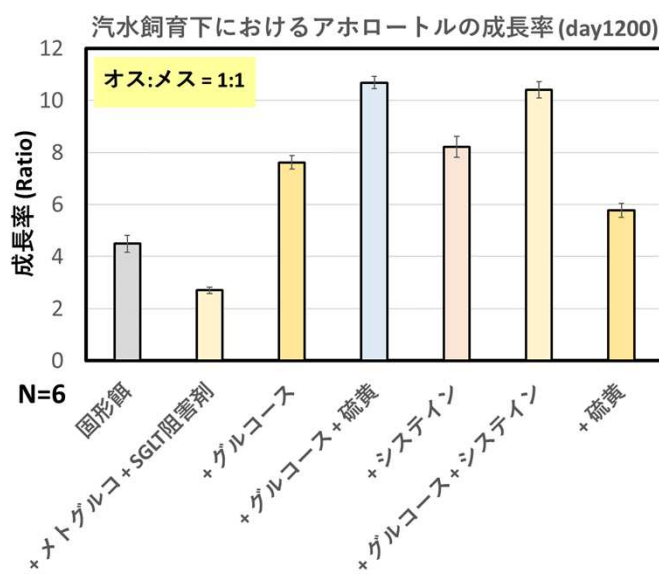


## アホロートルにおける糖代謝 + 硫黄呼吸



## アホロートルにおける糖代謝 + 硫黄呼吸

→ アホロートルはどのように硫黄の結晶を代謝しているのか？

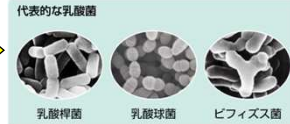


## 飼育水槽 (底砂) や腸内に硫黄酸化菌が生息する場合がある

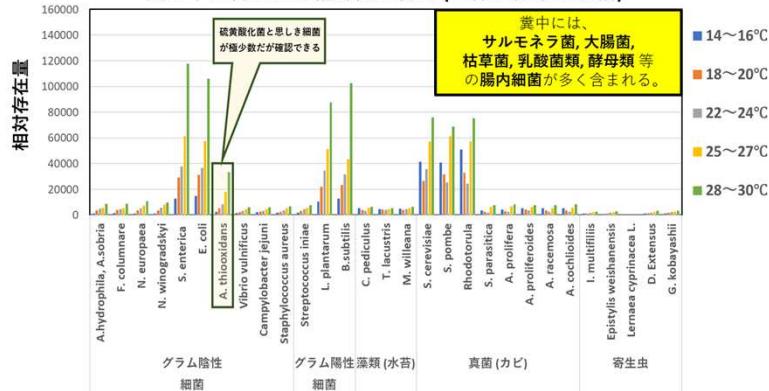


上清や底砂を  
回収し、  
濾し出す。

18SrDNA 等に注目し  
存在する微生物の種類を同定



糞の中に含まれる相対微生物量 (生体が健康な水槽)

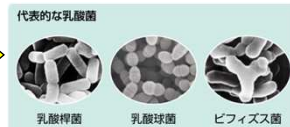


## 硫黄代謝が起こらない個体では硫黄酸化菌が顕著に少ない

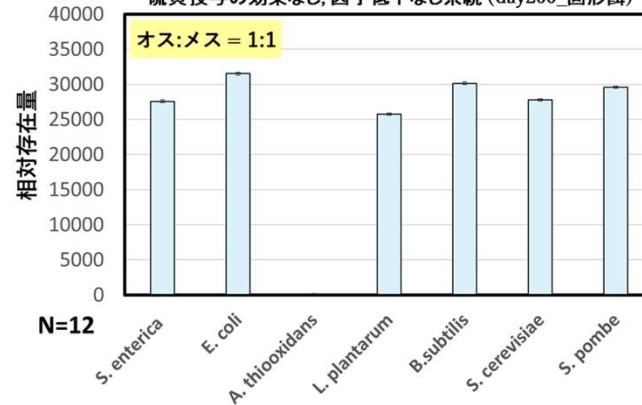


上清や底砂を  
回収し、  
濾し出す。

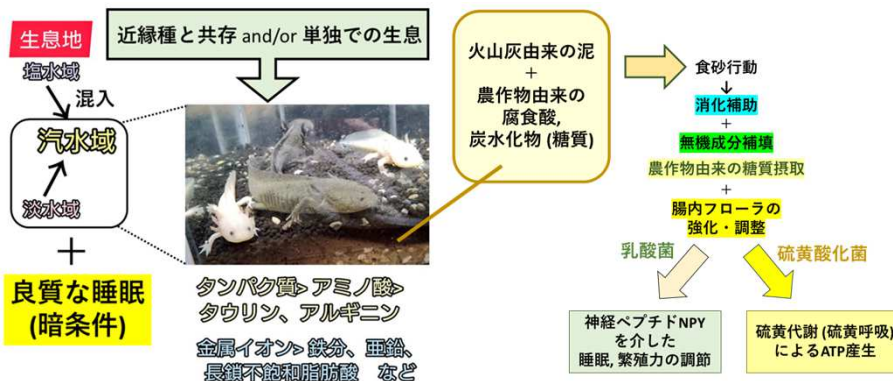
18SrDNA 等に注目し  
存在する微生物の種類を同定



硫黄投与の効果なし, 因子低下なし系統 (day200\_固形餌)



## 総括4: アホロートルの生活環における成長制御を取り巻く要因



- ・アホロートルは, 古式農法の盛んな水環境で糖質を摂取する能力を得た。
- ・食砂行動により乳酸菌等を摂取することで, 植物由来の糖代謝が可能。
- ・アホロートルは火山のような泥環境において硫黄源を摂取していた。
- ・食砂行動の中で硫酸化菌を摂取することで硫黄の代謝を可能とした。
- ・糖代謝と硫黄代謝を併せることで高い成長促進効果が生じる。

## 謝辞

ご清聴

ありがとうございました！

### 本プロジェクトに従事された皆様

- ・竜岡 龍騎
- ・阿保朗 太郎
- ・竜岡 龍騎
- ・高橋 慶 ほか

### 主たるメンバー

- ・あすみ 悠 研究員
- ・枝豆 やみん 研究員
- ・萩原 和晃 研究員
- ・F.N. 三太子 特別研究員
- ・分析員・共同研究員の皆様
- ・SNS フォロワーの皆様
- ・他、ウーパールーパー従業員一同

### 提携組織・企業様

- ・サイマンテクノロジー
- ・海人アクアリウム
- ・ぼれいろちゃんねる

セサミン



おとね



CC-BY-NC-ND;  
本資料の許可なき改変・売買・再配布禁止.







## 参考文献

- [1]. 【研究報告】アホロートルにおける 糖代謝と硫黄呼吸に関する調査報告.  
ハルラボ会報誌\_ウーパールーパーだより vol 7.0  
杉山 遥, 竜岡 龍騎, 高橋 慶, 阿保郎 太郎. 2025 年 1 月 4 日.
- [2]. 【研究発表】アホロートルにおける糖代謝と硫黄呼吸. (第 95 回\_日本動物学会\_長崎大会)  
杉山 遥, 竜岡 龍騎, 高橋 慶, 阿保郎(郎) 太郎. 2024 年 9 月 14 日.
- [3]. 【クラウドファンディング】  
ウーパールーパーを守る! メキシコ・ソチミルコ湖の環境改善プロジェクト.  
ハルラボ × CAMPFIRE. 2024 年 4 月 23 日.
- [4]. 【口頭発表】メキシコサンショウウオの生活環 における汽水環境の重要性.  
杉山 遥. 日本動物学会\_第 94 回\_山形大会 (2023)
- [5]. 【研究報告】腸内乳酸菌と神経ペプチド NPY と睡眠・成長.  
杉山 遥. 2023 年 2 月 4 日.
- [6]. 【総説】メキシコサラマンダー および トラフサンショウウオ科の近縁種における生態・生息環境  
に関する調査報告. (ハルラボ会報誌\_ウーパールーパーだより vol 3.0)  
杉山 遥, 枝豆 やみん, 竜岡 龍騎 ほか. 2024 年 1 月 4 日.
- [7]. 【研究報告】土壌成分と生育.  
高橋 慶, 杉山 遥. 2022 年 8 月.

## メキシコサラマンダーを救うために

To save the Mexican Salamander

○横江 諒 (東京大, サイマンテクノロジー, ハルラボ); 杉山 遥 (ハルラボ), 萩原和晃 (ハルラボ), F.N. 三太子 (ハルラボ), 竜岡龍騎 (トラフサンショウウオラボ), 枝豆やみん (ハルラボ), あすみ悠 (ハルラボ), 阿保朗太郎 (ハルラボファーム)

Haruka Sugiyama, Yoshichika Yokoe, Kazuaki Hagiwara, F.N. Santako, Ryuki Tatsuoka, Ya!min Edamame, Yu Asumi, Taro Axolotl:

メキシコを原産地とするメキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*, 以下、アホロートル) は、世界中で飼育され、“ウーパールーパー” という名前で愛玩動物として人々の間で広く親しまれている。一方で、野生個体の数は現在激減し、絶滅の危機に瀕している。

これは、アホロートルを取り巻く環境や水質悪化などが主な原因とされているが、アホロートルは飼育下の個体であっても免疫が脆弱であることが知られている。(参照: Ching et al., 1967 & Cohen et al., 1994) アホロートルにとって最適な成育環境を考える上で感染症や免疫機構は非常に重要となってくる。

アホロートルは、特に真菌類や耐塩性細菌等からの影響を受けやすく、対処が遅れることで早ければ数週間の間に亡くなってしまう可能性があることが明らかとなっている。  
(第 46-47 回日本分子生物学会年会 (2023-24) にて報告)

本発表では、これまでの活動における症例とそれらの原因となる微生物について、その感染機序と判別するための炎症性マーカー、感染を防止する生体防御機構 (ex. 抗菌ペプチド) 等の中から、明らかになった知見について報告する。

これにより、野生種の適切な保全や飼育個体の健康管理に関する更なる手がかりとなることを切に望む。

### 炎症・ストレス関連因子

TNFA, HIF1a, NFkB, MAPK, Caspase, IL (1, 6), HSP90, GATA1

### 抗菌ペプチド

Ccr (Ccr1, 4, 5, 6, 7, 9), Ccl (Ccl3, 5, 19, 25, 28), TLR (TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21)

### 粘膜 (ムチン) 関連因子

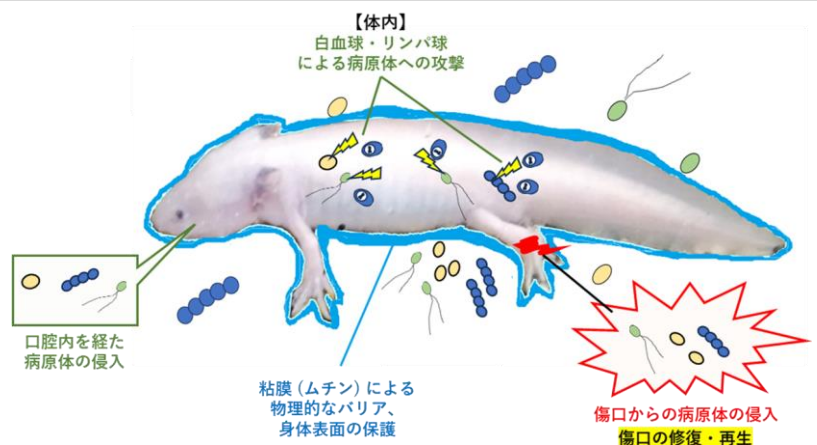
Integrin, HSPG, GALNS, Sulf, collagen, THBS, PECAM1, CXCR4, ECM, ArsB, ArsG, Ids

### 血球 (および免疫細胞) マーカー

MS4A12, MS4A15, MME, CCR5, CXCR3, Integrin, GZMB, NCAM1, Tia1, CXCR3, CLEC4, (g/e/f/m/g), TRPM2, ICAM-5, CD44, TLR (TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21), C5aR, CD44, Siglec (Siglec1, 9, 11, 15), Tfrc, Gp1ba, HBA1, Integrin, FLT-1

### 再生・発生 関連因子

KDR, PDGFR- $\alpha$ , VEGF-A, Yap, GATA4, FGF-8, GDF5, FGF (FGF2, 21, 23), FGFR, EGF, EGFR, TGF- $\beta$ 2, HGF (Hepatocyte Growth Factor), AKT1, AKT2, CDK4, CDK6



健康な状態の生体の場合、その周囲に雑菌や濾過バクテリアは存在しているものの、生体の粘膜や免疫応答で十分対応可能な範囲であり、この状態を安定して保持ができれば長期間安定的に生体を維持することが可能となる。

2025年度 中国四国地区 生物系三学会 合同大会 愛媛大会・研究発表

## ～メキシコサラマンダーを救うために～



NPO研究グループ  
ハルラボ (ウーパールーパー研究室)  
HAL\_Lab\_Axolotl



技術員・相談員 (アホロートルレスキュー):

**F. N. 三太子** (PN)

(ファジーネーブル さんたこ (ペンネーム))

看護師 (ヒト)

g-mail: [kurukurupah@ezweb.ne.jp](mailto:kurukurupah@ezweb.ne.jp)

三太子 (ウパレスキュー) X: <https://twitter.com/CUNEflash>

ハルラボ X (Twitter): [https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)

Note: [https://note.com/lab\\_new2](https://note.com/lab_new2)

HP: [https://drive.google.com/file/d/1g4avtKOFIS78II\\_595yk\\_OKFL\\_u1xgt/view](https://drive.google.com/file/d/1g4avtKOFIS78II_595yk_OKFL_u1xgt/view)



2025/5/9

横江 諒衛; 杉山 遥; FN 三太子; 枝豆 やみん; 萩原 和晃; あすみ 悠

ハルラボ (ウーパールーパー研究室) HAL\_Lab\_Axolotl



メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*)  
の国内流通個体です (一部、他種と混血の説あり)

原産地: メキシコ (ソチミルコ湖)

最大体長: 20～25cm

幼形成熟 (ネオテニー) の形態を取れる

寿命は20年以上 (変態・上陸すると10年程度に。。。)

強み: 少々の水質変化はへっちゃら

弱点: 細菌感染, カビ(免疫反応がアフリカツメガエルの半分以下)

※ 現在は絶滅の危機 (原因: 都市開発や埋め立てによる生息地減少)







### ↓ 流通システムのバリエーションと遺伝学的特徴 ↓

マーブル  
(野生型体色)



(野生種を生育し、ある程度固定化した品種。一部、交雑種も存在する。)

リューススティック  
(一部色素欠乏)



(*endothelin3: edn3* (Chr3p 短腕) 欠損変異ホモ: 上皮におけるユーメラニン欠乏)

ブラック  
(メラニン過剰)



(*Leukocyte Tyrosine Kinase: Ltk* (Chr14q 長腕) 欠損変異ホモ: 上皮におけるユーメラニンの過剰分泌・蓄積)

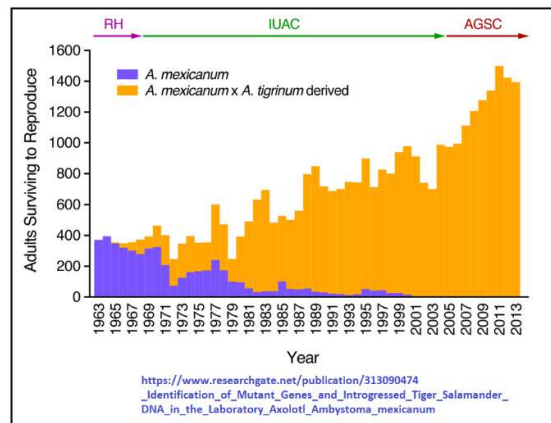
アルビノ系統 (*tyrosinase: tyr* (Chr7q 長腕) 欠損変異ホモ: 全身のユーメラニン欠乏)



遺伝子欠損の程度・フェオメラニン合成への影響の違い、他の体色変異等と併せることで体色に違いが見られる。



(杉山 ほか, 2022-2023)



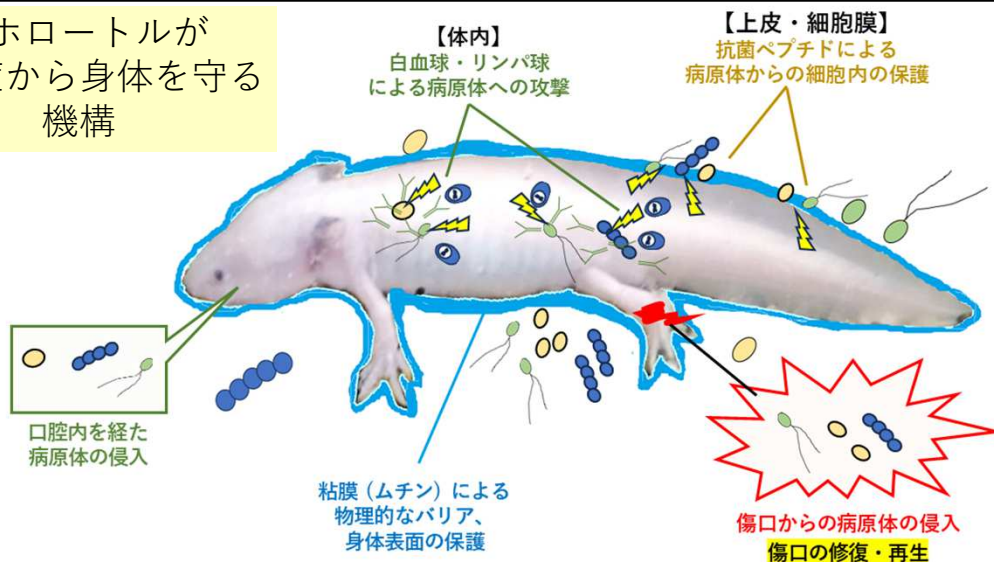
研究用個体: トウブタイガーサラマンダーとの混血  
ペット用流通個体: 野生型系統が残っている (率高い)

#### 【野生型体色を構成する色素】

- ・イリドフォア (虹色素細胞) ... 実際の色素は無く、光の反射で蛍光が見える (宝珠、ラメ)
- ・キサントフォア (黄色素細胞) ... 黄色。メラノフォア近傍で存在し、斑模様を形成する。
- ・メラノフォア (黒色素細胞) ... 黒色。メラノフォア同士で隣接する。
- ・クロモプラスト (色素芽細胞) ... 上記3つの色素細胞の元となる細胞 (胚発生過程での神経管由来の細胞)



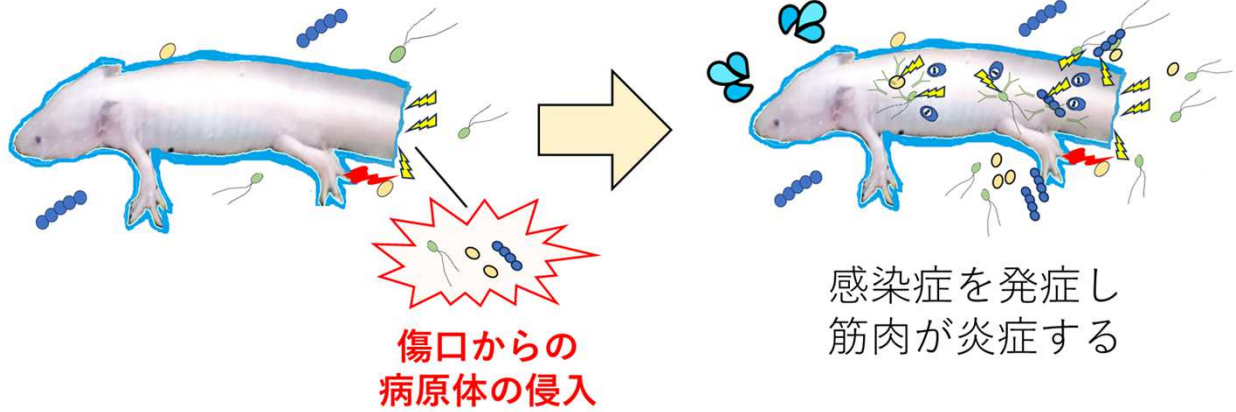
### アホロートルが 感染症から身体を守る 機構



健康な状態の生体の場合: 生体の粘膜や免疫応答で十分対応可能。  
一方でこの粘膜によるバリアが突破されると、一気に体調が悪化して  
そのまま亡くなってしまう場合もある。



## アホロートルが感染症から身体を守る機構



**これまでの飼育・治療相談内容 & 各種対応**

症状	件数	主な要因	対策・治療方針
裂傷・傷 など	35	混泳個体同士の攻撃・誤食 水槽中の設置物による損傷	繁殖期(低水温)の解消・オスの隔離 飼育水槽への仕切り・単独飼育化 角のある石や表面の粗い土管などの除去 ろ過装置の吸入口へのスポンジカバー装着
炎症・赤み 浮腫・腹水症	38	過不足によるアンモニア中毒 アンモニア分解物 (亜硝酸塩)中毒 細菌・ウイルス・寄生虫感染 に対する免疫応答	【グラム陰性菌による感染症】 汽水飼育・オキシリン酸薬による治療 【他の要因による感染症】 汽水飼育・ボビドンヨード薬による治療 濾過環境強化や換水頻度を増やすことで 根本的な要因を除去できる → 水槽内の微生物叢の改善 汽水環境は亜硝酸塩の影響を緩和する 【例外】 ウオジラミ・イカリムシ等の甲殻類の仲間 による寄生は生餌の魚経由で感染する → ジフルベンズロン水和剤(ボウフラ農薬) の添加による治療のみが有効である
ぶかぶか病 転覆	52	消化不良(特にデンプン質) による消化器官へのガス蓄積 腸内細菌叢異常によるガス蓄積 浮袋・肺の異常 (浮力制御の不良)	【腸内洗浄】 ・繊維質の多いアカムシやイトミミズ ・治療薬に浸した餌(食べやすいもの) 水温を+2℃程度上昇させる → 代謝の向上 淡水飼育であれば汽水飼育へ切り替える 汽水飼育であれば淡水飼育へ切り替える 感染症を優先し治療期間中は断食させる 水質を良質に保つことで機能回復を優先する 食欲が改善すれば毎日少量ずつ与えていく ※ 改善しない場合は腫瘍の可能性あり → 病院に早急に受診させる
鰓や身体が痩せ 餌の吐き戻し	34	寄生虫による栄養失調 腸内フローラ異常からの摂食障害 腸管腫瘍による摂食障害 各種ストレス起因の変態誘導	
合計 159 件		※ 各症状には重複あり	

1. 怪我・損傷  
(擦り傷や噛まれ傷)

2. 傷口から細菌感染  
⇒ 炎症性物質の分泌

3. 経口摂取による細菌感染  
※ 腸内細菌も摂取する経路

細菌感染後の主な症状

- ・ 鰓の低下
- ・ 鰓や身体が痩せる
- ・ 腹水症
- ・ 餌を食べなくなる
- ・ 手足が赤く腫れる
- ・ 尻尾の過度な充血
- ・ 手足の変腫・変形

治療・療養

- ・ ミネラル水飼育 (0.2~0.3%)
- ・ 1週間程度の薬浴・塩浴 0.5%

1. 抗炎症物質や再生・成長を  
促進する物質が分泌される

2. ミネラル水飼育(塩浴)・薬浴(抗生物質)  
による細菌数の減少  
(浸透圧上昇による効果、細菌の細胞膜破壊 など)

3. ミネラル(金属イオン)が  
粘膜(バリア)分泌を促進  
⇒ 再生中の傷口の化膿等を抑制



## 不安定な水温・水質が感染症を誘発する

表2: 飼育水中のバクテリア増殖に起因する水の濁りに関する調査

餌ペレット添加後 12hr				餌ペレット添加後 24hr				餌ペレット添加後 48hr			
	透明	半透明	白濁		透明	半透明	白濁		透明	半透明	白濁
淡水			○	淡水			○	淡水			○
0.15% ミネ水		○		0.15% ミネ水			○	0.15% ミネ水			○
0.2% ミネ水		○		0.2% ミネ水			○	0.2% ミネ水			○
0.3% ミネ水	○			0.3% ミネ水		○		0.3% ミネ水			○
0.5% ミネ水	○			0.5% ミネ水		○		0.5% ミネ水			○
1.0% 塩水	○			1.0% 塩水		○		1.0% 塩水		○	
3.0% 塩水	○			3.0% 塩水	○			3.0% 塩水	○		
8.0% 塩水	○			8.0% 塩水	○			8.0% 塩水	○		

### 【検証条件】

・新品のタッパー容量 2.6L (室温は18-20℃)

※ 生体抜き, 飼育水を2Lずつ回収, 塩水は淡水水槽由来の水を塩分濃度0%として新たに塩を添加して作製した。

・ ひかり ウーパールーパー小粒の10粒を添加

### 【結果・考察】

・ 餌の溶解だけでなく分解が見られると、一気に白濁する傾向が見られる。

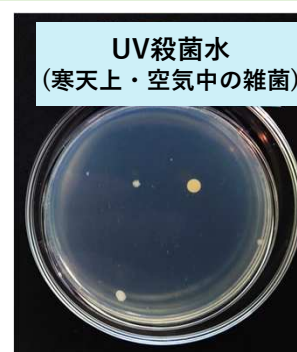
・ 炭水化物などを分解する水中の好気性バクテリア (バシラス類; 乳酸菌類や古菌類) が増加したと推察される。

・ 本結果からも改めて、塩浴がバクテリアに対して強い殺菌効果があることが分かる。

・ また本結果から、ミネラル水飼育はバクテリアの過剰な増殖を抑制し、水質の急激な悪化を抑制する効果があることが推察された。



## 不安定な水温・水質が感染症を誘発する



寒天培地上に飼育水を垂らし、雑菌やカビの繁殖したコロニー形成を観察した結果。  
⇒ 生体がいる水槽には雑菌が繁殖しており、室温24hr でも急激に増殖する。

基本組成: 麦芽エキス+寒天 (pH5.0±0.1)

本製品の粉末45.0g を 水1000mL 中へ加熱しながら混ぜて良く溶かし、  
無菌環境で十分に乾燥させる。

飼育水を垂らして25℃保温で24時間経過後、コロニーを観察した。





## 飼育水・底材・フィルター等に生着する細菌・微生物

性質・種類	学名	属・分類	備考
グラム陰性細菌	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. sobria</i>	エロモナス類	感染症の原因菌
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス類	感染症の原因菌
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス類	アンモニア硝化菌
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター類	亜硝酸酸化菌
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ類	腸内細菌
	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌
グラム陽性細菌	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌
	<i>B. subtilis</i>	枯草菌類	濾過バクテリア
藻類 (水苔)	<i>C. pediculus</i>	コッコネイス属	珪藻類
	<i>T. lacustris</i>	テトラスポラ属	緑藻類
	<i>M. willeana</i>	ミクロスポラ属	糸状緑藻類
真菌 (カビ)	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母
	<i>S. parasitica</i>	ミズカビ属	水質浄化, 増えすぎると 水カビ病の原因
	<i>A. prolifer</i>	ワタカビ属 (卵菌類)	
	<i>A. proliferoides</i>		
	<i>A. racemosa</i>		
	<i>A. cochlioides</i>	アフアノマイセス属 (糸状菌類)	

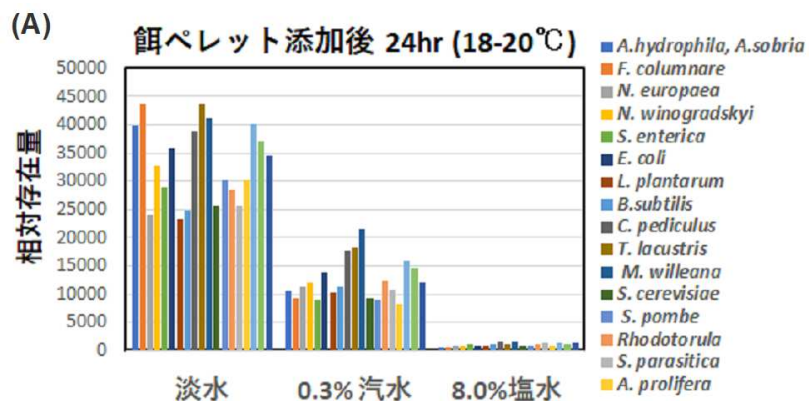
当ラボの飼育環境にて確認できた微生物の一部; 依頼分析で 18SrDNA にて存在を確認



## 不安定な水温・水質が感染症を誘発する

細菌類・・・淡水性のものが多い. 水槽の濾過に有益でも増えすぎると有害.  
カビ・コケ・・・耐塩性が高い. 低水温でも水や湿度が十分にあれば増殖可能.

⇒ 有機物 (食べ残しやフン) があるとこれらが増殖しやすい.



当ラボの飼育環境にて確認できた微生物の一部; 依頼分析で 18SrDNA にて存在を確認





## 不安定な水温・水質が感染症を誘発する

細菌類・・・淡水性のものが多い. 水槽の濾過に有益でも増えすぎると有害.  
カビ・コケ・・・耐塩性が高い. 低水温でも水や湿度が十分にあれば増殖可能.

⇒ 有機物 (食べ残しやフン) があるとこれらが増殖しやすい.

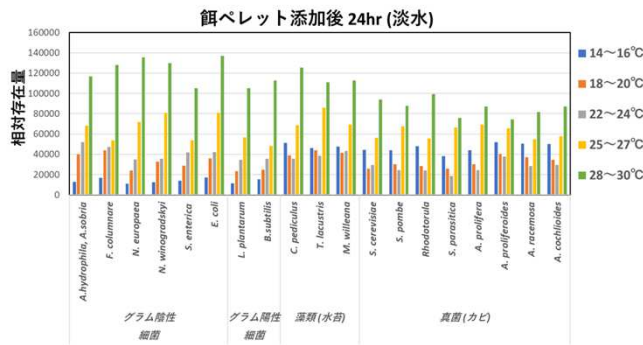


図1: 飼育水内微生物増殖の温度依存性 (淡水)

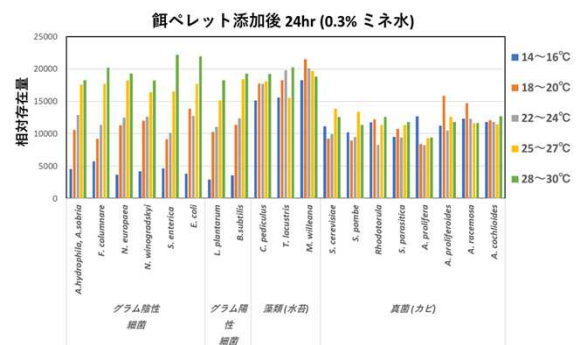
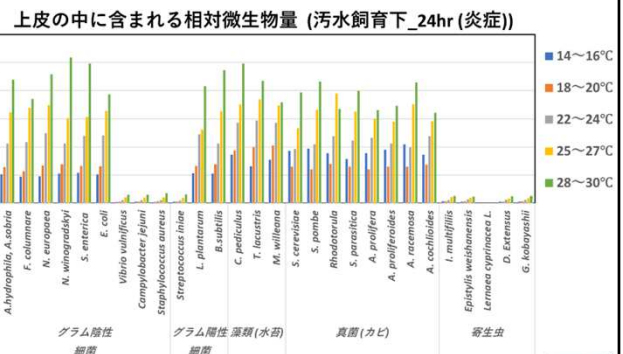
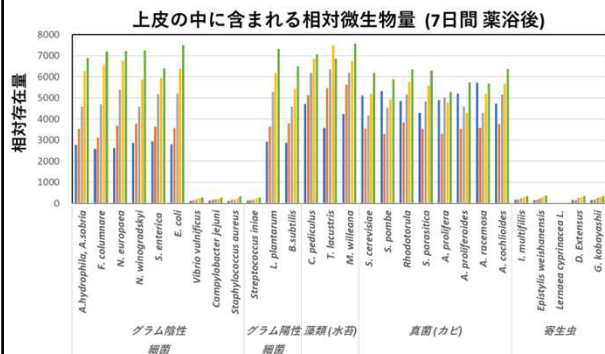
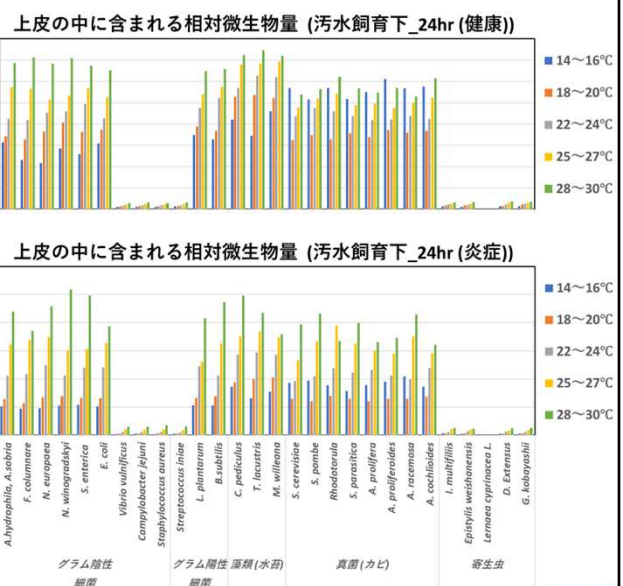
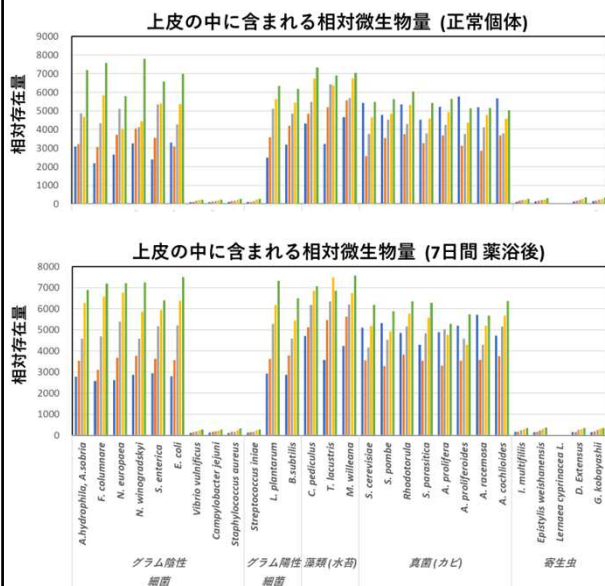


図2: 飼育水内微生物増殖の温度依存性 (汽水)

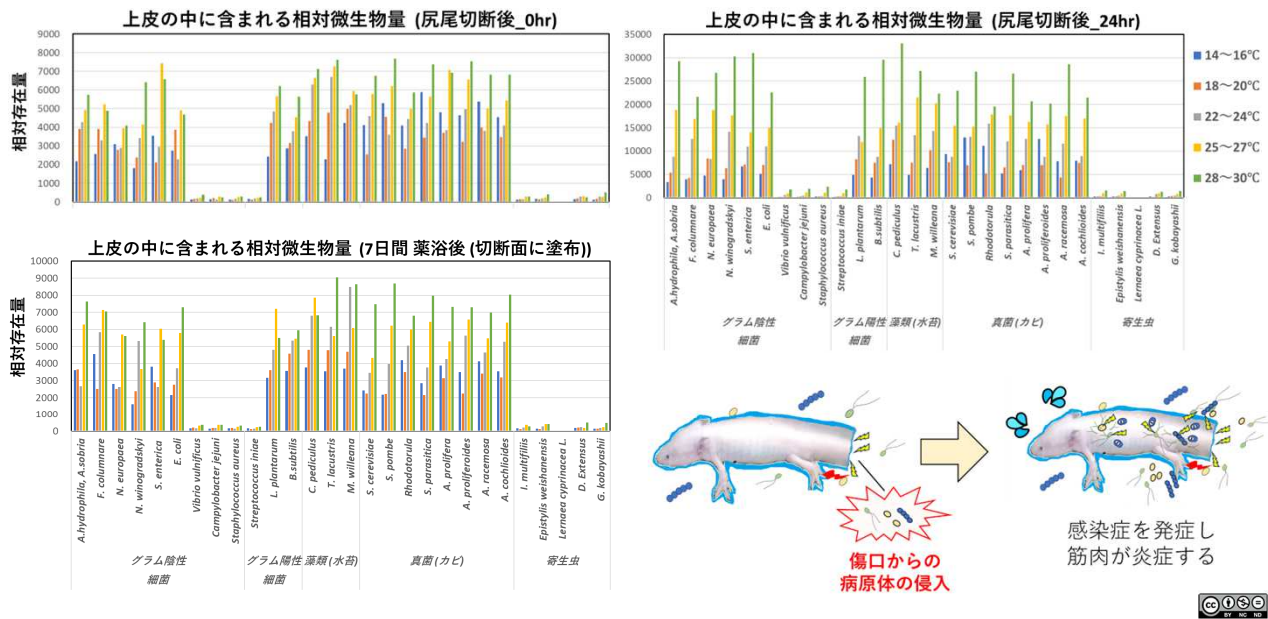
当ラボの飼育環境にて確認できた微生物の一部; 依頼分析で 18SrDNA にて存在を確認



## 損傷個体の上皮 (および 粘膜上) には病原体が多く付着する



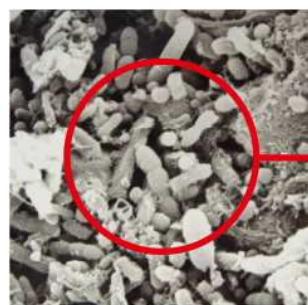
## 損傷個体の上皮 (および 粘膜上) には病原体が多く付着する



## 水槽内と腸内の細菌量を巧く制御しよう！

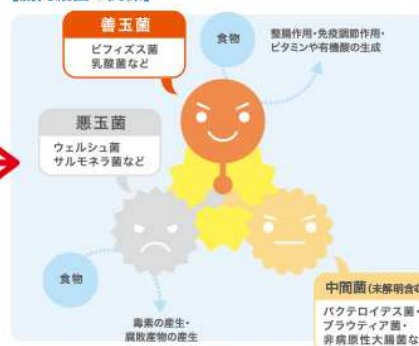
### 腸内フローラ(フロラ = 腸内細菌叢)

私たちの腸の中には数百~千種類、数百兆個以上の細菌がすんでおり、これらの腸内細菌は特に小腸の終わりから大腸にかけて多くすみ着いています。腸内細菌はそれぞれに小さな集合体をつくってお互いのバランスを取っていると考えられ、それを植物が群れている様子になぞらえて「フローラ(植物相)」と呼んでいます。



成人の糞便菌叢の電子顕微鏡写真

#### 【腸内細菌の関係】



**POINT!** 腸内細菌叢は善玉菌、悪玉菌および中間菌のせめぎあいです。

森永乳業HP <https://bifidus.jp/relation/>

底砂・底泥の中には**ヒューミン(腐食酸)**と  
**分解者(濾過バクテリア・真菌類・藻類など)**が存在する

フルボ酸は有限資源？

フルボ酸は、自然界では微量にしか生産されない貴重な資源で、通常は腐植土層に多く存在します。  
腐植土層とは、森林生態系において地上部の動植物により生産された有機物が堆積し、微生物により分解されて土状になったものです。  
自然界では1cm形成するのに100年の時間を要します。尚、厳密には土ではありません。

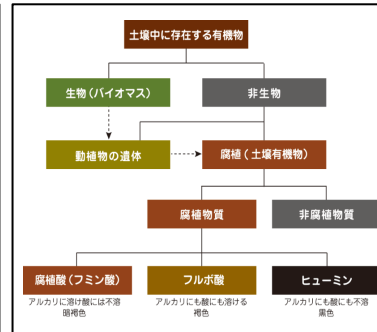
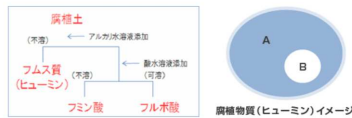


この腐植土の中で、微量にしか生産されないものが「フルボ酸」です。

【フルボ酸とフミン酸の違い】

フルボ酸とフミン酸はともに腐植物質(ヒューミン)といわれ、有機物質、特に植物の分解で作り出されます。どちらもキレート力(つかむ力)がありますが、その能力には雲泥の差があり、フルボ酸がキレート能力でミネラルやアミノ酸を選び、さらに過剰なミネラルを排出する働きがあることに比べ、フミン酸には一過性の単発能力しかありません。

A: フミン酸  
アルカリ水溶液中に可溶するアルカリ物質で、色が濃く暗色物質といわれる。  
B: フルボ酸  
酸性溶液中に可溶性酸性物質で、土壌では「金にも勝る物質」と言われるほど希少価値が高く、黄金色に輝く黄金物質。キレート力にも優れ、フミン酸に比べ効果が高い。



<https://furubo.net/fuly>  
jp/

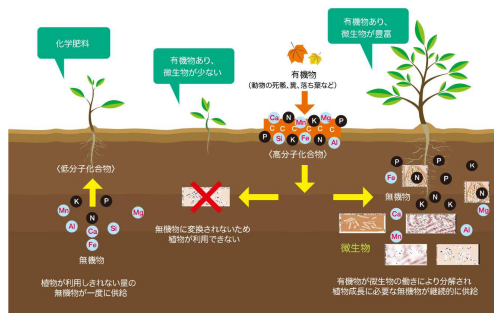
フミン酸・フルボ酸とは | 株式会社ケーツーコ  
コミュニケーションズ (keitwo.co.jp)



底砂・底泥の中には**ヒューミン(腐食酸)**と  
**分解者(濾過バクテリア・真菌類・藻類など)**が存在する

土壌においても水中においても、微生物が有機物を分解し、  
無機イオンや窒素源を生成し、自然界で循環させる働きを持つ。

土壌微生物による有機物の分解



立命館大学活動報

<https://www.ritsumei.ac.jp/research/radiant/gastronomy/story5.html/>

水中の硝化バクテリアを介した  
有機物分解後の窒素源の循環

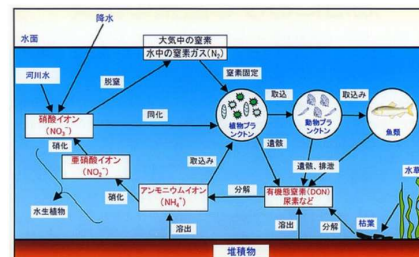


図 湖沼における窒素循環の模式図



飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している  
＝腸内細菌

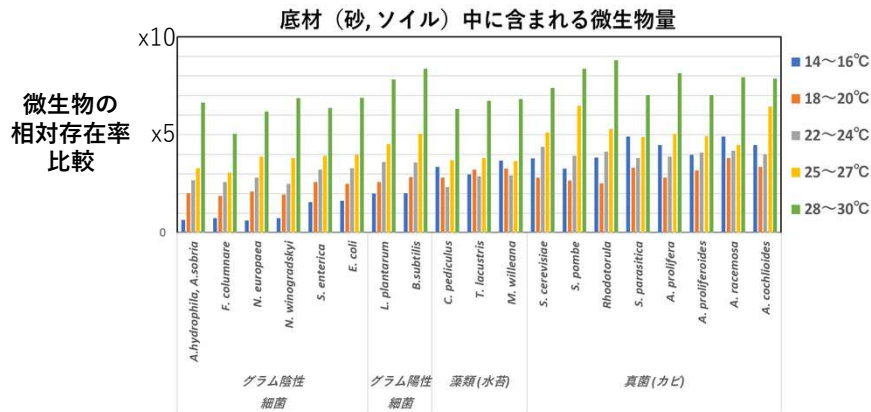
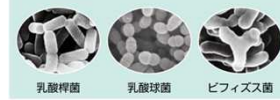


上清や底砂を  
回収し、  
濾し出す。

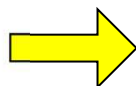


18SrDNA 等に注目し  
存在する微生物の種類を同定

代表的な乳酸菌



飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している  
＝腸内細菌

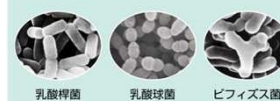


糞を回収し  
濾し出す。



18SrDNA 等に注目し  
存在する微生物の種類を同定

代表的な乳酸菌



腸内乳酸菌の効果・恩恵

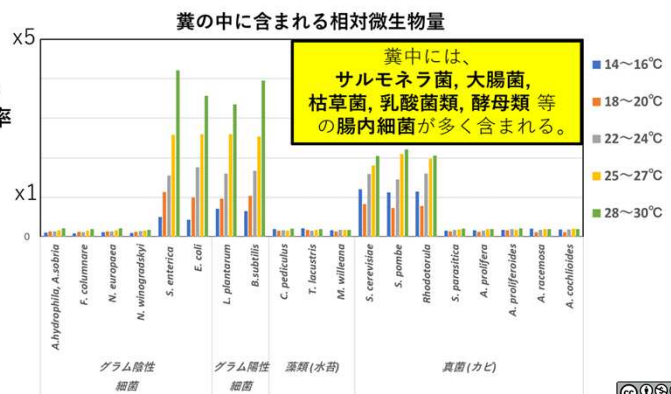
神経ペプチドNPYの分泌促進

↓  
良質な睡眠へ繋がる

↓  
成長を有意に促進する  
(乳酸菌が死んでいても効果あり)

※ 活きた乳酸菌が増えれば、  
有害な常在菌数を減らせる。

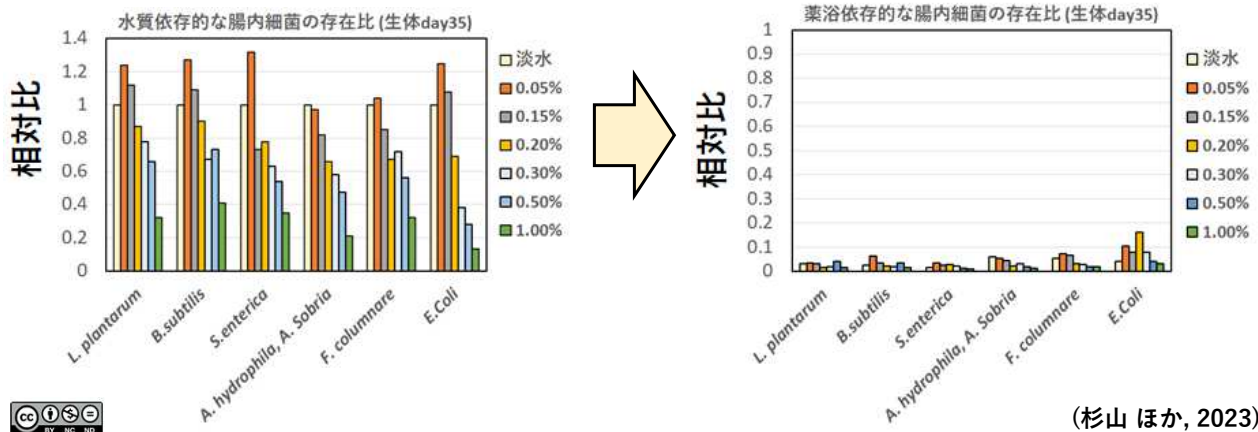
微生物の  
相対存在率  
比較





塩浴 + 薬浴によって腸内細菌の数も大きく減少する  
⇒ 浮遊病などの対策として有効である！

## 水槽内と腸内の細菌量を巧く制御しよう！



下処理が不十分な生餌を与えるのは危険！

(A) 健康な頃 (アカムシや固形餌で飼育)



(B) 衛生的に良くなかったと思われるマグロを摂食した場合 (数か月経過後)

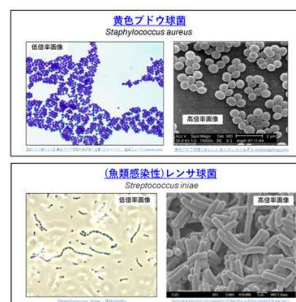
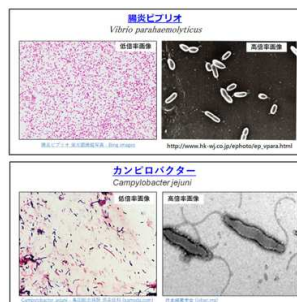


(杉山 ほか, 2023)

性質・種類	学名	属・分類	備考
グラム陰性細菌	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. sobria</i>	エロモナス属	感染症の原因菌
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス属	感染症の原因菌
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス属	アンモニア硝化菌
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター属	硝化菌硝化菌
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ属	腸内細菌
	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌
グラム陽性細菌	<i>Vibrio vulnificus</i>	腸炎ビブリオ	吐き戻しの原因 (好塩細菌)
	<i>Campylobacter jejuni</i>	カンピロバクター属	肉類に付着 (耐塩細菌)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	黄色ブドウ球菌	皮膚の化膿・嘔吐など (耐塩細菌)
	<i>Streptococcus iniae</i>	レンサ球菌	細菌性赤痢、腎臓や脾臓の腫れ、心外膜炎など
藻類 (水苔)	<i>L. planarum</i>	緑藻類	藻類
	<i>S. subtilis</i>	枯草菌	藻類バクテリア
	<i>C. pediculus</i>	コッコネイス属	緑藻類
	<i>T. lacustris</i>	テトラスボラ属	緑藻類
真菌 (カビ)	<i>M. willemsii</i>	ミクロスポラ属	糸状菌藻類
	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母
真菌 (カビ)	<i>S. parasitica</i>	ミズカビ属	水質浄化
	<i>A. proliferans</i>	ワタカビ属 (卵菌類)	増えすぎると
	<i>A. racemosa</i>		水カビ病の原因
	<i>A. cochlioides</i>	アファノマイセス属 (糸状菌類)	

市販の刺身から検出される有害な雑菌類 (塩にも強い)

水槽中で雑菌が繁殖し感染症を引き起こすリスクを念頭に置くこと



## 水質をキレイに保つには？

- ・ **フィルターの強化・換水量や頻度の増加**

※ 外掛けでは不十分. 外部/上部+投げ込み/底面 を推奨.

- ・ **水槽の壁面・フィルターや底材の定期的な掃除**

※ 微生物は必要だが、増えすぎないように注意!

- ・ **定期的な汽水環境への変更**

※ 0.15～0.2% 程度の汽水環境と淡水を10日程度で往復させる.



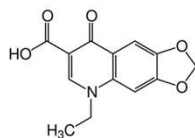
### 症例1 (グラム陰性菌感染とその治療・対策)

金魚用の網を介して感染  
(エロモナス症と推察)

23/12/30



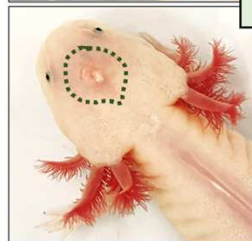
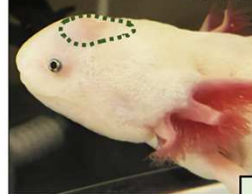
情報提供:  
ゆりにゃんママ 様  
@YURINYAN\_mama



抗生物質: オキシリン酸塩  
(濃度 1/5000～1/10000)  
にて薬浴。+ 毎日換水。  
および 患部へ現役を塗布。

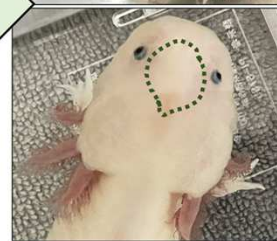
治療開始から  
約1ヶ月経過後

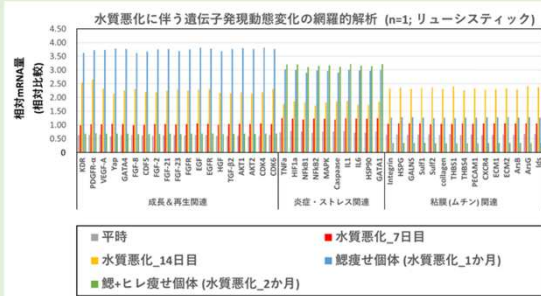
24/1/27



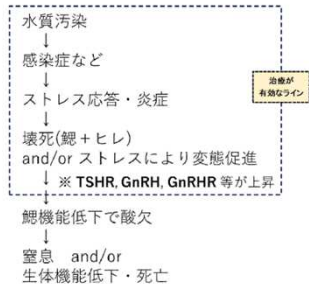
治療開始から  
3か月経過後 (ほぼ完治)

24/3/20

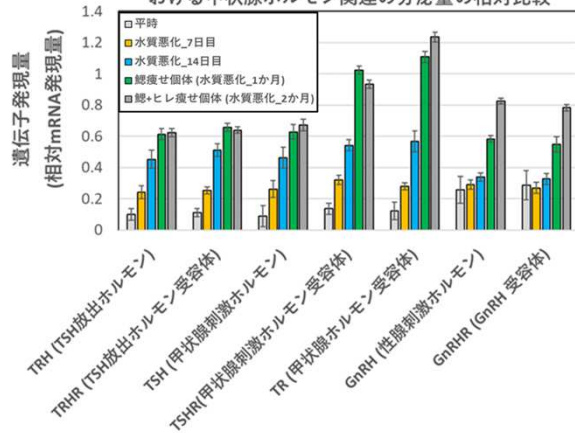




#### <環境悪化によるストレスと変態促進の機構>



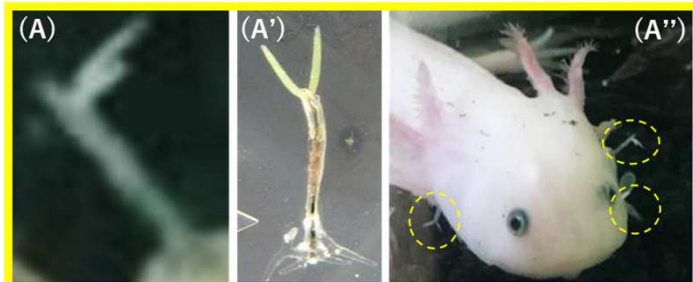
#### 水質悪化時のメキシコサラマンダー (リュウシ) に おける甲状腺ホルモン関連の分泌量の相対比較



**症例2:** 水質汚染などのストレス蓄積の結果、上陸してそれらを回避しようとするためか、成熟化が部分的に促進されてしまい、結果的に寿命をさらに縮めてしまう場合がある。



#### 症例3 (イカリムシ症とその治療・対策)



#### カネシヨウ 殺虫剤 デミリン水和剤 100G (アグロカネシヨウ)

##### 組成

有効成分: ジフルベンズロン  
[1-(4-クロロフェニル)-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)尿素] 23.5%  
その他成分: 鉱物質微粉、  
界面活性剤等 (PRTR・1種 ポリ(オキシエチレン) -ノニルフェニルエーテル1.0%) 76.5%  
登録番号: 第16864号  
性状: 類白色水和性粉末63μm以下

(杉山, 2023)

#### イカリムシ・ウオジラミ等、甲殻類系の寄生虫に有効な治療薬の例

これらの確実な駆除には、デミリンという農薬にも用いられる薬品が有効である。一般に入手可能であるが、粉塵が舞うため、水に混ぜる際に吸気などをしないように注意をして欲しい。このデミリンの粉末は水には溶けないため、予め水に混ぜ、希釈したものを何段階かに分けて希釈すると良い。1000倍希釈であり、かなり薄い濃度でも効果が見られる。家庭用の電子天秤等で秤量後、何段階か希釈すると効率的である。

ミネ水と併用し、1~2か月継続すれば、ほぼ再発の可能性は無い。不安であれば3~4か月継続すると良いかも。ただし、体調を崩した個体に関しては、デミリンを除去した環境へとなるべく早く移動させる点に注意。



## 症例4 (血管肥大の治療 &amp; 治療痕の消毒)

鰓の毛細血管の肥大→外鰓からの飛び出し  
(血管壁細胞の肥大→血液循環量の増加→血管壁の圧迫)



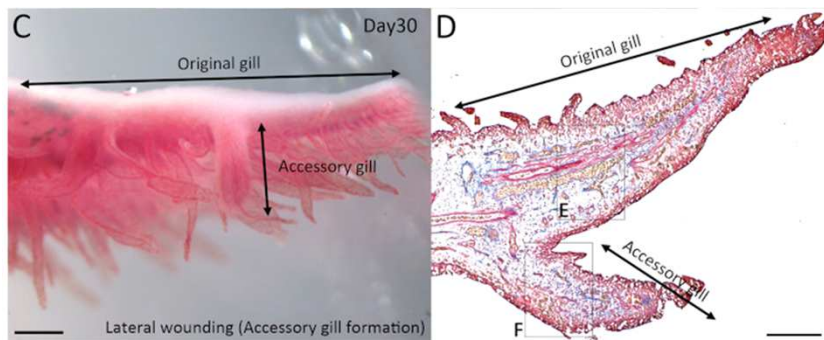
外科的に肥大血管の脱圧  
(減菌済み鉗で軽く切れ込みを入れて血を抜く)



傷口の層毒・化膿防止



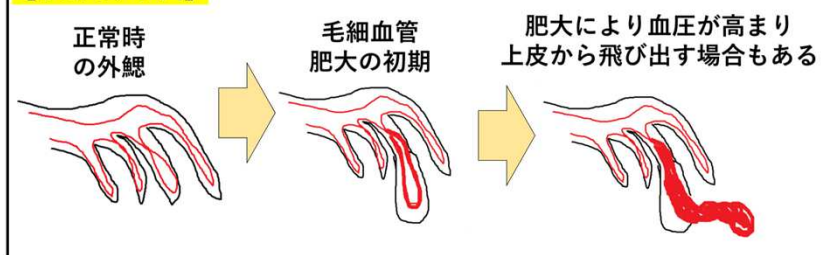
予後の経過・・・良好だが慎重に診ていく  
(血管肥大の緩和→外鰓形状の回復)



(Saito et al., Dev. Biol., 2019)

[Fgf- and Bmp-signaling regulate gill regeneration in Ambystoma mexicanum - ScienceDirect](#)

## 【予想モデル図】

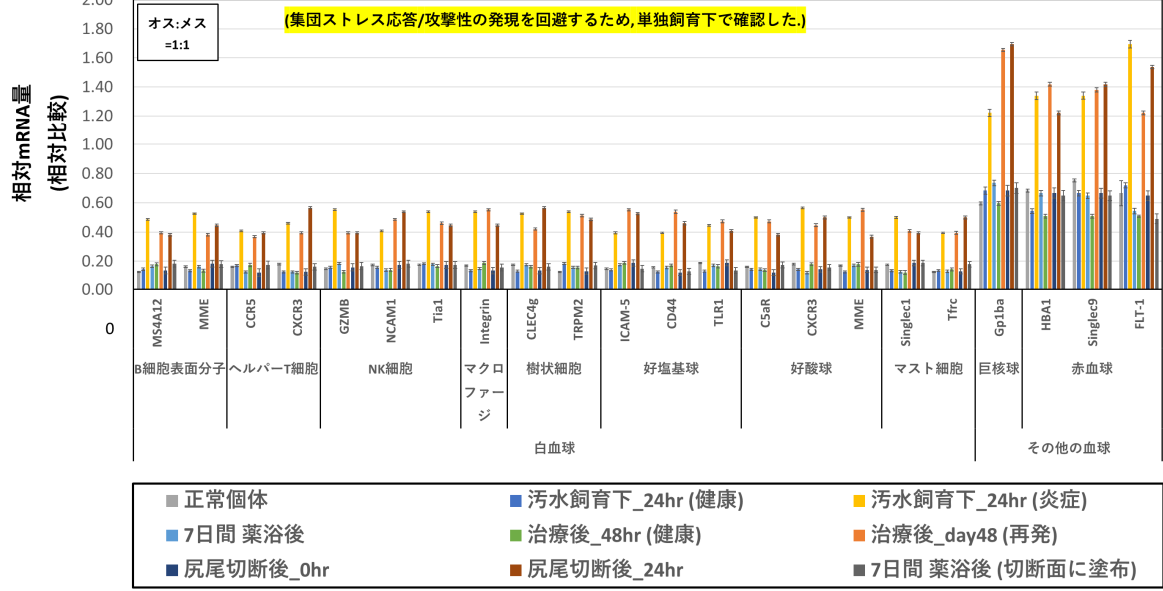




KDR, PDGFR- $\alpha$ , VEGF-A, Yap, GATA4, FGF-8, GDF5, FGF (FGF2, 21, 23), FGFR, EGF, EGFR, TGF- $\beta$  2, HGF (Hepatocyte Growth Factor), AKT1, AKT2, CDK4, CDK6

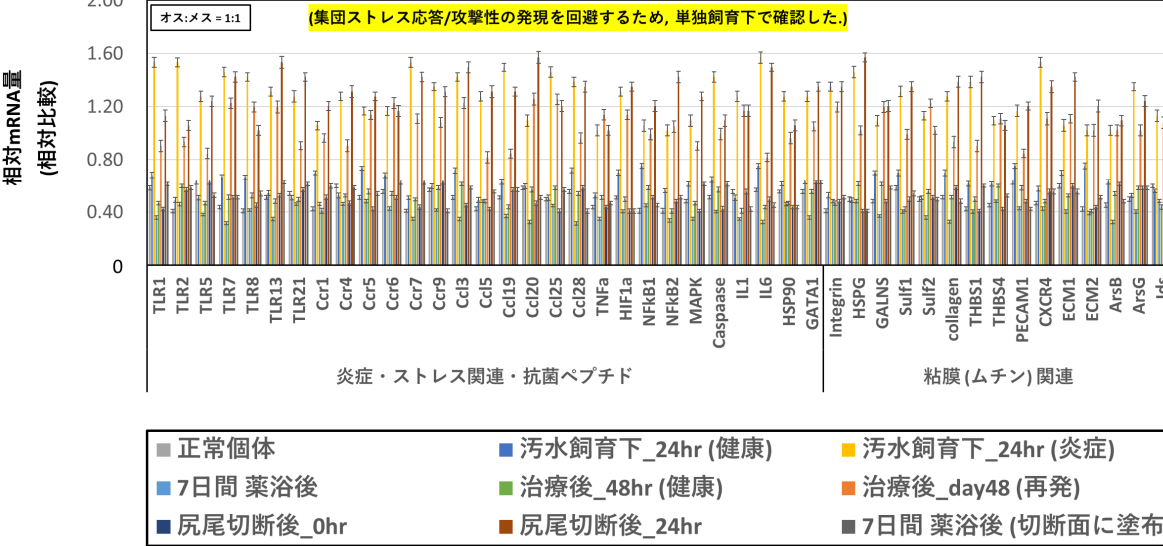
# 最新報告: アホロートルにおける免疫機構の解明

正常個体 / 炎症あり個体 における血球関連遺伝子発現動態の網羅的解析 (day35\_繁殖前個体, n=20)



# 最新報告: アホロートルにおける免疫機構の解明

正常個体 / 炎症あり個体 における血球関連遺伝子発現動態の網羅的解析 (day35\_繁殖前個体, n=20)

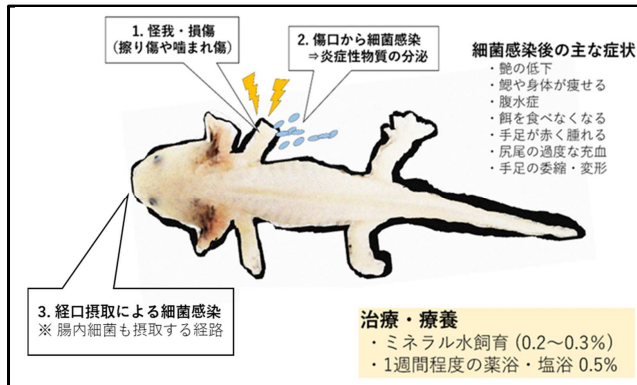


※ 尻尾切断後: 損傷個所周辺の上皮で確認

## まとめ: アホロートルの疾患と治療について

推奨する  
感染症対応

汽水飼育 + オキシリン酸薬・ポピドンヨード浴  
による感染症治療 & 免疫力の強化



(杉山 ほか, 2022-2023)



## 謝辞



ご清聴ありがとうございました！



### 本プロジェクトに従事したメンバー

- ・ 杉山 遥 代表・主任研究者
- ・ 横江 諄衡 客員研究員
- ・ F.N. 三太子 技術員
- ・ 枝豆 やみん 研究員
- ・ 萩原 和晃 研究員
- ・ あすみ 悠 研究員
- ・ 共同研究員の皆様
- ・ SNS フォロワーの皆様
- ・ 他、ウーパールーパー従業員一同



CC-BY-NC-ND;  
本資料の許可なき改変・売買・再配布禁止.







## 参考文献

[1]. 【2P-757】 メキシコサンショウウオの疾患病原 および それらの最適な治療法に関する調査報告  
(24 年\_第 47 回 日本分子生物学会年会\_発表内容①)

F.N 三太子, 杉山 遥, 萩原 和晃, 枝豆 やみん, あすみ 悠

2024 年 11 月 9 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

[2]. 【2P-694】 メキシコサンショウウオにおけるセロトニンおよび側線器官を介した密度依存的な  
成長制御機構の解明

(24 年\_第 47 回 日本分子生物学会年会\_発表内容②)

杉山 遥, F.N. 三太子, 竜岡 龍騎, 阿保朗 太郎, 横江 諠衡

2024 年 11 月 9 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

[3]. 【研究発表】 アホロートルにおける糖代謝と硫黄呼吸  
(第 95 回\_日本動物学会\_長崎大会)

杉山 遥, 竜岡 龍騎, 高橋 慶, 阿保朗(郎) 太郎

2024 年 9 月 14 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

[4]. 【活動報告】 超異分野学会・関西・大阪大会

あすみ 悠, 杉山 遥

2024 年 8 月 31 日 最終著者, 責任著者

[5]. 【参考資料】 魚類の“背曲がり(せまがり)”異常・変異について

あすみ 悠, 杉山 遥

2024 年 8 月 14 日 最終著者, 責任著者

[6]. 【資料】 ウーパールーパーレスキュー活動報告・情報共有

杉山 遥, FN 三太子, 枝豆 やみん, 萩原 和晃, あすみ 悠

2024 年 7 月 6 日 最終著者, 責任著者

[7]. 育たないウーパールーパーの秘密を解明！

(はるらぼ会報誌\_ウーパールーパーだより vol 6.0)

杉山 遥, 竜岡 龍騎, あすみ 悠, 阿保郎 太郎

2024 年 6 月 27 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

[8]. 超異分野学会 2024 大阪・関西大会 演題登録内容

杉山 遥, F.N. 三太子

2024 年 5 月 17 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

[9]. 超異分野学会 2024 岡山・中四国大会 演題登録内容

杉山 遥, F.N. 三太子

2024 年 5 月 7 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

[10]. 【クラウドファンディング】

ウーパールーパーを守る！メキシコ・ソチミルコ湖の環境改善プロジェクト。

ハルラボ × CAMPFIRE. 2024 年 4 月 23 日.





## 【日本動物学会\_第 96 回名古屋大会\_登録内容 1】

有尾両生類の遊泳能力と生存戦略に関する考察

Considerations on swimming ability and survival strategies of arctic amphibians.

登録日: 2025 年 5 月 2 日

著者: ○杉山 遥<sup>1</sup>; 横江 誼衡<sup>1,4</sup>, 竜岡 龍騎<sup>3</sup>, 阿保朗 太郎<sup>2</sup>

所属: 1. ハルラボ<sup>※</sup>, 2. ハルラボ・ファーム, 3. トラフサンショウオラボ, 4. サイマンテクノロジー<sup>※※</sup>

※ 代表: 杉山 遥 [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com) ハルラボ X: [@lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)

代表研究者詳細: 研究者ポータルサイト Research map ([https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl?lang=ja](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl?lang=ja))

※※ 代表: 横江 誼衡 サイマンテクノロジー X: <https://x.com/SciMounTech>

会社 HP (<https://scimoun-technology.com/>)

### 【導入 Introduction】

メキシコ原産のサンショウウオであるメキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*, 以下, アホロートル) は, 現在絶滅の危機に瀕している.

その一方で, 世界中で愛玩動物として広く流通しているアホロートルの品種 "ウーパールーパー" が有名であるものの, 原種の個体数の減少や生息環境の歴史的な変化に伴い, その生態については未解明な部分が多いのが現状である.

当ラボにおけるこれまでの調査において, 集団行動の重要性や制御機構・他個体の認識機能について明らかとしてきた. [1-3]

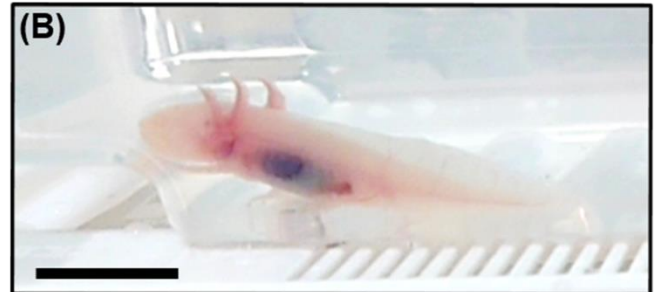
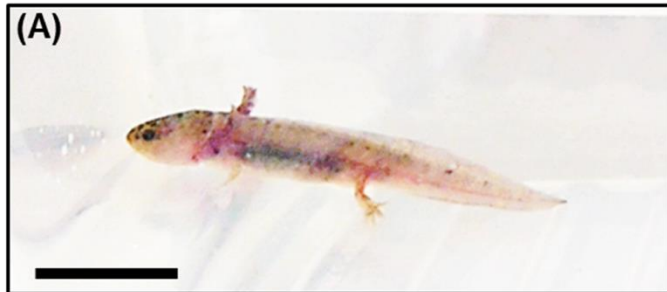
これらの集団行動において, 闘争・逃避行動時の運動性は非常に重要であり, 遊泳能力の高さは必要不可欠である.

このような遊泳能力を発揮する上で, 水をかき分ける運動性が重要となり, アホロートルのような有尾両生類の場合は尾部の運動性に大きく依存している. [4-13]

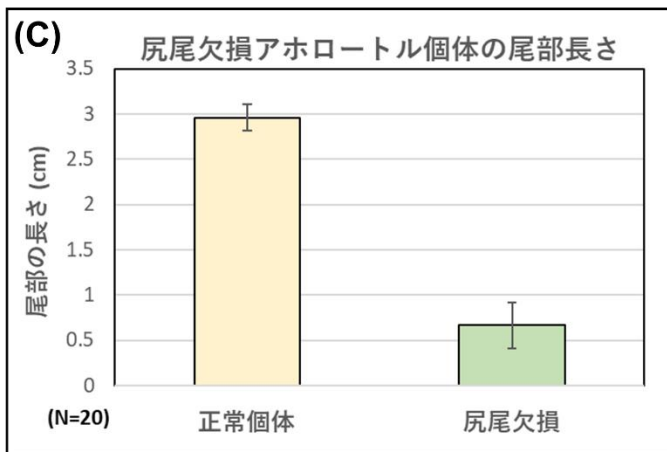
我々はこうしたアホロートルの尾部の運動性に注目し, 流動体力学的な観点から, 尾部の長さや動きが遊泳能力にどのような影響を及ぼすか調査・記録を行った.

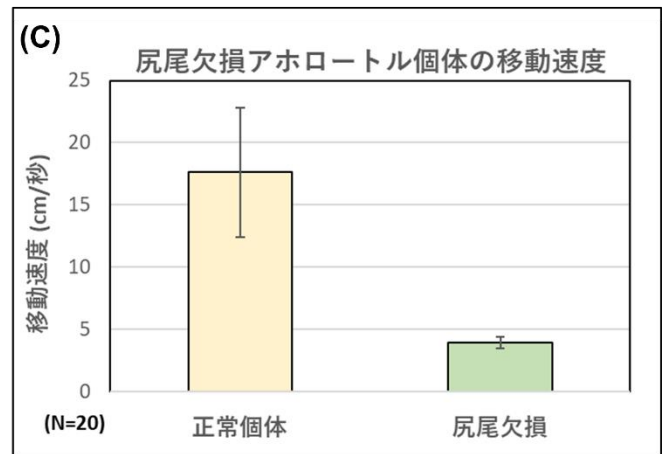
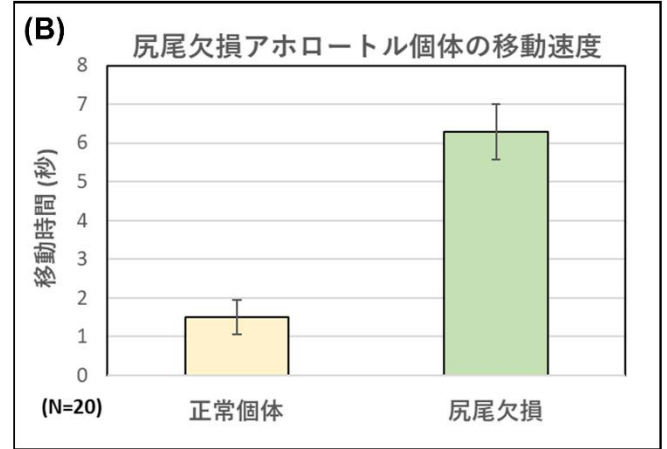
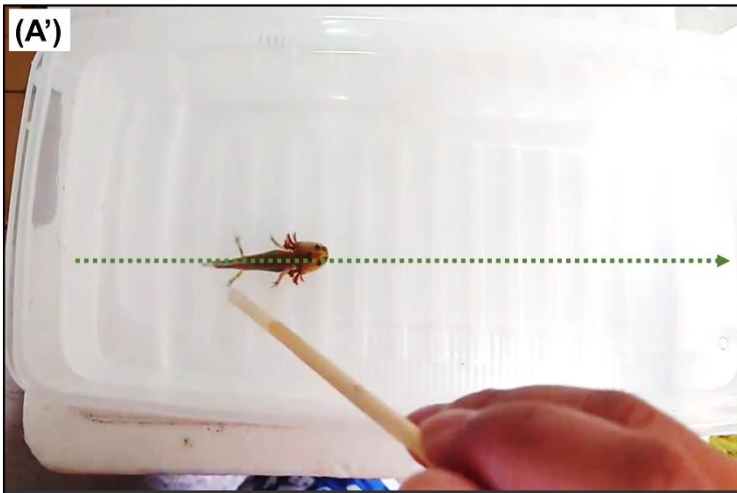
## 【結果（検証中，論文執筆内容の結果の一部を掲載）】

尾部を共食い等で欠損してしまった個体を用いて測定した data を集計した。

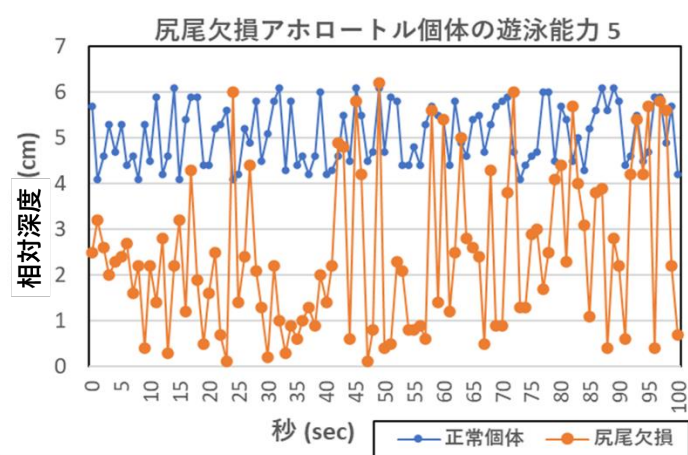
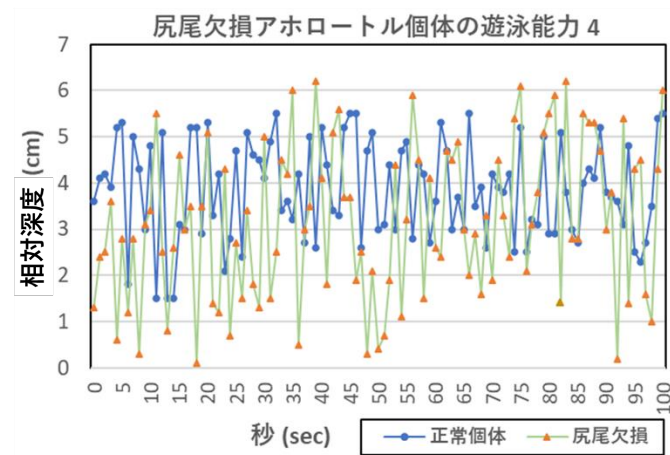
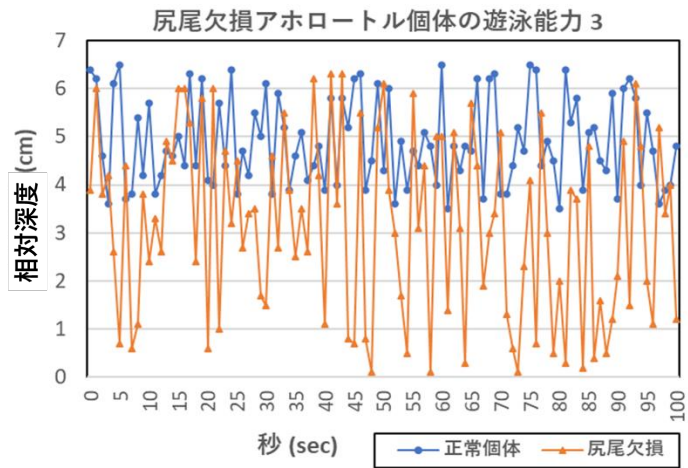
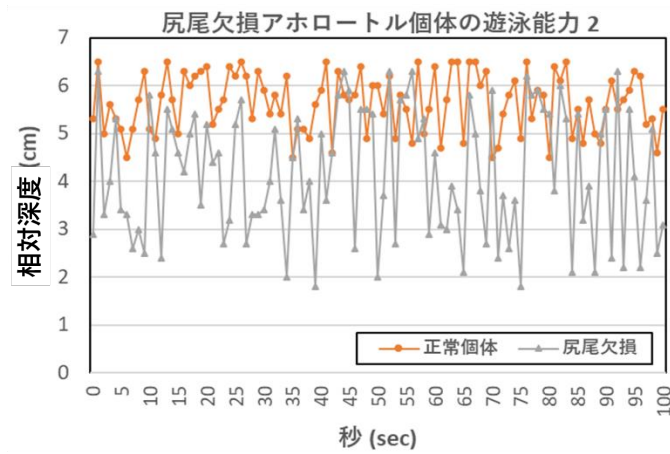
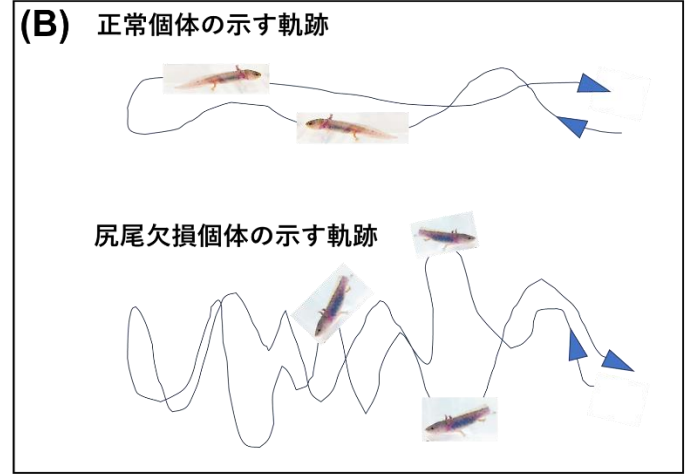
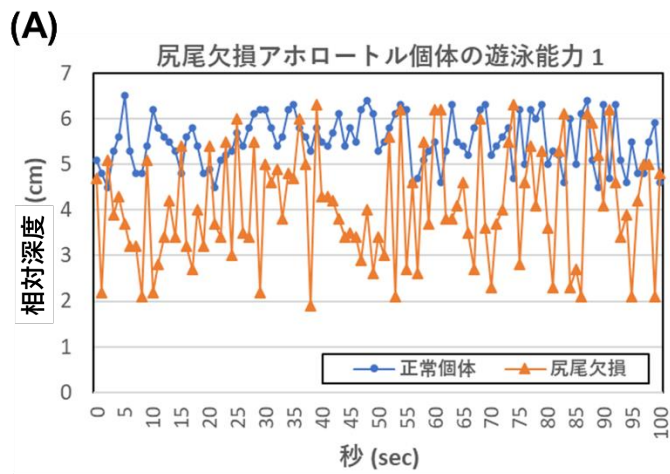


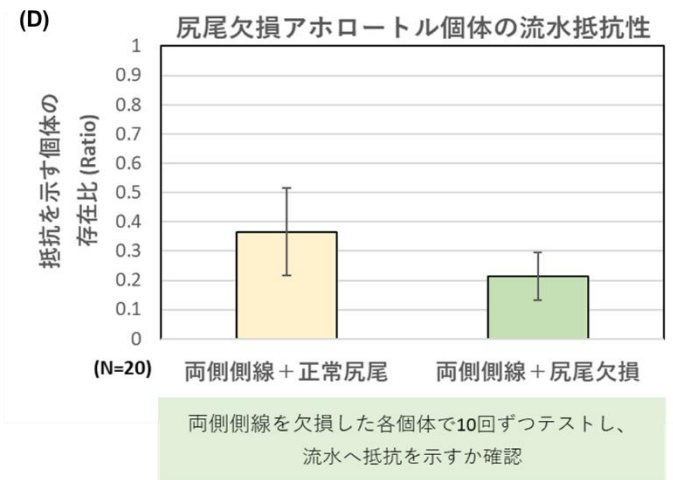
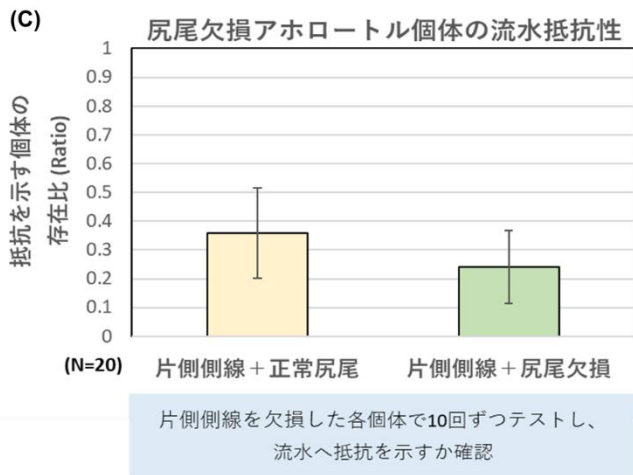
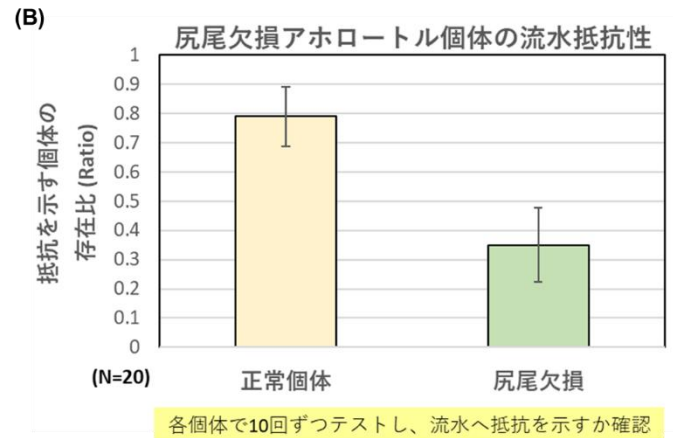
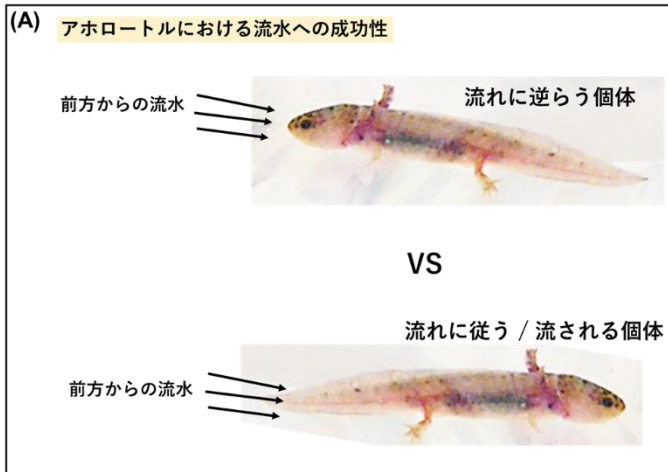
Scale bars: 20mm



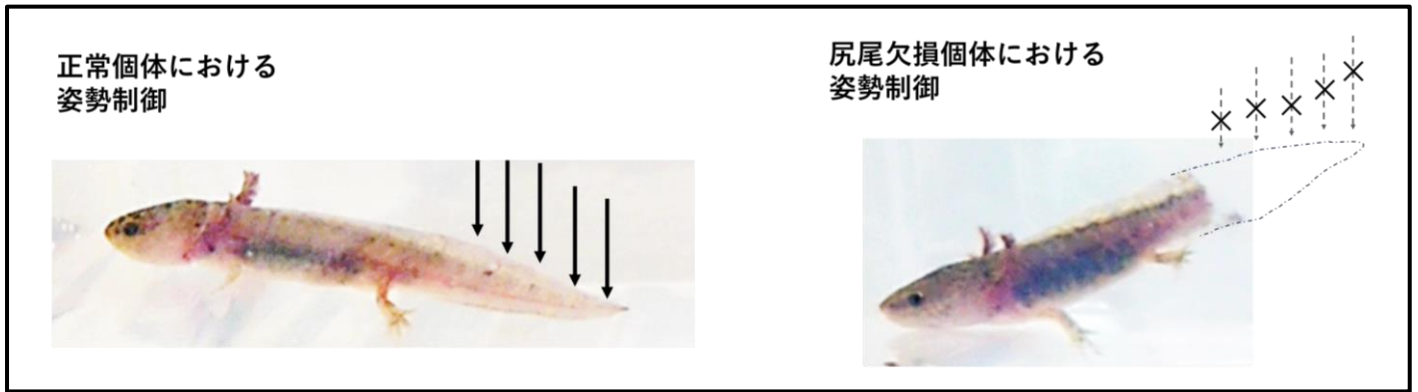




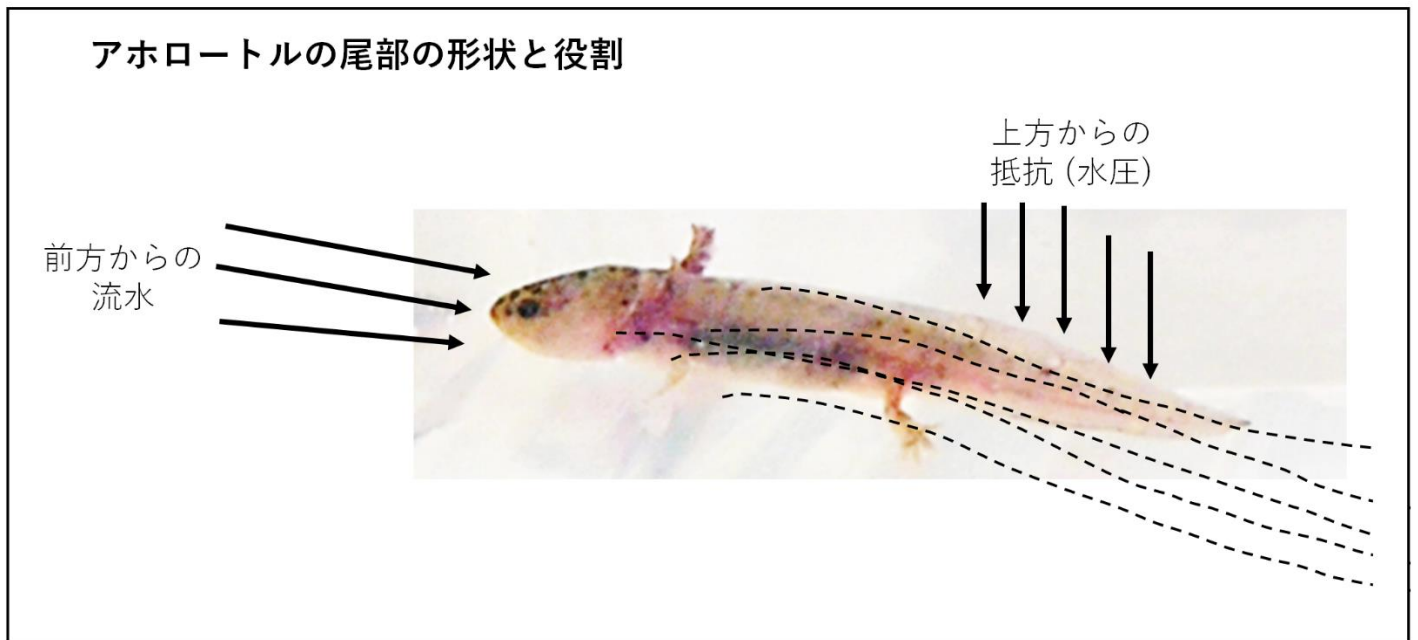




(A)



(B)



アホロートルにおける尾部の持つ役割に関する予想モデル図

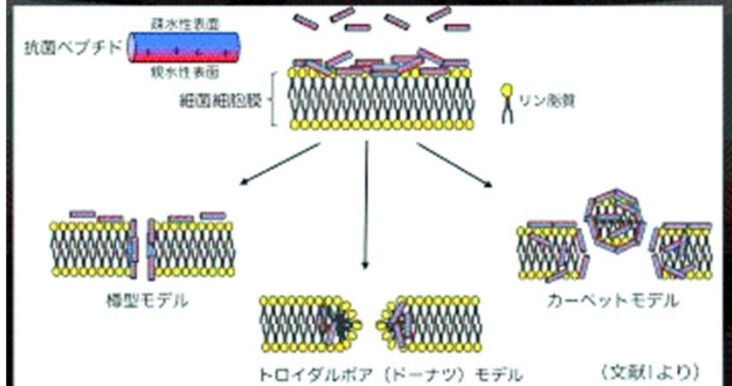


## 抗菌ペプチド：魔弾の正体

- 種々の細菌・真菌類に対して広範囲に作用し、殺菌もしくは増殖抑制（静菌）効果を示す。
- 微生物から昆虫、魚類や哺乳類まで、広く、多くの生物種に存在する。
- 遺伝子発現は全身的に検出できるが、両生類では特に皮膚で強く発現し、またペプチドレベルでも大量に存在する。
- “抗菌ペプチド特有”のコンセンサス配列はないが、十～数十アミノ酸残基から構成され、疎水性のLeuやIleを含み両親媒性であるとともに、LysやArgを含み正電荷を帯びている。

06

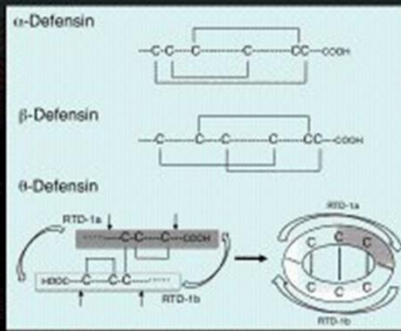
## 抗菌ペプチドによる細菌細胞膜の破壊作用機序



08

## DefensinとCathelicidin

- とともに代表的な抗菌ペプチド。Defensinは植物にも存在する。
- SS結合をもつDefensin、直鎖状であるCathelicidin。
- しかし、両生類ではともにほぼ出番なし。独自の路線をいく。

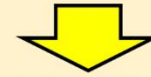


（文献1より）

11

## 抗菌ペプチド“Defensin”関連因子

DEFB, DEFB, **Ccr**, **TLR**



**CCR: C-C Motif Chemokine**

[CCR related genes - GeneCards Search Results](#)

[Axolotl Ccr: Ccr1, 4, 5, 6, 7, 9](#)

**CCL: C-C Motif Chemokine Ligand**

[CCL related genes - GeneCards Search Results](#)

[Axolotl Ccl: Ccl3, 5, 19, 25, 28](#)

**TLR: Toll Like Receptor**

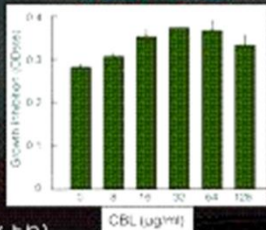
[TLR related genes - GeneCards Search Results](#)

[Axolotl TLR: TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21](#)

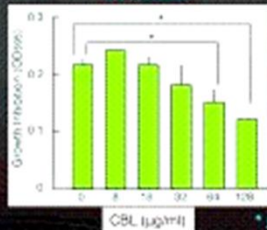
## ウシガエル抗菌ペプチドの例: catesbeianalctin (CBL)

### CBLの抗菌活性

vs 黄色ブドウ球菌

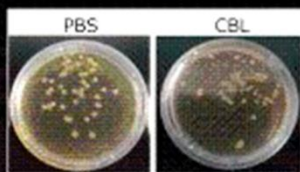


vs 大腸菌



\*  $p < 0.05$

（文献6より）

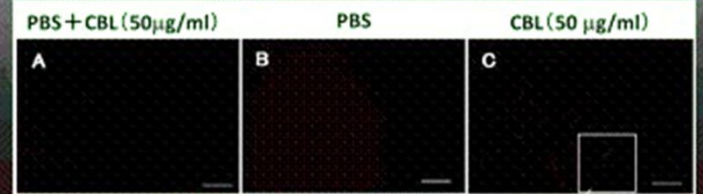


ペプチド処理後に菌が生える  
↓  
菌は生きているので静菌的に作用

22

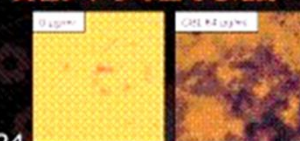
### CBLによる大腸菌凝集作用

+ 大腸菌



CTCで生きた大腸菌を赤い色に標識。

黄色ブドウ球菌でも確認



（文献7より）

CBLは細菌を1箇所に集め、他の抗菌ペプチドとともに、攻撃する！

24

両生類は魔弾の射手 | 生物学科 | 東邦大学 (toho-u.ac.jp)

両生類における抗菌ペプチドによるバリア

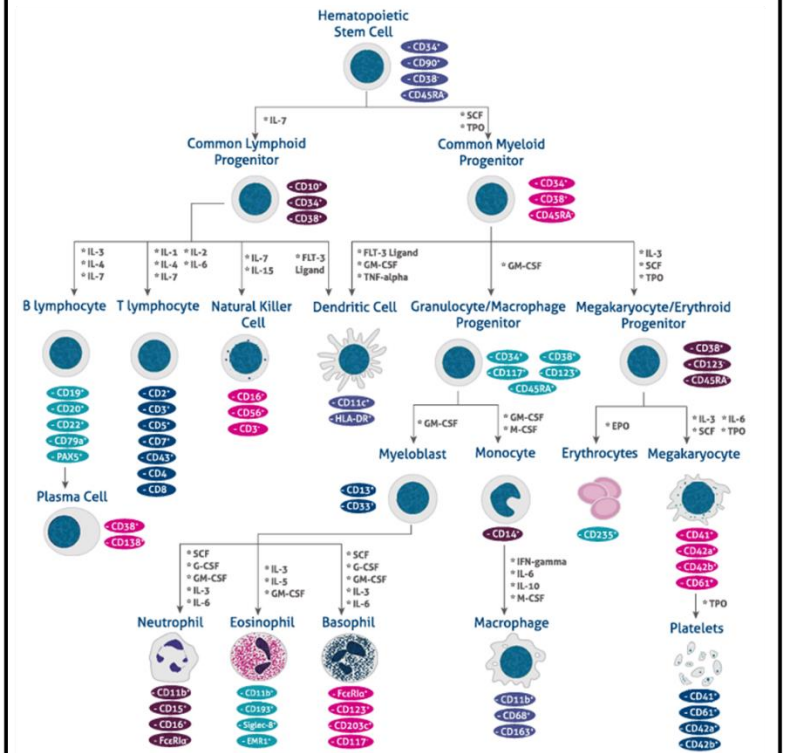


## 【免疫細胞の関連因子一覧】

※ ヒトとアホロートル間の比較

B細胞表面分子		MS4A12, MS4A15
T細胞 マーカー	■ ヘルパーT細胞	MME
		CCR5
		CXCR3
	■ NK細胞	Integrin
		GZMB
		NCAM1
白血球   単球マーカー	■ マクロファージ	Tia1
	■ 樹状細胞	Integrin
		CLEC4 (g/e/f/m/g)
白血球   顆粒球マーカー	■ 好塩基球	TRPM2
		ICAM-5
	■ 好酸球	CD44
		TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21
	■ 好中球	C5aR
		CXCR3
その他	■ マスト細胞	C5aR
		MME
		Singlec 1, 9, 11, 15
	■ 巨核球	Integrin
		Tfrc
	■ 赤血球	Gp1ba
		Integrin
	■ 骨髄由来免疫抑制細胞	HBA1
		Integrin
		Singlec 1, 9, 11, 15
		FLT-1
		ortholog (相同因子)
		related genes (関連因子)

## 参考: ヒトの免疫細胞とそのマーカー



免疫細胞マーカー | リンパ球、単球、顆粒球で発現するタンパク質の抗体を紹介 | コスモ・バイオ株式会社 (cosmobio.co.jp)

## 両性類における免疫マーカー

## 炎症・ストレス関連因子

TNF $\alpha$ , HIF1 $\alpha$ , NF $\kappa$ B, MAPK, Caspaase, IL (1, 6), HSP90, GATA1

## 抗菌ペプチド

Ccr (Ccr1, 4, 5, 6, 7, 9), Ccl (Ccl3, 5, 19, 25, 28), TLR (TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21)

## 粘膜 (ムチン) 関連因子

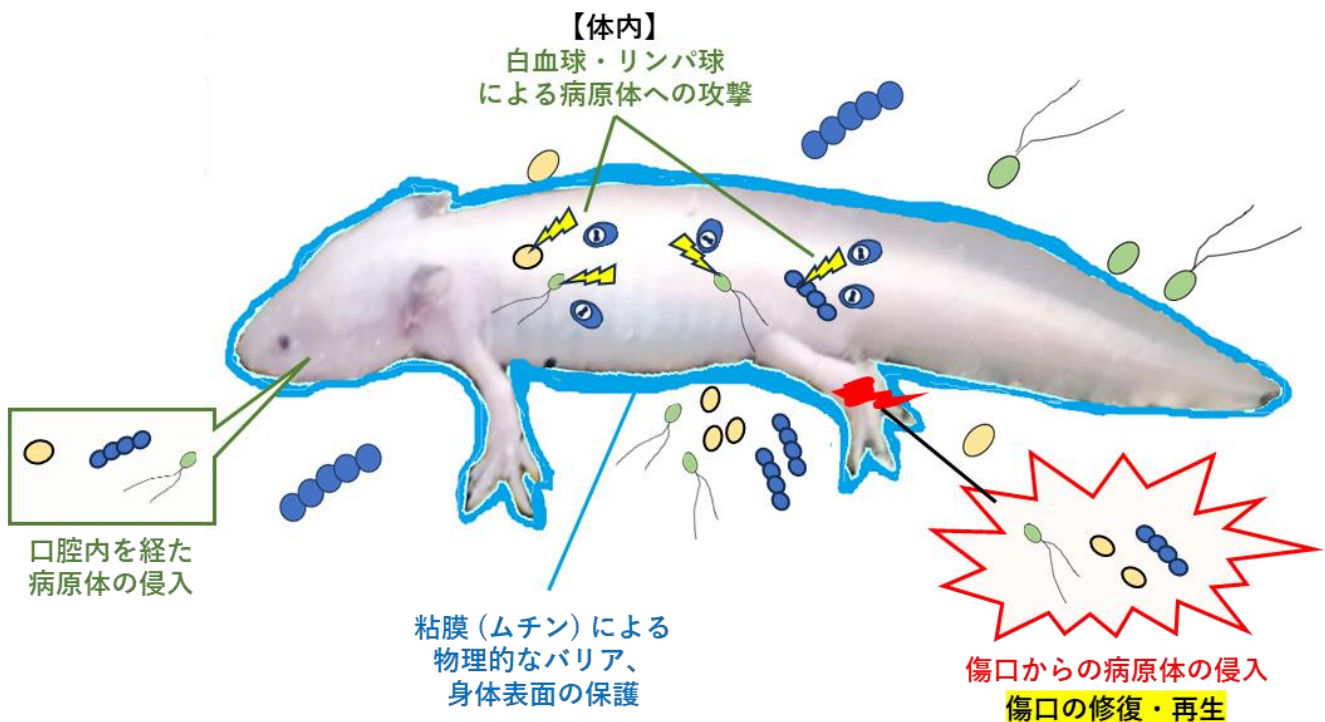
Integrin, HSPG, GALNS, Sulf, collagen, THBS, PECAM1, CXCR4, ECM, ArsB, ArsG, Ids

## 血球 ( および 免疫細胞) マーカー

MS4A12, MS4A15, MME, CCR5, CXCR3, Integrin, GZMB, NCAM1, Tia1, CXCR3, CLEC4, (g/e/f/m/g), TRPM2, ICAM-5, CD44, TLR (TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21), C5aR, CD44, Singlec (Singlec 1, 9, 11, 15), Tfrc, Gp1ba, HBA1, Integrin, FLT-1

## 再生・発生 関連因子

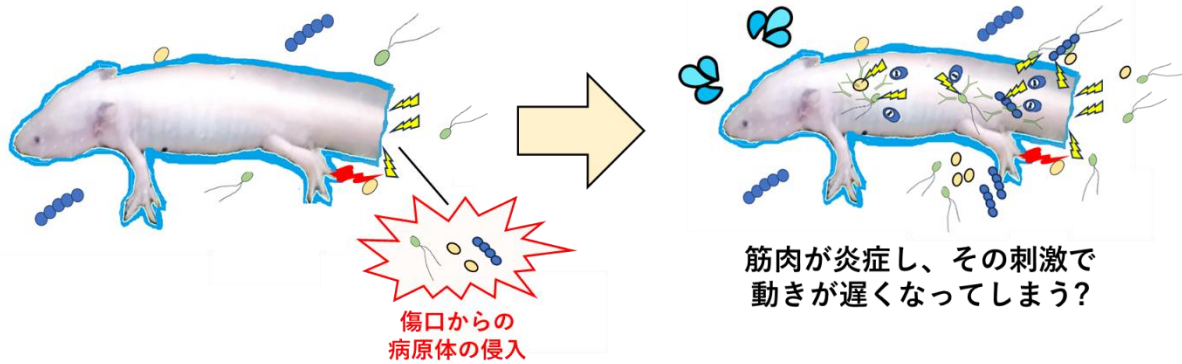
KDR, PDGFR- $\alpha$ , VEGF-A, Yap, GATA4, FGF-8, GDF5, FGF (FGF2, 21, 23), FGFR, EGF, EGFR, TGF- $\beta$  2, HGF (Hepatocyte Growth Factor), AKT1, AKT2, CDK4, CDK6



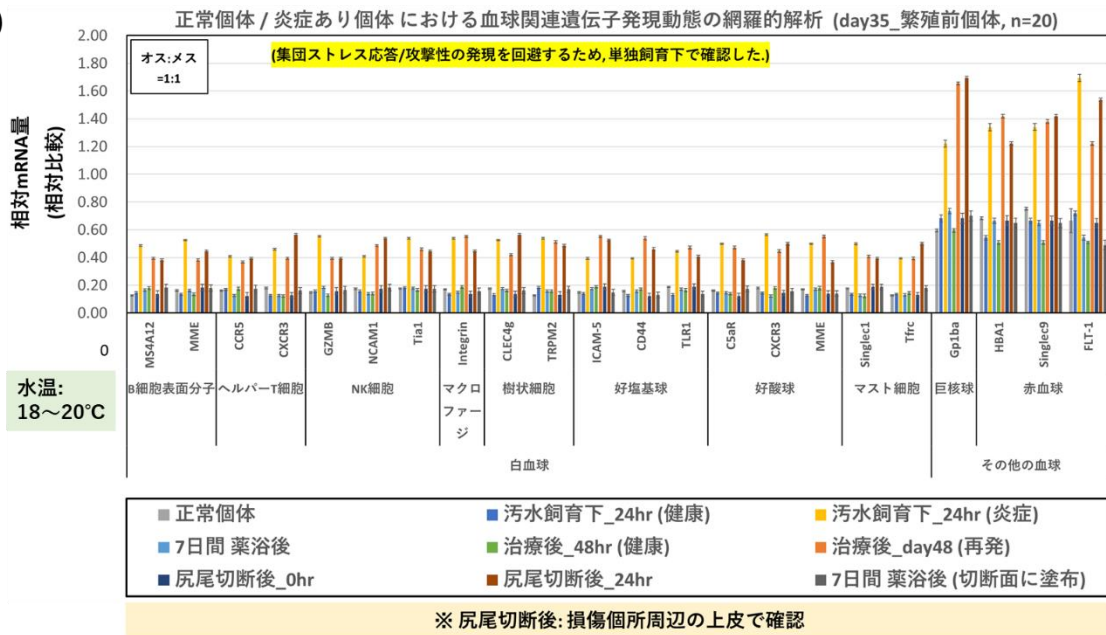
健康な状態の生体の場合, その周囲に雑菌や濾過バクテリアは存在しているものの, 生体の粘膜や免疫応答で十分対応可能な範疇であり, この状態を安定して保持ができれば長期間安定的に生体を維持することが可能となる。

## アホロートルの感染源への抵抗性と関連因子まとめ

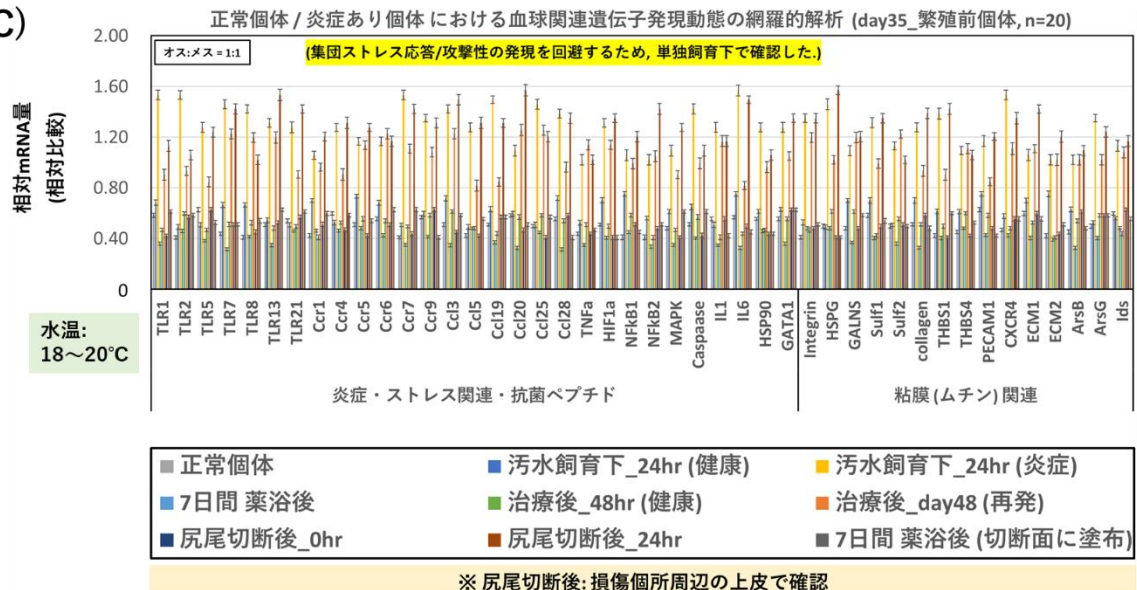
## (A) 尾部の損傷が機械的な運動性以外に影響を与えている可能性



## (B)

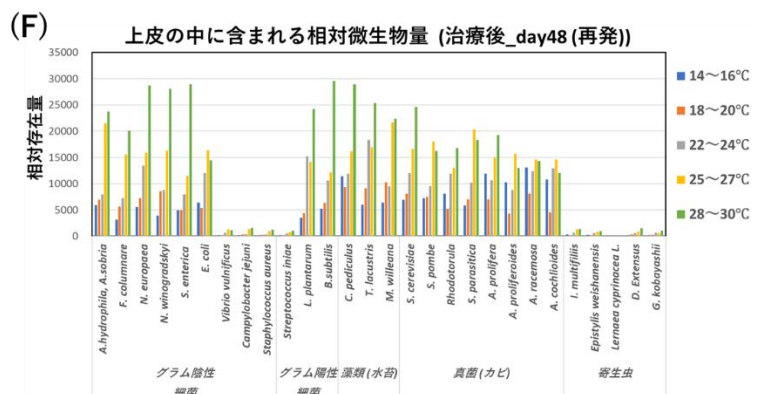
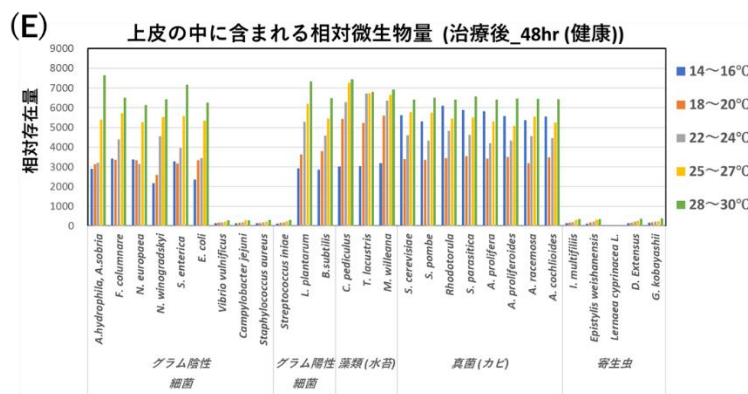
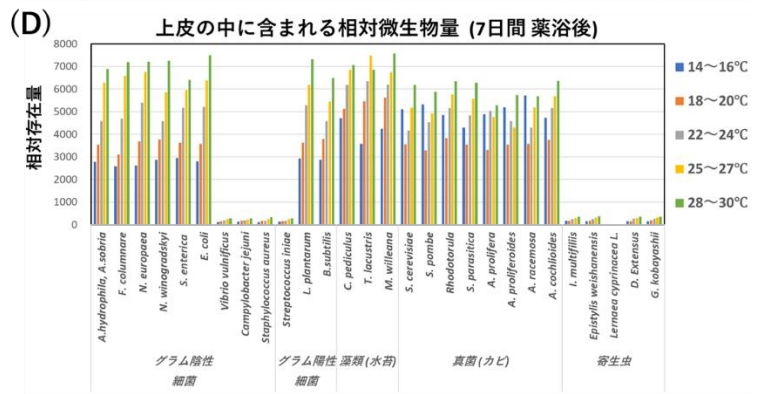
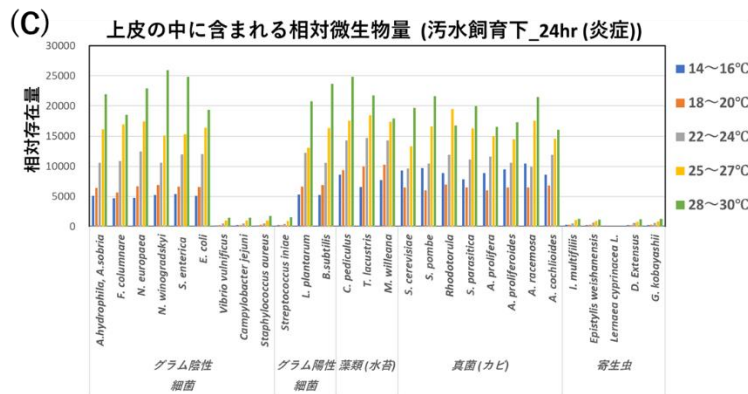
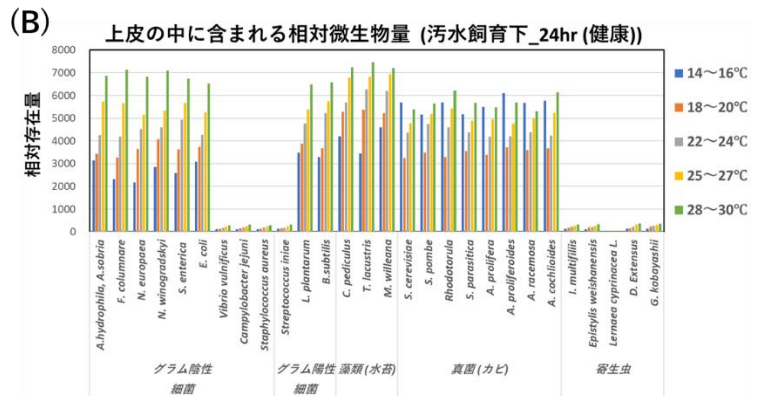
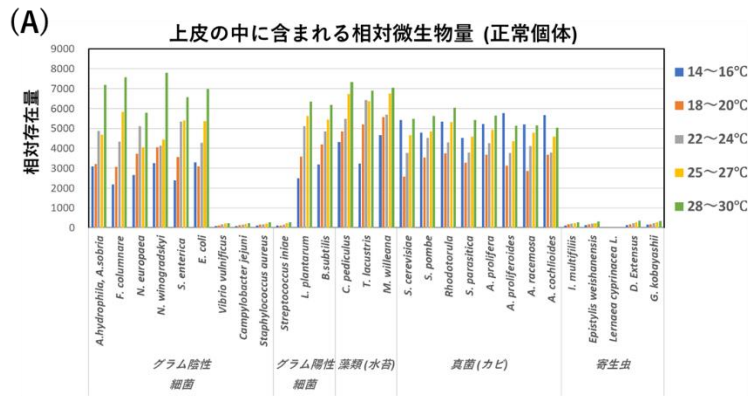


## (C)



両性類における抗菌ペプチドによるバリア



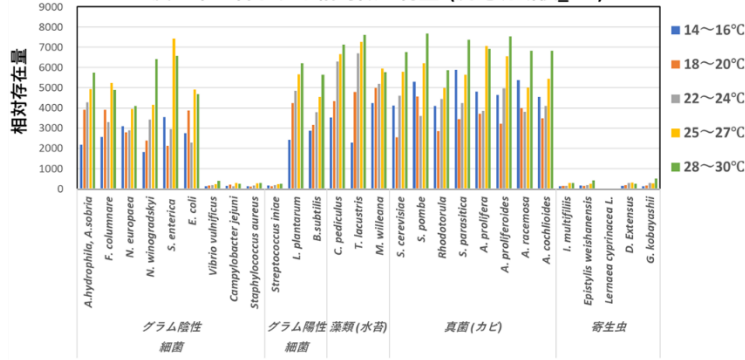


比較すべきは、汚水飼育下 24hr (健康)、汚水飼育下 24hr (炎症)、尻尾切断後\_0hr、尻尾切断後\_24hr



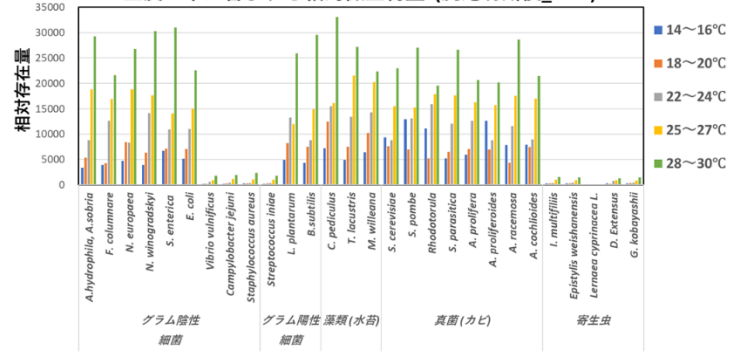
(G)

上皮の中に含まれる相対微生物量 (尻尾切断後\_0hr)



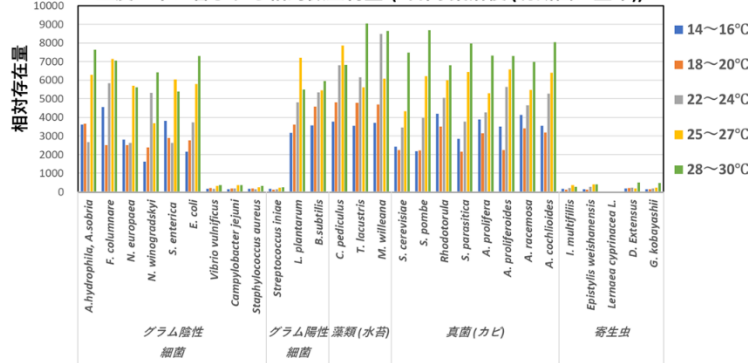
(H)

上皮の中に含まれる相対微生物量 (尻尾切断後\_24hr)

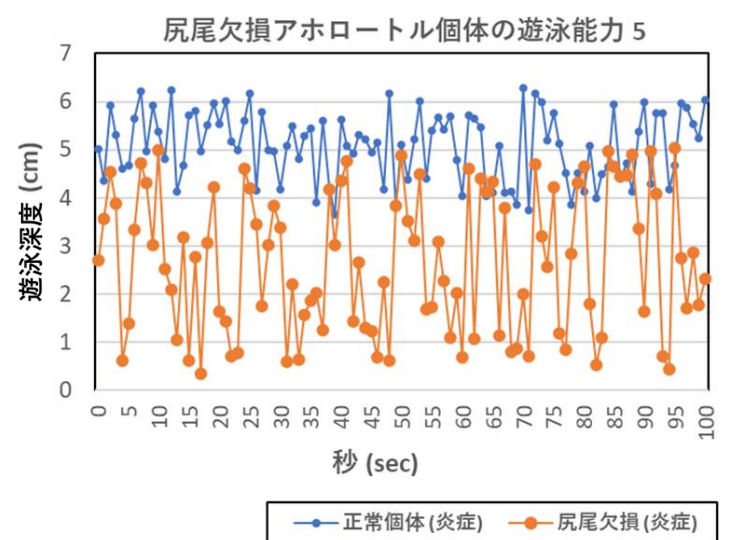
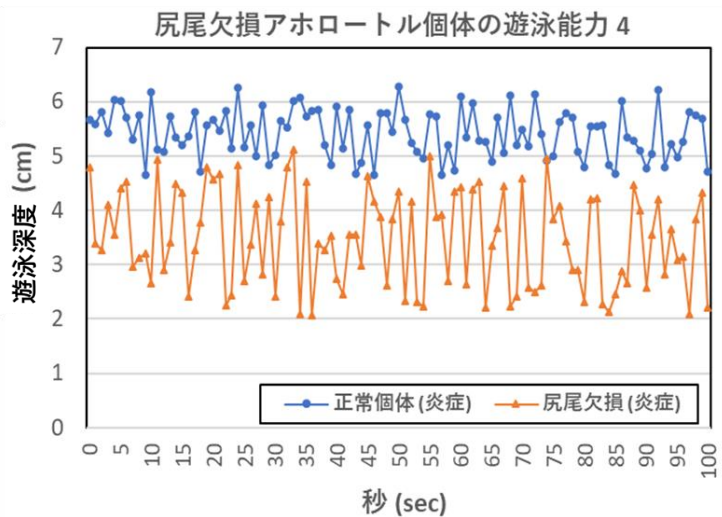
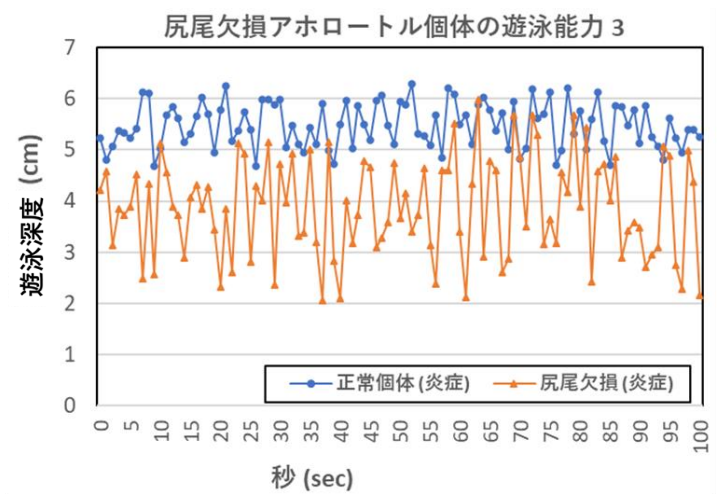
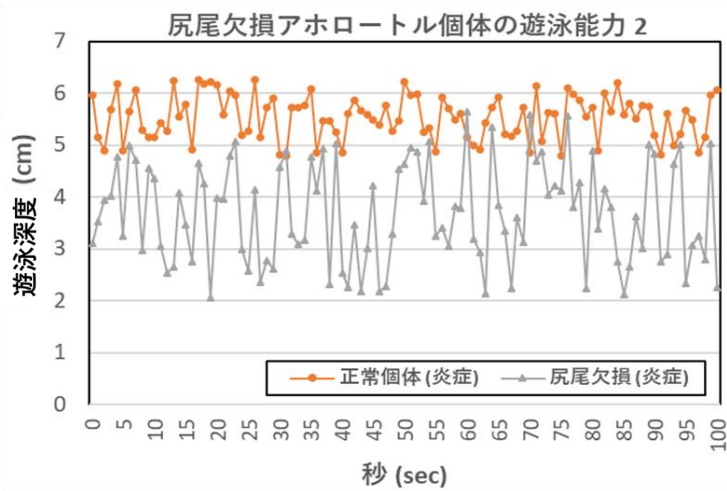
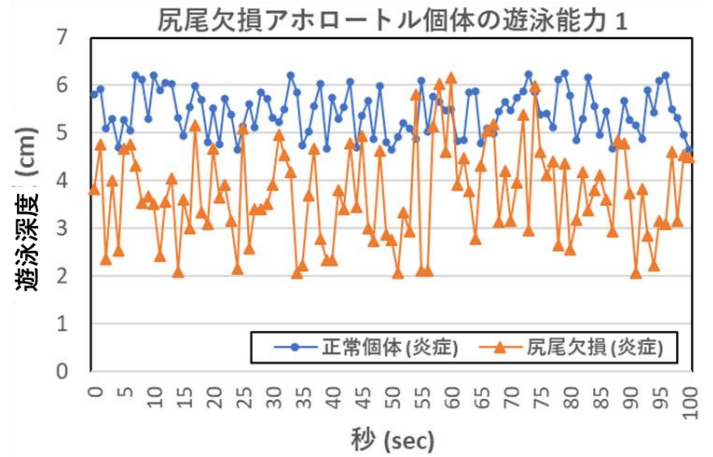
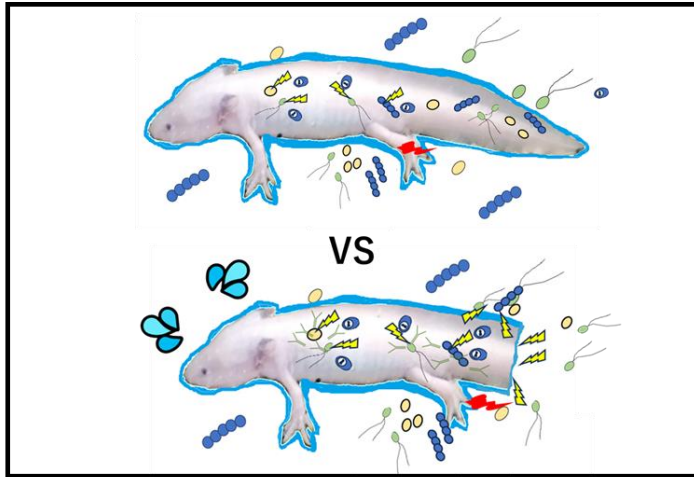


(I)

上皮の中に含まれる相対微生物量 (7日間 薬浴後 (切断面に塗布))

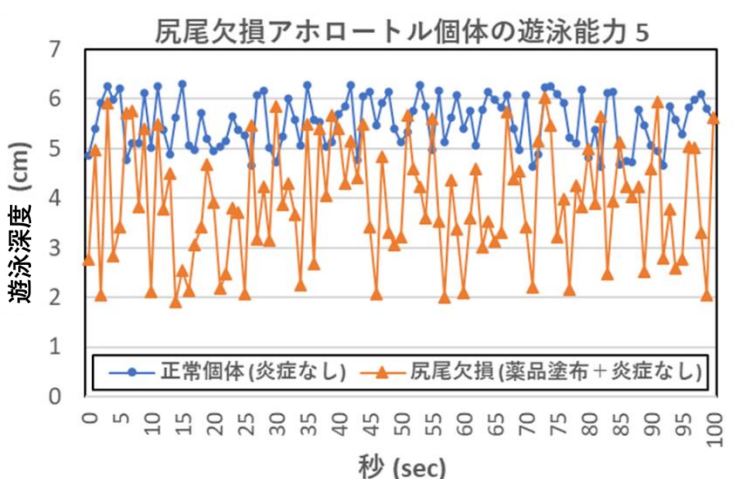
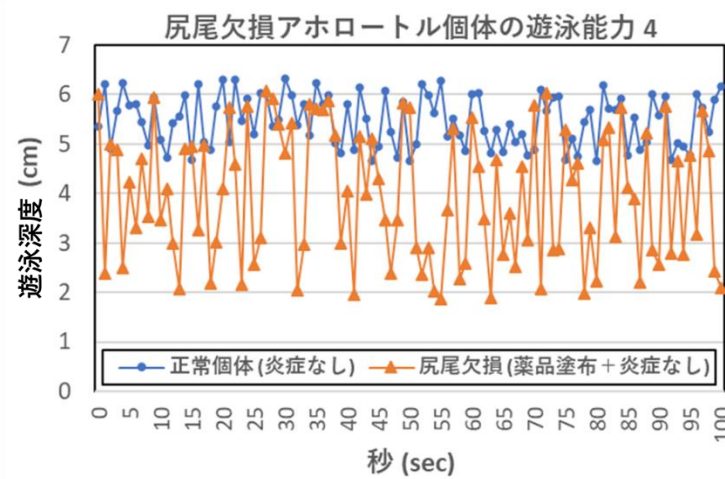
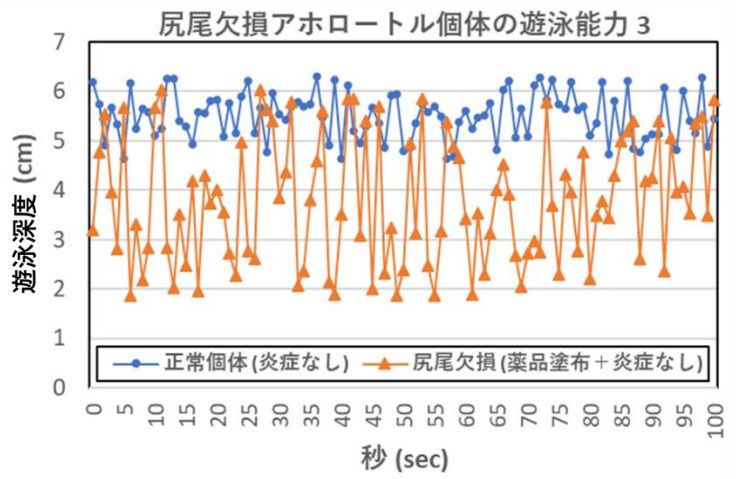
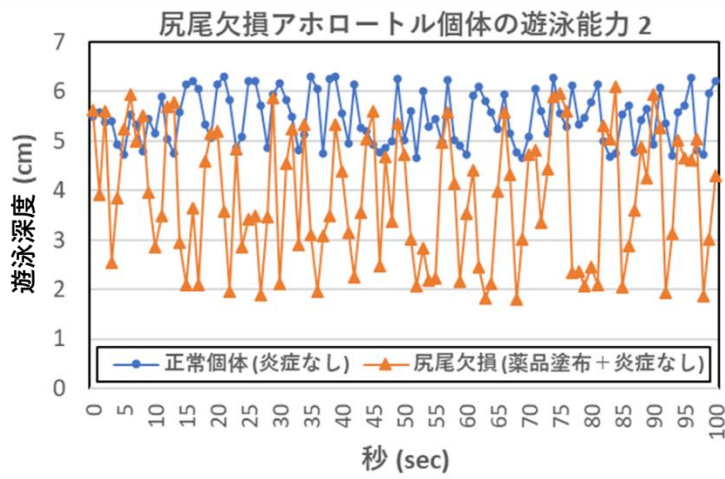
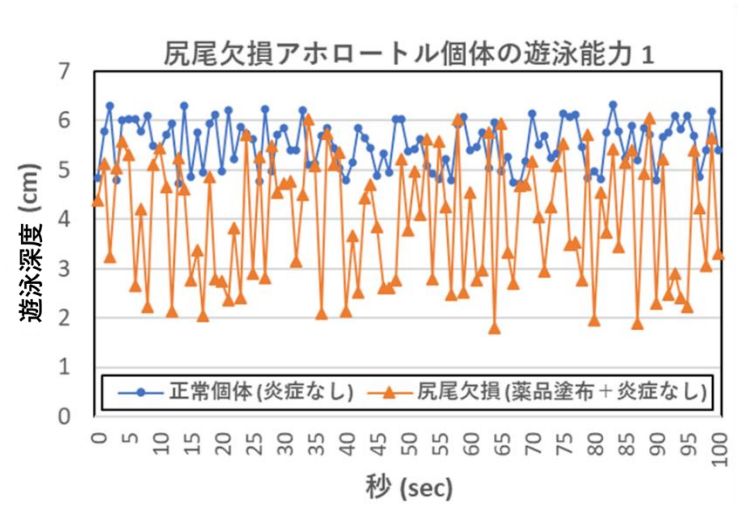
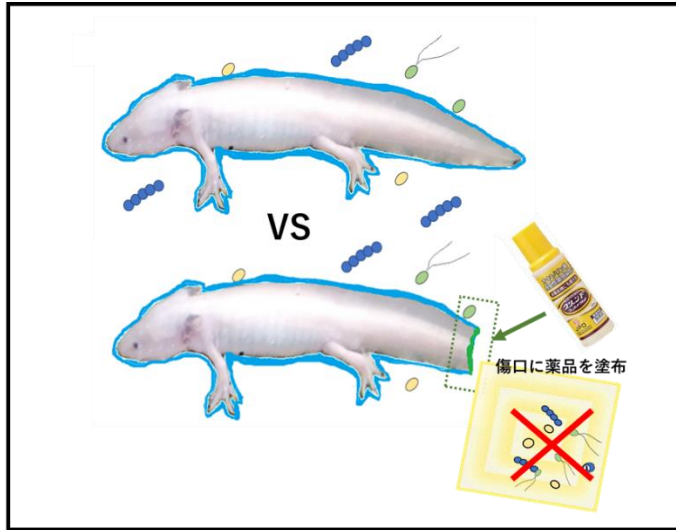


比較すべきは、汚水飼育下 24hr (健康)、汚水飼育下 24hr (炎症)、尻尾切断後\_0hr、尻尾切断後\_24hr



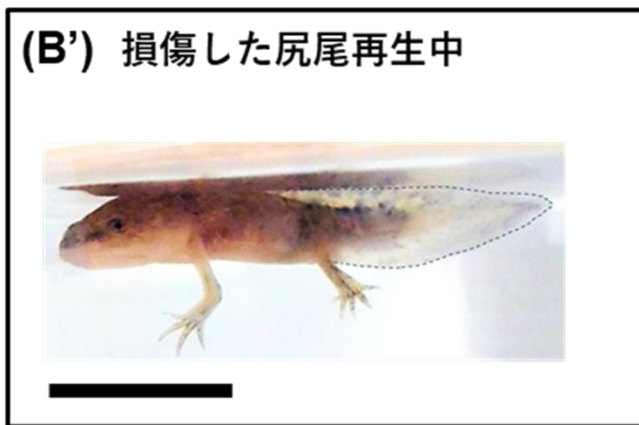
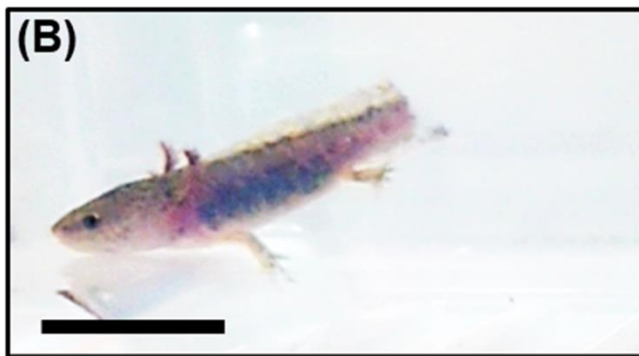
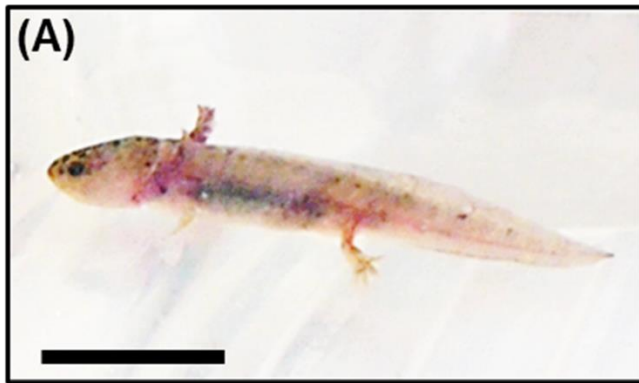
炎症状態を近づけると、挙動に違いは出る？

→ 同程度の炎症だと、尻尾の長さが運動性に強く影響する。

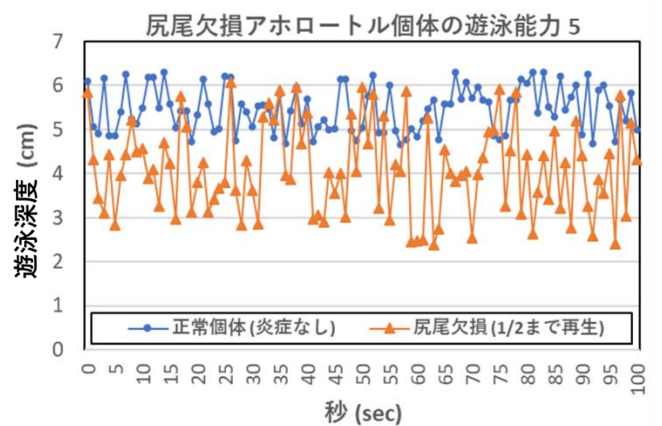
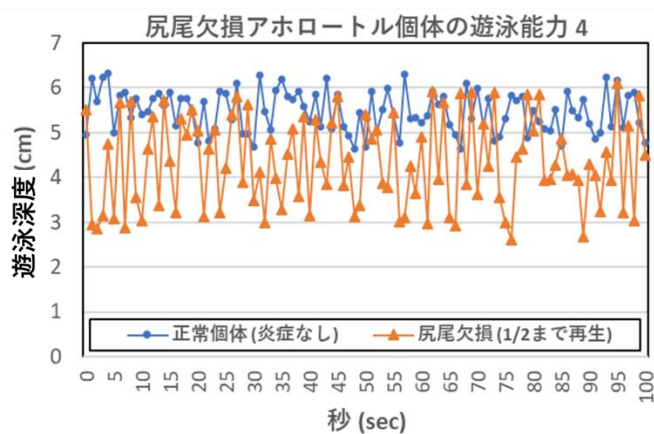
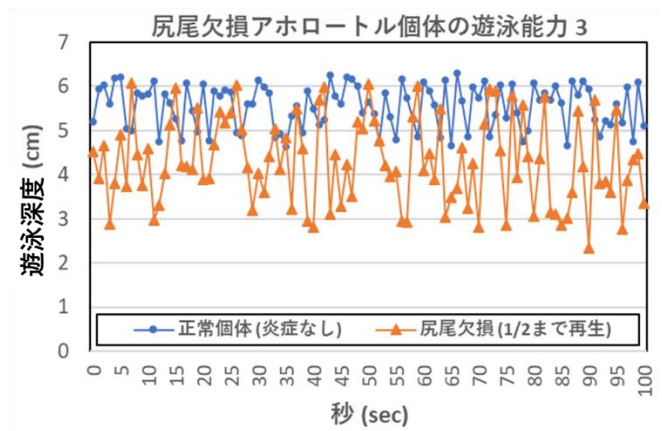
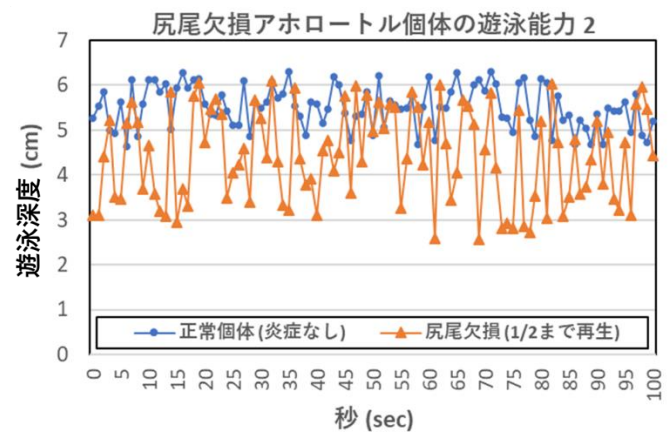
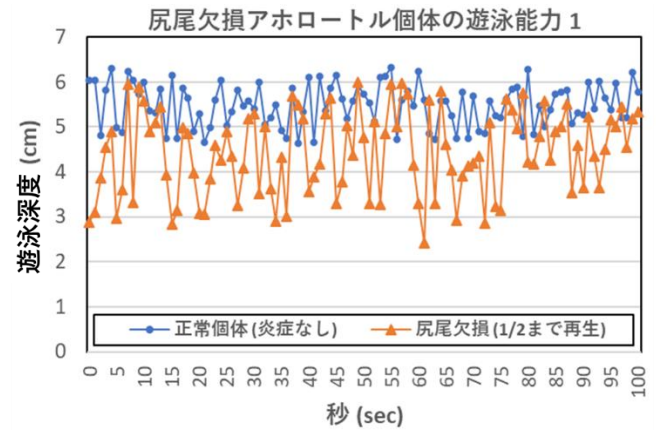


炎症なし vs 尻尾薬品塗布  
→ 炎症の影響が少なくなってもあまり違いは見られない。





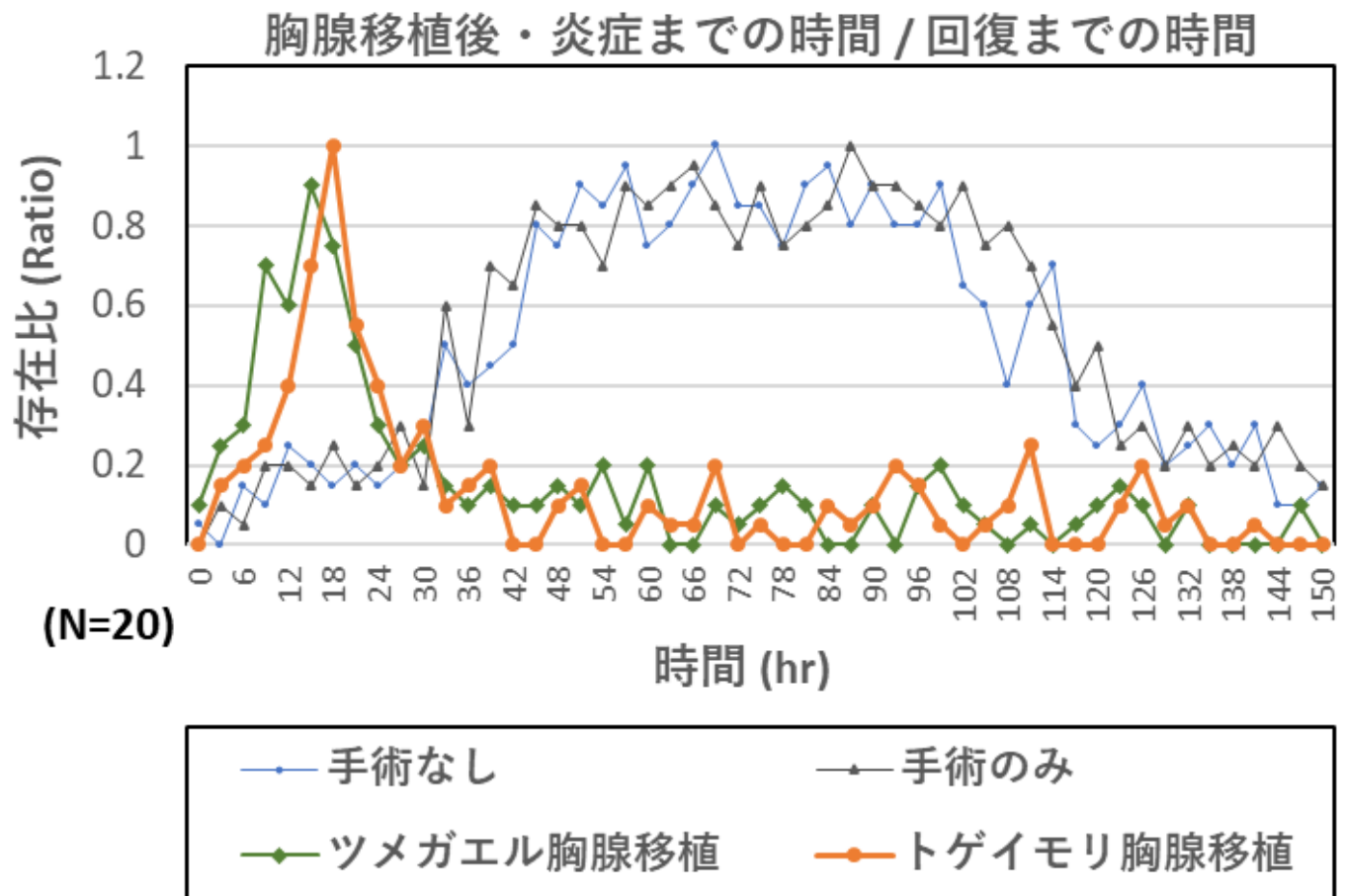
Scale bars: 20mm



炎症なし vs 尻尾再生中

→ 尻尾の形状が綺麗になった分、運動性は向上するが、推進力という点では大きな影響は見られない。





アホロートル胸腺移植個体 vs イベリアトゲイモリの胸腺移植個体 (炎症条件での炎症性低下)

vs アフリカツメガエルの胸腺移植個体 (炎症条件での炎症性低下)

vs 移植操作はしたが胸腺自体は入れ替えていない個体

→ 炎症性は低下したが、運動性には大きな違いは見られない (炎症は運動性への影響はあまりない)

免疫力は胸腺の移植で UP するが、それ自体は運動性には寄与しない。

抗菌ペプチドの発現は上昇する。免疫応答は強まる (発現上昇までの速が変わる。)



## 【参考文献 References】

1). 総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係\_vol.2

杉山 遥 ほか. 2023 年 11 月 29 日. [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl/published\\_papers/44067717](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/44067717)

2). 【最新版】メキシコサンショウウオにおける攻撃行動制御機構に関する調査報告

杉山 遥 ほか. 2023 年 8 月 29 日. [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl/published\\_papers/43232027](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/43232027)

3). 【最新版】メキシコサンショウウオにおける密度効果と 異種混泳による成長制御機構に関する調査報告 Vol.2

杉山 遥 ほか. 2023 年 11 月 29 日. [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl/published\\_papers/43784568](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/43784568)

4). 学研キッズネット>魚はどうして泳げるの | 水の動物 | 科学なぜなぜ 110 番

HP <https://kids.gakken.co.jp/kagaku/kagaku110/science0179/>

5). 魚はなぜ速く泳げるのか? 魚の泳ぎ方と速度 | フナの遊泳

HP <https://hunassius.com/6770/>

6). 【フナの筋肉】魚の運動器官について【内部形態】

HP <https://hunassius.com/6603/>

7). 魚の尾鰭の形について>On the Shape of Caudal Fins of Fish

柴岡 与志夫. [HP](#)

8). 魚の尻尾の役割は何ですか? 尻尾を失うとどうなりますか?

マリーシュレイダー. 2020-07-14 23:28:38

HP <https://jp.betterforfish.com/a/1106.html>

9). サメのしっぽの長さはどうですか? どんな役割がありますか?

マリーシュレイダー. 2020-07-20 23:39:32

HP <https://jp.betterforfish.com/a/2340.html>

10). 魚・イルカの遊泳運動研究の面白さ

中島 求. バイオメカニズム学会誌, Vol. 28, No.1 (2004)

HP [https://www.jstage.jst.go.jp/article/sobim/28/1/28\\_1\\_13/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/sobim/28/1/28_1_13/_pdf)

11). 金沢工業大学>工学部>機械工学科>流体工学分野>福江研究室

HP <https://www.fukuelab.net/mechanoethology/>

12). 北海道開発局>13. 遊泳速度と必要水深

PDF <https://www.hkd.mlit.go.jp/ob/tisui/kds/chiyodashinsuiro/ctll1r00000054w7-att/bunryu-shiryo-13.pdf>

13). 公益財団法人\_海洋生物環境研究所>海産魚類 3 種の遊泳能力と水温

PDF <https://www.kaiseiken.or.jp/publish/leaflets/lib/leaf07.pdf>

14). Identification of Immune and Non-Immune Cells in Regenerating Axolotl Limbs by Single-Cell Sequencing

AK Rodgers, et. al.

Exp Cell Res. 2020 Sep 15; 394(2): 112149.

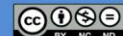
[Identification of Immune and Non-Immune Cells in Regenerating Axolotl Limbs by Single-Cell Sequencing](#)



# 有尻両生類の遊泳能力と生存戦略に関する考察

Considerations on swimming ability and survival strategies of arctic amphibians.

P-118B



○杉山 遥<sup>1</sup>, 横江 諒<sup>1,5,6,7</sup>, あすみ 悠<sup>2</sup>, 竜岡 龍騎<sup>4</sup>, 阿保朗 太郎<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> ハルラボ・メキシコサンショウウオ生体研究部, <sup>2</sup> ハルラボ・淡水魚生体研究部, <sup>3</sup> ハルラボファーム

<sup>4</sup> トラフサンショウウオラボ, <sup>5</sup> 東京大・院理・宇宙線, <sup>6</sup> 秀明大・グローバルマネジメント・情報, <sup>7</sup> サイマンテクノロジー)

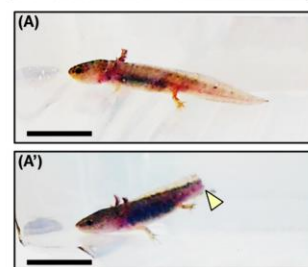
E-mail address [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com)

Twitter URL [https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)

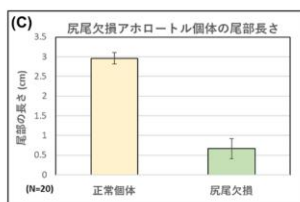
1). *Ambystoma mexicanum* を含む有尻両生類が尻尾を持つ機能的な意義については未解明な部分が多い



疑問: 何故長い尾部を持つのか?(必要?)  
→ 流水への抵抗性などの役割あり?  
→ カエル等の無尻両生類との違いは?  
→ 実は尾部は無くても問題ないのでは?  
→ でも彼らは泳ぐときにヒレを振っている。



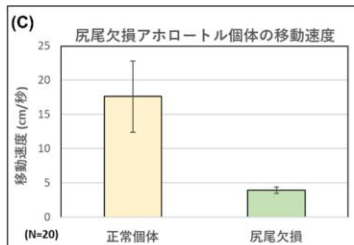
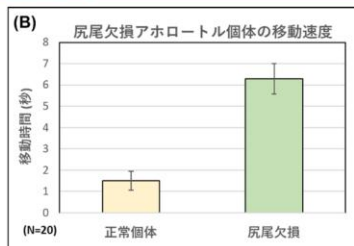
Scale bars: 20mm



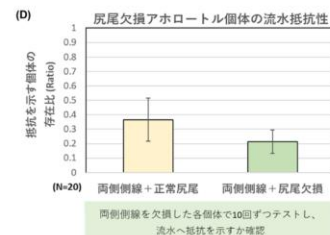
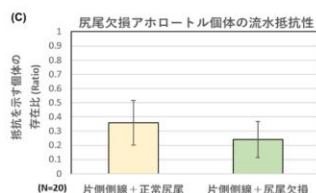
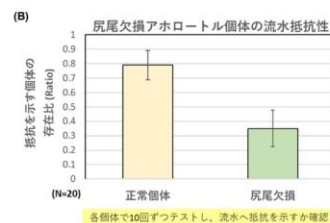
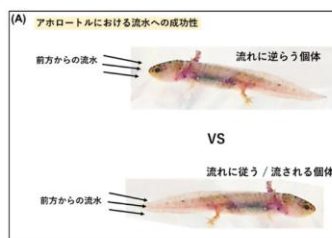
調査課題: 尾部の長さ・形状は遊泳能力を発揮する上で重要か?  
(流体力学的な観点)

↓  
尾部を損傷してしまった個体で運動能力を観察・定量化した。  
+ 行動学的シミュレーションを実施

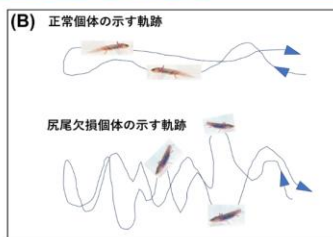
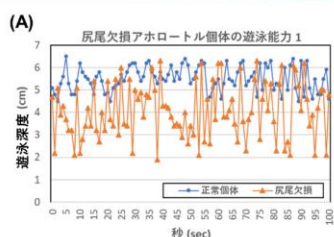
2). 尾部を損傷した *Ambystoma mexicanum* の遊泳能力は著しく低下する



6). *Ambystoma mexicanum* は水流を側線器官にて感知している

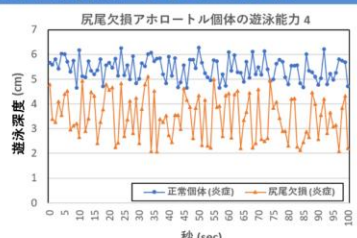
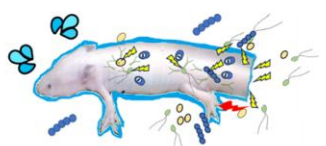


3). *Ambystoma mexicanum* は尾部を損傷することで前方向へ姿勢を保って泳ぐことができなくなる



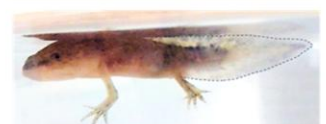
4). 尾部損傷による遊泳能力低下は炎症によるものではない

筋肉が炎症し、その刺激で動きが遅くなってしまう?

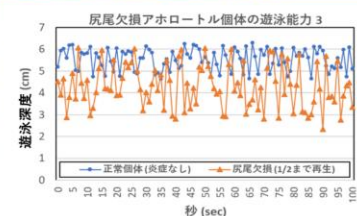


5). 損傷した尾部が再生することで遊泳能力が回復する

尾部再生 → 遊泳能力は回復する



Scale bars: 20mm



6). まとめ: *Ambystoma mexicanum* の遊泳メカニズム





### 3) 動物学ひろば

日時：9月6日（土）10：00～16：00（大会3日目）

会場：ポートメッセなごや第2展示館

日本動物学会の年次大会では、子どもから大人まで幅広い世代に動物学の魅力を伝える展示イベント「動物学ひろば」を開催しています。ウーパールーパーから深海生物まで、さまざまな動物の標本や模型、紹介ポスターに加え、生きた動物も展示され、間近で観察することができます。

今年は特別企画として、動物園や水族館のスタッフによるミニ講演も実施予定です。動物の飼育や行動、生態にまつわる貴重なお話を、第一線で活躍する専門家から直接聞くことができる絶好の機会です。

「動物学ひろば」は、研究者が未来の動物学者に向けて、動物たちの面白さや奥深さを語る場でもあります。どんなことでもお気軽にご質問ください。研究者の方にも楽しんでいただける内容を多数ご用意しております。

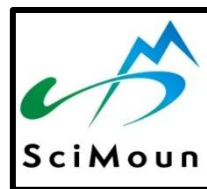
多くの皆さまのご来場を心よりお待ちしております。

## 【第96回日本動物学会 名古屋大会\_動物学ひろば】

申込者：F.N. 三太子<sup>1</sup>；杉山 遥<sup>1</sup>；横江 誼衡<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO 研究グループ\_ハルラボ（ウーパールーパー研究室）、<sup>2</sup> 東京大学、<sup>3</sup> 秀明大学、<sup>4</sup> サイマン・テクノロジー

展示タイトル：ウーパールーパーを救いたい！



### 【要旨】

私たちは、ハルラボと申します。

西日本に拠点を置く非営利の自然環境保全を目指す団体です。

代表：杉山 遥（すぎやま はるか）

研究者情報 [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl)



主構成員：萩原 和晃, F.N. 三太子, あすみ 悠, 枝豆 やみん, 龍岡 竜騎 (竜岡 龍騎), 阿保郎 太郎 (ファーム管理)

Twitter (X): [https://x.com/lab\\_new2](https://x.com/lab_new2)

主に絶滅危惧種であるメキシコ原産のサンショウウオである、メキシコサラマンダー※（アホロートル）を絶滅から救うため、以下のアプローチで調査・研究を行ってきました。

※ ウーパールーパーの名前でペットとして流通しています。



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。









# ウーパールーパーを救いたい！ Save the Axolotls!



○ F.N 三太子<sup>1</sup>, 杉山 遥<sup>1</sup>, 横江 誼衡<sup>1, 2, 3, 4</sup>

1. NPO研究グループ\_ノハラボ (ウーパールーパー研究室), 2. 東京大学, 3. 秀明大学, 4. サイマン・テクノロジー

E-mail address [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com)

X (Twitter) URL [https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)



NPO: ウーパールーパー研究室・ハルラボ



2020年より、  
正式に HAL Lab として  
本格的に研究活動を開始。

[https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)

Q: はるらぼって何？

2020年に正式発足されたNPO 研究チームです。  
ウーパールーパーの生態や習性について研究しています。

Q: 何故ウーパールーパー？

メキシコのソチミルコ湖に生息するメキシコサラマンダーは、現在ペットとしてウーパールーパーという名で親しまれている一方で、野生種は絶滅危惧に瀕しています。これは由々しきことです。そこで、我々はこれに注目し、ラボスケールでの生態を研究することで、個体数を増やす糸口を掴みたいと考え、NPO (非営利) の研究チームとしての活動を開始することになりました。

## はるらぼの取り組み

### 野生種の保全に向けた活動

- ・オオサンショウウオ等の両生類の保全施設の視察
- ・水族館等の水棲生物保全・飼育施設の視察

### 基礎研究 (アホロートル)

- ・アホロートルのかつての生息環境予測モデルの構築
- ・系統間の比較
- ・生育にとって重要な栄養素・代謝機序の解明
- ・耐薬品性・汚染への耐性に関する調査
- ・汽水適応個体の系統化 (阿保郎ファーム)
- ・病原微生物の感染機序の調査
- ・腸内環境や腸内フローラ・食砂行動に関する調査
- ・ネオテニーの変態誘導の要因調査 (ヨウ素・汚染ストレス)

### 基礎研究 (その他の生物)

- ・ショウジョウバエ、カブトムシ、コオロギ、メダカ、熱帯魚類
- ・栄養・睡眠・成長など
- ・メダカ変異系統の作成と維持 (あすみファーム)・遺伝的解析

### 飼育技術の開発

- ・最適な密度や水質が安定化する飼育法の検証
- ・過密条件でも安定に飼育できる濾過環境の検討
- ・上陸しない条件の確立 / 上陸する条件の探索
- ・最適な底材の追加検討

2024年, 2025年 クラウドファンディング実施

次回、

ア  
ホ  
ロートルを



救いたい！！



### ↓ 流通系統のバリエーションと遺伝学的特徴 ↓

マーブル  
(野生型体色)



(野生種を生息し、ある程度固定化した品種。一部、交雑種も存在する)

リューススティック  
(一部色素欠乏)



(endothelin3: edn3 (Chr3p 短鎖) 欠損変異ホモ; 上皮におけるユーメラニン欠乏)

ブラック  
(メラニン過剰)



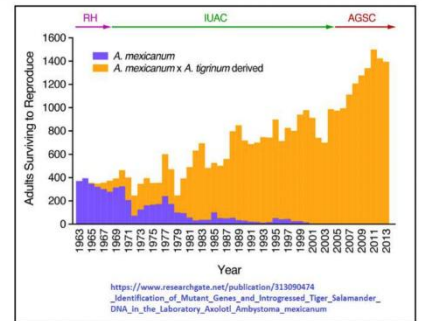
(Leukocyte Tyrosine Kinase: Ltk (Chr14q 長鎖) 欠損変異ホモ; 上皮におけるユーメラニンの過剰分泌・蓄積)

アルビノ系統 (tyrosinase: tyr (Chr7q 長鎖) 欠損変異ホモ; 全身のユーメラニン欠乏)



遺伝子交換の程度・フェオメラニン合成への影響の違い、他の体色変異等と併せることで体色に違いが見られる。

(杉山 ほか, 2022-2023)



研究用個体: トウタイガーサラマンダーとの混血  
ペット用流通個体: 野生型系統が残っている (率高い)

【野生型体色を構成する色素】

- ・メラノフォア (黒色素細胞) ... 黒色の色素は黒い、光の反射で黒く見える (黒種、ラッパ)
- ・キサントフォア (黄色素細胞) ... 黄色、メラノフォア近傍で存在し、斑模様を形成する。
- ・エリトフォア (赤色素細胞) ... 赤色の色素は赤い、光の反射で赤く見える (赤種、ラッパ)
- ・シアンフォア (青色素細胞) ... 青色、メラノフォア近傍で存在し、斑模様を形成する。
- ・シアンフォア (青色素細胞) ... 青色、メラノフォア近傍で存在し、斑模様を形成する。



## メキシコサラマンダー *Ambystoma mexicanum* に関する知見 (2023-2025)

生息地

塩水域

混入

汽水域

淡水域

+

良質な睡眠  
(暗条件)

近縁種と共存 and/or 単独での生息



タンパク質> アミノ酸>  
タウリン、アルギニン  
金属イオン> 鉄分、亜鉛、  
長鎖不飽和脂肪酸 など

火山灰由来の泥  
+  
農作物由来の  
腐食酸、  
炭水化物 (糖質)

食砂行動  
↓  
消化補助  
+  
無機成分補填

農作物由来の糖質摂取

腸内フローラの  
強化・調整

乳酸菌

硫酸化菌

神経ペプチドNPY  
を介した  
睡眠、繁殖力の調節

硫黄代謝 (硫黄呼吸)  
によるATP産生



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



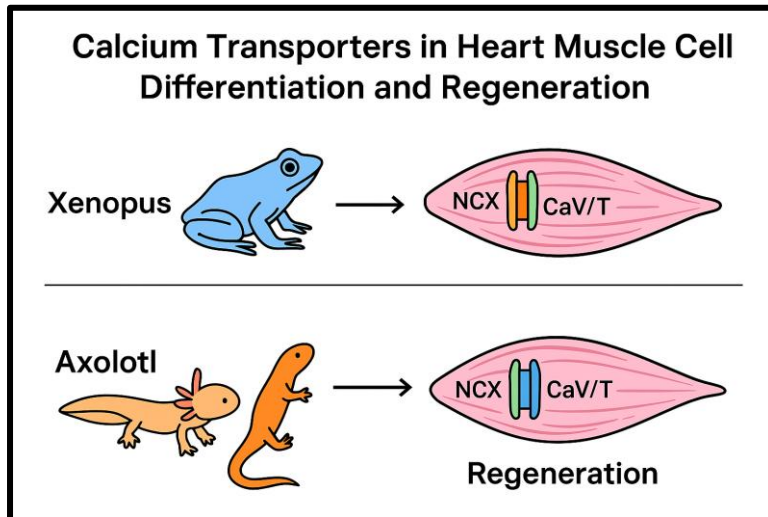


# Review: Differentiation and Regeneration of Cardiomyocytes in Amphibians and the Involvement of $\text{Ca}^{2+}$ Transporters (NCX/NHE, Cav1.2, Cav3.2)



**Authors:** Sugiyama Axolotl Haruka<sup>1</sup>; Yoshihiro Yokoe<sup>1 2 3 4</sup>

<sup>1</sup> NPO Research Group \_ Hal Lab (Axolotl Research Laboratory), <sup>2</sup> University of Tokyo, <sup>3</sup> Shumei University, <sup>4</sup> ScimounTechnology



## Abstract

In mammals, the  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger (NCX1/SLC8A1),  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger (NHE1/SLC9A1), L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel (CaV1.2/CACNA1C), and T-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel (CaV3.2/CACNA1H) are widely recognized as critical for cardiomyocyte differentiation, maturation, and regenerative responses. In contrast, there are relatively few comprehensive reviews systematically examining the involvement of these molecules in differentiation in highly regenerative urodeles (*Ambystoma mexicanum* and *Notophthalmus viridescens*) and model anurans (*Xenopus*). In this review, we integrate literature from gene expression, functional assays, pharmacological interventions, and phenotypic analyses in regenerating animals to highlight: (i) the expression of  $\text{Ca}^{2+}$  channels and the establishment of cardiac function in *Xenopus* embryonic hearts, (ii) the essential role of early  $\text{Ca}^{2+}$  signals during *Xenopus* tail and body axis regeneration, (iii) the processes of myocardial remodeling and the conservation of  $\text{Ca}^{2+}$  handling mechanisms during salamander and axolotl heart regeneration, and (iv) evidence for functional expression of NCX and NHE in amphibians.

We conclude that in amphibians, the expression and functional activity of  $\text{Ca}^{2+}$  influx channels (especially CaV1.2 and CaV3.2) and ion exchangers (NCX, NHE) temporally coincide with cardiomyocyte differentiation, maturation, and regeneration. In *Xenopus*, both direct and pharmacological causal relationships have been demonstrated. However, studies directly manipulating these molecules to assess effects on heart regeneration in urodeles remain limited, representing an important area for future investigation.



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





## Background

The key to cardiomyocyte fate determination, differentiation, and maturation lies in spatiotemporal regulation of  $\text{Ca}^{2+}$  handling via the sarcolemma and sarcoplasmic reticulum. In mammalian hearts,  $\text{CaV1.2}$  (L-type) and  $\text{CaV3.2}$  (T-type) channels initiate excitation–contraction coupling,  $\text{NCX1}$  serves as the primary  $\text{Ca}^{2+}$  extrusion mechanism, and  $\text{NHE1}$  indirectly modulates  $\text{Ca}^{2+}$  dynamics via pH and  $\text{Na}^+$  homeostasis. Amphibians, combining experimental accessibility (*Xenopus*) and organ regenerative capacity (urodeles), provide an ideal system for examining the conservation of calcium-dependent differentiation. *Xenopus* embryonic hearts allow optical observation of cardiac development, and interventions via electrophysiology or pharmacology are readily feasible.

---

## Integration of Evidence

### 1. $\text{Ca}^{2+}$ Channel Expression and Cardiac Function in *Xenopus* Embryos

- Expression of  $\text{CaV1.2}$  (*CACNA1C*) and  $\text{CaV3.2}$  (*CACNA1H*) has been identified in embryonic tissues including the heart, temporally corresponding to the establishment of cardiac function.
- Pharmacological inhibition of L-type channels, e.g., with nifedipine, induces severe developmental defects, supporting the essential role of  $\text{Ca}^{2+}$  influx during embryogenesis.
- *Xenopus* serves as a robust model for studying heart development and congenital cardiac defects due to the optical accessibility of heartbeat formation (~72 hours) and feasibility of pharmacological/genetic interventions.

### 2. Early $\text{Ca}^{2+}$ Signals During Regeneration

- In *Xenopus* tail regeneration, spontaneous  $\text{Ca}^{2+}$  activity occurs within hours after injury and is essential for driving the regenerative program, in coordination with membrane potential and proton pump/ion transporter activity. This highlights the conserved role of  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent gene regulation in both development and regeneration.

### 3. Heart Regeneration and Conservation of $\text{Ca}^{2+}$ Handling in Urodeles

- Salamander heart regeneration involves cardiomyocyte proliferation and transient ECM remodeling, with recovery of function around 70 days post-ventricular resection. Re-activation of  $\text{Ca}^{2+}$  handling genes similar to those in mature cardiomyocytes has been reported; however, causal experiments directly targeting  $\text{CaV1.2/3.2}$ ,  $\text{NCX}$ , or  $\text{NHE}$  to suppress differentiation remain limited.
- In axolotls, studies specifically manipulating cardiac  $\text{Ca}^{2+}$  channels are scarce, but evidence from limb and body regeneration suggests voltage-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  influx and TRP channel modulation are critical in early regenerative stages, supporting the general necessity of  $\text{Ca}^{2+}$ .

### 4. Evidence for $\text{NCX}$ and $\text{NHE}$ Function in Amphibians

- Endogenous  $\text{NCX}$  activity has been demonstrated in *Xenopus* oocytes, forming functional microdomains with  $\text{IP}_3$  receptors to regulate  $\text{Ca}^{2+}$  dynamics.
  - The core principles of  $\text{NCX}$ -mediated  $\text{Ca}^{2+}$  extrusion, established in mammals, appear conserved in amphibian hearts.
  - $\text{NHE}$  ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchangers) are known to influence  $\text{Ca}^{2+}$  handling via pH and  $\text{Na}^+$  homeostasis. In *Xenopus*,  $\text{NHE}$  function and ion transport play roles in both developmental and regenerative processes, supporting their relevance as candidate mechanisms.
-



## Hypothetical Model

- Development (Xenopus): Upregulation of CaV1.2/CaV3.2 during cardiomyocyte progenitor and early beating stages → Ca<sup>2+</sup> influx → transcriptional control (e.g., MEF2, GATA4) → sarcomere assembly and excitation–contraction coupling. Concurrently, NCX1-mediated Ca<sup>2+</sup> extrusion buffers intracellular Ca<sup>2+</sup>.
- Regeneration (Urodeles): During cardiomyocyte dedifferentiation and redifferentiation, Ca<sup>2+</sup>-dependent gene programs are reactivated. Rewiring of Ca<sup>2+</sup> influx channels and NCX/NHE coordinates differentiation and maturation. Direct manipulations remain a topic for future investigation.

---

## Research Gaps and Proposals

1. Causal experiments in urodele heart regeneration: Stage-specific manipulation of CaV1.2/CaV3.2/NCX1/NHE1 via CRISPR, morpholinos, or selective inhibitors, coupled with simultaneous assessment of cardiomyocyte markers (tnnt2, myh6), sarcomere reassembly, and Ca<sup>2+</sup> transients.
2. Single-cell transcriptomics × Ca<sup>2+</sup> imaging: Temporal clustering of Ca<sup>2+</sup> handling gene modules in regenerating hearts.
3. Longitudinal analysis of mechano-electric coupling: Live tracking of ECM remodeling and Ca<sup>2+</sup> channel redistribution in tissue slices to link structural and functional recovery.

---

## Conclusion

- In Xenopus, cardiac expression of CaV1.2/CaV3.2 and pharmacological evidence support the essential role of Ca<sup>2+</sup> influx for cardiomyocyte differentiation and functional establishment.
- Heart regeneration in salamanders and axolotls involves cardiomyocyte proliferation and tissue remodeling, with strong indications of reactivation of Ca<sup>2+</sup> handling machinery, although direct causal evidence for specific transporters remains limited.
- NCX and NHE are functional in amphibian cells and likely constitute a conserved core of Ca<sup>2+</sup> regulation in both development and regeneration.

In axolotls, we assessed the efficiency of cardiomyocyte differentiation and found that rearing in brackish water slightly enhanced differentiation efficiency. In contrast, conditions with  $\text{Ca}^{2+}$  channel inhibition markedly suppressed differentiation. These results further indicate that the intake of minerals, including  $\text{Ca}^{2+}$ , promotes growth and development in axolotls (Supplementary Fig. 1).



→ If you need detail translation of each words in ENG, please check the next page.

## Figure Titles

- アホロートル心筋前駆細胞の純化 → Purification of Axolotl Cardiomyocyte Progenitor Cells
- 心筋前駆細胞の in vivo 分化効率と  $\text{Ca}^{2+}$  の関係性 (day60) → In vivo Differentiation Efficiency of Cardiomyocyte Progenitor Cells and Relationship with  $\text{Ca}^{2+}$  (day 60)

## Axis Labels

- mRNA (Ratio) → mRNA Expression (Ratio) (Y-axis)
- N = 10 / N = 50 → Number of Samples (N = 10 / N = 50) (if needed as a footnote)

## Legends

### Top-left figure

- 純化前（バルク） → Before Purification (Bulk)
- 純化後 → After Purification
- 残細胞 → Remaining Cells

### Other figures ( $\text{Ca}^{2+}$ concentration / channel inhibition)

- 軟水 対照群 → Soft Water Control
- 軟水 Cav1.2 阻害剤 (50  $\mu\text{M}$ ) → Soft Water + Cav1.2 Inhibitor (50  $\mu\text{M}$ )
- 軟水 Cav3 阻害剤 (25  $\mu\text{M}$ ) → Soft Water + Cav3 Inhibitor (25  $\mu\text{M}$ )
- コントレックス ( $\text{Ca}^{2+} \pm 0.05\%$ ) 対照群 → Contrex ( $\text{Ca}^{2+} \pm 0.05\%$ ) Control
- コントレックス ( $\text{Ca}^{2+} \pm 0.05\%$ ) Cav1.2 阻害剤 (50  $\mu\text{M}$ ) → Contrex ( $\text{Ca}^{2+} \pm 0.05\%$ ) + Cav1.2 Inhibitor (50  $\mu\text{M}$ )
- コントレックス ( $\text{Ca}^{2+} \pm 0.05\%$ ) Cav3 阻害剤 (25  $\mu\text{M}$ ) → Contrex ( $\text{Ca}^{2+} \pm 0.05\%$ ) + Cav3 Inhibitor (25  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.05% 対照群 →  $\text{Ca}^{2+}$  0.05% Control
- $\text{Ca}^{2+}$  0.05% Cav1.2 阻害剤 (50  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.05% + Cav1.2 Inhibitor (50  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.05% Cav3 阻害剤 (25  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.05% + Cav3 Inhibitor (25  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.1% 対照群 →  $\text{Ca}^{2+}$  0.1% Control
- $\text{Ca}^{2+}$  0.1% Cav1.2 阻害剤 (50  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.1% + Cav1.2 Inhibitor (50  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.1% Cav3 阻害剤 (25  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.1% + Cav3 Inhibitor (25  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.15% 対照群 →  $\text{Ca}^{2+}$  0.15% Control
- $\text{Ca}^{2+}$  0.15% Cav1.2 阻害剤 (50  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.15% + Cav1.2 Inhibitor (50  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.15% Cav3 阻害剤 (25  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.15% + Cav3 Inhibitor (25  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.2% 対照群 →  $\text{Ca}^{2+}$  0.2% Control
- $\text{Ca}^{2+}$  0.2% Cav1.2 阻害剤 (50  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.2% + Cav1.2 Inhibitor (50  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.2% Cav3 阻害剤 (25  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.2% + Cav3 Inhibitor (25  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.3% 対照群 →  $\text{Ca}^{2+}$  0.3% Control
- $\text{Ca}^{2+}$  0.3% Cav1.2 阻害剤 (50  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.3% + Cav1.2 Inhibitor (50  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.3% Cav3 阻害剤 (25  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.3% + Cav3 Inhibitor (25  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.4% 対照群 →  $\text{Ca}^{2+}$  0.4% Control
- $\text{Ca}^{2+}$  0.4% Cav1.2 阻害剤 (50  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.4% + Cav1.2 Inhibitor (50  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.4% Cav3 阻害剤 (25  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.4% + Cav3 Inhibitor (25  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.5% 対照群 →  $\text{Ca}^{2+}$  0.5% Control
- $\text{Ca}^{2+}$  0.5% Cav1.2 阻害剤 (50  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.5% + Cav1.2 Inhibitor (50  $\mu\text{M}$ )
- $\text{Ca}^{2+}$  0.5% Cav3 阻害剤 (25  $\mu\text{M}$ ) →  $\text{Ca}^{2+}$  0.5% + Cav3 Inhibitor (25  $\mu\text{M}$ )



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



## Water Types and Mineral Content

Soft Water	Minami Alps Natural Water (Hardness: 30.0mg/L, pH8.8–9.4, Total dissolved solids: ~0.003%)	Crystal Geyser (Hardness: 38.0mg/L, pH7.6, Total dissolved solids: ~0.004%)	Average Tap Water (China Region) (Hardness: 67.9 ± 9.3mg/L, pH7.4 ± 0.1, Total dissolved solids: ~0.007%)
	Na: 4.0–10.0mg/L	Na: 11.3mg/L	Na: 16.7 ± 5.9mg/L
	K: ~0.1mg/L	K: 1.3mg/L	K: 2.4 ± 0.5mg/L
Hard Water	Mg: 1.0–4.0mg/L	Mg: 6.1mg/L	Mg: 3.7 ± 1.6mg/L
	Ca: 6.0–15.0mg/L	Ca: 6.4mg/L	Ca: 13.3 ± 3.5mg/L
	Evian (Hardness: 304.0mg/L, pH7.8, Total dissolved solids: ~0.03%)	Vittel (Hardness: 315.0mg/L, pH7.8, Total dissolved solids: ~0.03%)	Contrex (Hardness: 1468.0mg/L, pH7.3, Total dissolved solids: ~0.15%)
Hard Water	Na: 7.0mg/L	Na: 7.3mg/L	Na: 9.4mg/L
	K: Not listed	K: 1.4mg/L	K: 2.8mg/L
	Mg: 26.0mg/L	Mg: 19.0mg/L	Mg: 74.5mg/L
Salt/Brine Water	Ca: 80.0mg/L	Ca: 94.0mg/L	Ca: 468.0mg/L
	Seto Inland Sea Salt Used (pH6.8–7.4, Salt concentration: ~0.15%)	Seto Inland Sea Salt Used (pH6.8–7.4, Salt concentration: ~0.3%)	Seto Inland Sea Brine Used (pH6.8–7.4, Salt concentration: 1.0%)
	Na: 1500.0mg/L + Composition of added water	Na: 3000.0mg/L + Composition of added water	Na: 10.0g/L + Composition of added water

## [Water Hardness and Quality]

There are various definitions, but the following are general global standards.

Water Hardness = Amount of Magnesium (Mg) + Calcium (Ca)

(+ Sometimes includes Potassium (K), though rarely)

Sodium (Na) is not included.

Calculation Formula:

Hardness (mg/L) = Ca concentration (mg/L) × 2.497 + Mg concentration (mg/L) × 4.118

The value is an indicator that converts the amount of calcium and magnesium in 1L of water into equivalent calcium carbonate (CaCO<sub>3</sub>) weight.



## Definitions Related to Na (Sodium) Concentration in Water

**<Water Salinity (Substances dissolved in water such as salt and minerals, does not equate to hardness)>**

- Freshwater: Salinity less than 0.05%
  - Slightly saline water (brackish or marginal): Salinity about 0.05–0.1%
  - Brackish water: Salinity about 0.1–0.2% (can be up to 0.5%)
  - Salt water (seawater level): Salinity ~3.0–3.5%
  - Concentrated brine water: Salinity 1.0–3.5%
  - High-concentration brine water (used for pickling, seawater level, etc.): Salinity more than 3.5%
- 

## WHO Drinking Water Hardness Guidelines

- Soft Water: Hardness less than 60mg/L
- Moderately Hard Water: Hardness 60–120mg/L
- Hard Water: Hardness 120–180mg/L (0.012–0.018%)
- Very Hard Water: Hardness over 180mg/L (0.018%)

## References

- Burgess AM, Vere DW. Teratogenic effects of some calcium channel blocking agents in *Xenopus* embryos. *Pharmacol Toxicol.* 1989;64(1):78–82.
- Cutie S, Huang GN. Vertebrate cardiac regeneration: evolutionary and developmental perspectives. *Cell Regeneration.* 2021;10:19.
- Hempel A, Kühl M. A Matter of the Heart: The African Clawed Frog *Xenopus* as a Model for Studying Vertebrate Cardiogenesis and Congenital Heart Defects. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2016;3(2):21.
- Lewis RS, et al. Voltage-gated calcium channel  $\alpha 1$  subunits in *Xenopus* development. *Dev Dyn.* 2009;238(11):2836–2849.
- Paudel S, et al. Calcium Signaling in Vertebrate Development and Its Role in Disease. *Front Mol Biosci.* 2018;5:61.
- Piatkowski T, Mühlfeld C, Borchardt T, Braun T. Reconstitution of the Myocardium in Regenerating Newt Hearts Is Preceded and Possibly Directed by Transient Deposition of ECM Components. *Stem Cells Dev.* 2013;22(14):1921–1934.
- Scranton KJ, et al. Modulation of the Cardiac  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  Exchanger by Cytoplasmic Protons: A Mechanistic Review. *Front Physiol.* 2019;10:728.
- Solís-Garrido LM, Pintado AJ, Andrés-Mateos E, et al. Cross-talk between native plasmalemmal  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger and  $\text{InsP}_3$ -sensitive  $\text{Ca}^{2+}$  internal store in *Xenopus laevis* oocytes. *J Biol Chem.* 2004;279(50):52414–52424.
- Warkman AS, Krieg PA. *Xenopus* as a model system for vertebrate heart development. *Semin Cell Dev Biol.* 2007;18(1):46–53.
- [Reference (Recent Structural Biology of NCX)] Xue J, et al. Structural mechanisms of the human cardiac sodium–calcium exchanger. *Nat Commun.* 2023;14:6343.
- [Reference (Comparative Heart Development Review)] Kolker SJ, et al. The Morphology of Heart Development in *Xenopus laevis*. *Dev Dyn.* 2000;218(4):612–625.
- Cabinet Office, Japan. Bioethics and Biosafety Committee, Science and Technology Policy Bureau. “Materials on Regenerative Medicine and Life Sciences” 43rd Meeting, Material 3-4. 2020. <https://www8.cao.go.jp/cstp/tyousakai/life/haihu43/siryo3-4.pdf>
- Kunio Ishii. Clinical Pharmacological Studies of the Calcium Channel Blocker Nifedipine. *J Jpn Soc Clin Pharmacol Ther.* 2015;46(1):30–36. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsct/46/1/46\\_30/\\_pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsct/46/1/46_30/_pdf/-char/ja)
- Pharmaceutical Society of Japan. Voltage-dependent Calcium Channels and Drug Discovery. *Yakugaku Zasshi.* 2020;140(10):1381–1394. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/yakushi/140/10/140\\_20-00138/\\_pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/yakushi/140/10/140_20-00138/_pdf/-char/ja)
- Wikipedia. Voltage-dependent calcium channel. <https://ja.wikipedia.org/wiki/電位依存性カルシウムチャネル>
- Minerva Clinic. Calcium Channel – Glossary of Genetic Terms. <https://minerva-clinic.or.jp/academic/terminologyofmedicalgenetics/kagyou/calcium-channel/>
- Nieuwkoop, P.D., Faber, J. *Normal Table of Xenopus laevis (Daudin)*. Developmental Biology Online Resource, University of Texas. <https://w3.biosci.utexas.edu/experimentalembryology/stagedseries.html>

## Note:

Among the references listed above, the following were used as primary sources for this paper:

- Expression of CaV1.2 / CaV3.2 in *Xenopus* embryonic heart (Lewis 2009)
- Functional expression of endogenous NCX (Solis-Garrido 2004)
- Myocardial reconstruction during newt heart regeneration (Piatkowski 2013)
- Heart development modeling using *Xenopus* (Hempel & Kühl 2016; Warkman & Krieg 2007)
- Role of Ca<sup>2+</sup> signaling in development and regeneration (Paudel 2018)

The essential role of NCX1 in cardiac function in mammals is referenced for comparison (Scranton 2019, Xue 2023).

---

## Supplement (Terminology)

- In this paper, the term NHX follows the animal biology convention and refers to NHE (Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger; SLC9A family). This is conceptually distinct from the vacuolar-type NHX in plants.

---

## Supplementary Figure 1 – Notes

- FCM analysis (KDR<sup>+</sup>/PDGFRα<sup>+</sup>): 3,000 cells counted.
  - [Cells from the presumptive heart region of 30 pre-hatching tadpoles (with cloudy eyes, recently deceased and stiffened) were transplanted into the abdominal cavity of other pre-hatching tadpoles.]
- ※ This procedure was conducted as part of support for an axolotl line known to experience cardiac dysfunction (under preparation for publication).

## SNS and Mail Address

Researchmap: [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl)

X: [https://x.com/lab\\_new2](https://x.com/lab_new2)

ResearchGate: <https://www.researchgate.net/profile/Sugiyama-Haruka>

Contact: [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com)



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



## 【総説】両生類における脂肪組織と脂質代謝

### Review: Adipose Tissue and Lipid Metabolism in Amphibians

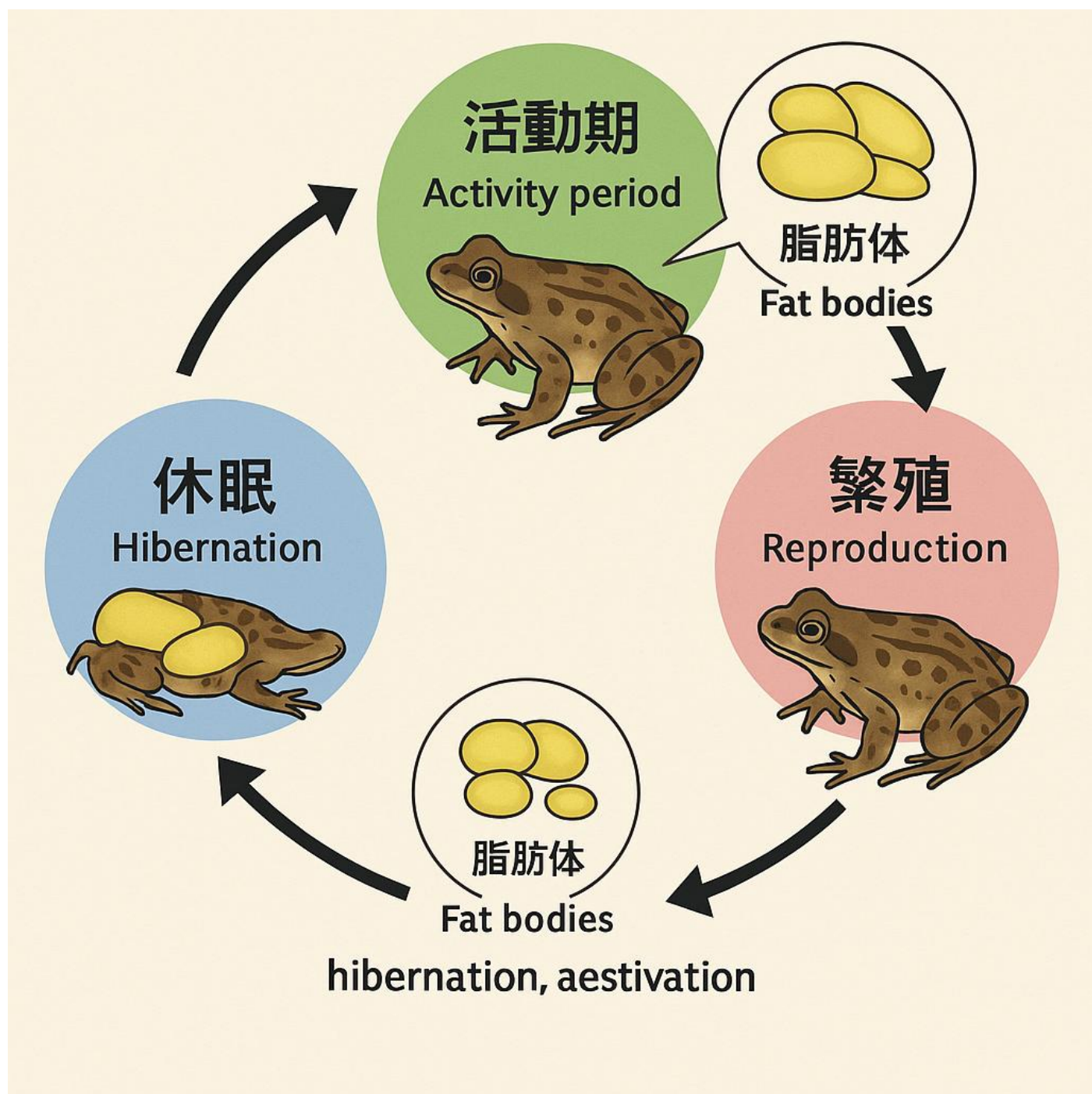
著: F.N. 三太子<sup>1</sup>; 杉山 遥<sup>1</sup>; 横江 誼衡<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO 研究グループ\_ハルラボ (ウーパールーパー研究室), <sup>2</sup> 東京大学, <sup>3</sup> 秀明大学, <sup>4</sup> サイモン・テクノロジー

**Authors:** F.N. Santako<sup>1</sup>; Sugiyama Axolotl Haruka<sup>1</sup>; Yoshichika Yokoe<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO Research Group\_HARU-Lab (Axolotl Research Laboratory), <sup>2</sup> The University of Tokyo, <sup>3</sup> Shumei Univ,

<sup>4</sup> SciMountechnology





## 1. 両生類における脂肪組織 (fat bodies)

- 両生類は哺乳類と同様に脂肪をエネルギー貯蔵源として利用しますが、形態は独特です。
- 代表的な構造が fat bodies (脂肪体) と呼ばれる器官で、腎臓付近や性腺の近くに存在します。
- 役割：
  - 越冬や断食など、飢餓期のエネルギー供給
  - 生殖 (卵や精子の形成時期にエネルギーを供給)
  - ビタミンや脂溶性物質の貯蔵

特に繁殖期には脂肪体が縮小し、蓄積した脂質が生殖に利用されます。

---

## 2. 脂質代謝の特徴

- 両生類は外温動物 (変温動物) であり、環境温度によって代謝速度が大きく変化します。
- 低温では脂質の利用が減少し、長期の冬眠に備えて脂肪体にエネルギーを貯蔵します。
- 高温では代謝が活性化し、脂質もより早く動員されます。
- 栄養素利用の優先順位は、通常は糖質 > 脂質ですが、長期の断食や繁殖期では脂質利用が増加します。

---

## 3. 脂質の種類と機能

- トリアシルグリセロール (中性脂肪): 主な貯蔵形態
- リン脂質: 細胞膜の主要成分、発生・再生過程でも重要
- コレステロール: ホルモン合成、膜の安定化に関与
- 必須脂肪酸 (リノール酸など): 食餌由来で、両生類も合成できない

---

## 4. 脂質代謝と両生類のライフサイクル

- 変態期 (オタマジャクシ→カエル)
  - 体構造の大変化にエネルギーが必要。糖だけでなく脂質も動員される。
- 繁殖期
  - 脂肪体に貯めた脂質が、卵黄形成 (ビテロジェネシス) や精子形成に利用される。
- 冬眠・休眠
  - 脂肪体が主要なエネルギー源。冬眠中の代謝は低下し、脂質酸化が持続的に進む。

---

## 5. 脂質代謝と再生

- イモリやアホロートルの四肢再生では、脂質代謝経路が再生芽 (ブラステマ) の形成と維持に重要であると報告されています。
- 脂肪酸の分解で得られるエネルギー ( $\beta$  酸化) と、膜脂質合成に必要な材料が、再生中の細胞増殖に使われます。
- また、脂質シグナル分子 (プロスタグランジンやリゾホスファチジン酸など) は、炎症制御・細胞移動・血管新生に関与します。

---

## 6. 研究的意義

- 両生類の脂質代謝研究は、以下に役立ちます：
  - 冬眠や低代謝状態の理解 (→臨床での低体温療法や代謝制御に応用)
  - 生殖とエネルギー配分の研究 (→繁殖生理学への応用)
  - 再生医療の基盤 (→脂質シグナルの制御による再生促進)

## まとめ

両生類は 脂肪体を中心に脂質を蓄積し、繁殖・変態・冬眠・再生などライフサイクルの節目で動員します。脂質は単なるエネルギー源にとどまらず、細胞膜の構築やシグナル伝達、再生の制御に関わる重要な因子です。

### 1. Fat bodies in amphibians

- Like mammals, amphibians use fat as an energy reserve, but their morphology is unique.
- A representative structure is the fat bodies, located near the kidneys and gonads.
- Roles:
  - Energy supply during starvation periods such as hibernation or fasting
  - Providing energy for reproduction (egg and sperm formation)
  - Storage of vitamins and fat-soluble substances
- Notably, fat bodies shrink during the breeding season, as stored lipids are mobilized for reproduction.

---

### 2. Characteristics of lipid metabolism

- Amphibians are ectothermic (cold-blooded), and their metabolic rate changes greatly with environmental temperature.
- At low temperatures, lipid utilization decreases, and energy is stored in fat bodies in preparation for long-term hibernation.
- At high temperatures, metabolism is activated, and lipids are mobilized more quickly.
- The priority of nutrient use is generally carbohydrates > lipids, but lipid utilization increases during long-term fasting and the breeding season.

---

### 3. Types and functions of lipids

- Triacylglycerol (neutral fat): the main storage form
- Phospholipids: main component of cell membranes, also important in development and regeneration
- Cholesterol: involved in hormone synthesis and membrane stabilization
- Essential fatty acids (e.g., linoleic acid): diet-derived, cannot be synthesized by amphibians

---

### 4. Lipid metabolism and amphibian life cycle

- Metamorphosis (tadpole → frog):  
Large amounts of energy are required for drastic structural changes; not only carbohydrates but also lipids are mobilized.
- Breeding season:  
Lipids stored in fat bodies are used for yolk formation (vitellogenesis) and spermatogenesis.

- Hibernation/dormancy:  
Fat bodies serve as the main energy source. During hibernation, metabolism decreases, while lipid oxidation continues steadily.
- 

## 5. Lipid metabolism and regeneration

- In limb regeneration of newts and axolotls, lipid metabolic pathways have been reported to be important for the formation and maintenance of the blastema.
  - Energy obtained from fatty acid degradation ( $\beta$ -oxidation) and materials required for membrane lipid synthesis are used in proliferating cells during regeneration.
  - In addition, lipid signaling molecules (such as prostaglandins and lysophosphatidic acid) are involved in inflammation control, cell migration, and angiogenesis.
- 

## 6. Scientific significance

Research on lipid metabolism in amphibians contributes to:

- Understanding hibernation and low metabolic states ( $\rightarrow$  applicable to clinical hypothermia therapy and metabolic control)
  - Studies of reproduction and energy allocation ( $\rightarrow$  applications in reproductive physiology)
  - Foundations of regenerative medicine ( $\rightarrow$  promotion of regeneration by controlling lipid signaling)
- 

## Summary

Amphibians accumulate lipids mainly in fat bodies and mobilize them at key points in the life cycle such as reproduction, metamorphosis, hibernation, and regeneration. Lipids are not only an energy source but also important factors in cell membrane construction, signal transduction, and the regulation of regeneration.

## 1. 両生類の脂肪組織の特徴

- 両生類は体内に **fat bodies (脂肪体)** を持ちます。
    - 腎臓や性腺 (卵巣・精巣) の近くに位置する黄色い組織。
    - 中性脂肪 (トリアシルグリセロール) が主成分で、必要に応じて分解・動員されます。
  - 脂肪体は単なるエネルギー貯蔵だけでなく、繁殖や休眠に深く関与する「エネルギーバンク」の役割を担っています。
- 

## 2. 繁殖と脂肪・脂質

### ♂ 雄

- 繁殖期には精子形成や性行動に大量のエネルギーが必要です。
- 脂肪体は縮小し、蓄積された脂質が利用されます。
- 雄では「繁殖期＝脂肪体が痩せる」という現象がよく見られます。

### ♀ 雌

- 卵形成 (卵黄形成：ビテロジェネシス) に大量の脂質が使われます。
  - リン脂質：細胞膜材料
  - コレステロール：ホルモン合成、卵膜安定化
  - トリアシルグリセロール：発生初期のエネルギー源
- 卵黄タンパク (ビテロゲニン) が肝臓で合成され、血中輸送される際にも脂質が重要です。

繁殖期の雌雄ともに、**脂肪体の大きさは繁殖成功率の指標**とされることがあります。

---

## 3. 休眠 (冬眠・夏眠) と脂肪・脂質

- 両生類は寒冷や乾燥に対応して休眠に入ります。
  - 休眠中は外部からの餌を摂れないため、脂肪体に蓄えた脂質が主要なエネルギー源。
  - 冬眠個体では：
    - 代謝全体が低下する一方、**脂肪酸の酸化**が持続的に進む。
    - 脂肪体は冬眠期間中に徐々に縮小し、春の活動期には痩せていることが多い。
  - 夏眠 (乾季回避) でも同様に脂肪体が重要な役割を果たします。
- 

## 4. 脂質の役割 (繁殖・休眠共通)

- エネルギー供給：ATP 産生 ( $\beta$  酸化)
  - 膜脂質合成：分裂・発生に必要
  - シグナル分子：プロスタグランジン、ホルモン前駆体として繁殖行動や代謝制御に関与
- 

## 5. 研究的知見

- アマガエルやヒキガエルでは、繁殖期に脂肪体が著しく縮小することが確認されています。
  - サラマンダー類では、冬眠後に脂肪体が減少し、繁殖活動の前に再度餌を摂取して回復させる必要があると報告されています。
  - 脂肪体の状態は「繁殖投資量」と「越冬成功率」を左右する重要な要素です。
-



## まとめ

- **繁殖期**：脂肪体の脂質が、生殖細胞形成（卵や精子）と繁殖活動の主要エネルギー源。
- **休眠期**：脂肪体に蓄えた脂質が、生存維持のほぼ唯一のエネルギー源。
- 両者に共通して、**脂肪体は生殖と生存の成否を決める中心的な臓器**といえます。

# The Relationship Between Reproduction, Dormancy (Hibernation, Aestivation), and Fat/Lipid Metabolism in Amphibians

## 1. Characteristics of Amphibian Adipose Tissue

- Amphibians possess **fat bodies**,
  - Yellowish structures located near the kidneys and gonads (ovaries/testes).
  - Composed mainly of triacylglycerols (neutral fats), which can be broken down and mobilized as needed.
- Fat bodies function not only as simple energy stores but also as **“energy banks”** that play a central role in reproduction and dormancy.

## 2. Reproduction and Fat/Lipids

### ♂ Males

- Considerable energy is required for spermatogenesis and reproductive behaviors during the breeding season.
- Fat bodies shrink as stored lipids are utilized.
- In males, the phenomenon of “fat bodies thinning during the breeding season” is commonly observed.

### ♀ Females

- Large amounts of lipids are consumed in egg formation (yolk formation: vitellogenesis).
  - Phospholipids: membrane materials
  - Cholesterol: hormone synthesis, stabilization of egg membranes
  - Triacylglycerols: primary energy source for early development
- Lipids are also essential in the transport of yolk protein (vitellogenin), which is synthesized in the liver and transported through the bloodstream.
- In both sexes, the size of the fat bodies can serve as an indicator of reproductive success.

## 3. Dormancy (Hibernation and Aestivation) and Fat/Lipids

- Amphibians enter dormancy in response to cold or dry conditions.
- During dormancy, when external feeding is not possible, fat bodies serve as the **primary energy source**.
- In hibernating individuals:
  - Overall metabolism decreases, but fatty acid oxidation continues steadily.
  - Fat bodies gradually diminish during hibernation, often leaving animals thinner in spring.
- During aestivation (avoidance of dry seasons), fat bodies likewise play a crucial role.

## 4. Roles of Lipids (Shared Between Reproduction and Dormancy)



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



- **Energy supply:** ATP production through  $\beta$ -oxidation
  - **Membrane lipid synthesis:** essential for cell division and development
  - **Signaling molecules:** prostaglandins and hormone precursors involved in reproductive behavior and metabolic regulation
- 

## 5. Research Findings

- In tree frogs and toads, fat bodies are known to shrink significantly during the breeding season.
  - In salamanders, fat bodies are reduced after hibernation, and individuals must replenish them through feeding before engaging in reproduction.
  - The condition of the fat bodies is a key factor influencing both **reproductive investment** and **overwintering success**.
- 

## Summary

- **Breeding season:** Fat stored in fat bodies serves as the main energy source for gamete formation (eggs and sperm) and reproductive activity.
- **Dormancy:** Lipids in fat bodies are virtually the sole energy source for survival.
- In both cases, fat bodies can be regarded as central organs determining the success of reproduction and survival in amphibians.

## 参考文献リスト

1. **Wells, K. D. (2007).**  
*The Ecology and Behavior of Amphibians.*  
University of Chicago Press.  
→ 両生類の生態、繁殖戦略、脂肪体の役割について網羅的に解説。
2. **Duellman, W. E., & Trueb, L. (1994).**  
*Biology of Amphibians.*  
Johns Hopkins University Press.  
→ 両生類の形態・生理・繁殖生態についての古典的教科書。
3. **Naya, D. E., et al. (2008).**  
"Seasonal changes in digestive physiology and fat body size in the toad *Rhinella arenarum*."  
*Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 309A(5), 273–281.  
→ 季節変化と脂肪体の役割に関する実験的研究。
4. **Jørgensen, C. B. (1992).**  
"Growth and reproduction in amphibians: physiological adaptations."  
*Herpetologica*, 48(3), 319–326.  
→ 両生類の成長と繁殖における脂質利用の解説。
5. **Hsu, C. Y., & Wang, H. D. (2005).**  
"Changes in body composition and energy reserves in hibernating frogs."  
*Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 141(3), 321–329.  
→ 冬眠期におけるエネルギー源としての脂質利用。
6. **Regueira, E., et al. (2016).**  
"Fat bodies in amphibians: structure and functional aspects."  
*Tissue and Cell*, 48(2), 127–133.  
→ 脂肪体の構造・機能に焦点を当てた詳細な研究。
7. **Wright, K. M., & Whitaker, B. R. (2001).**  
*Amphibian Medicine and Captive Husbandry.*  
Krieger Publishing.  
→ 飼育下の両生類の健康管理と脂肪代謝の観点。
8. **Tattersall, G. J., & Ultsch, G. R. (2008).**  
"Physiological ecology of hibernation in amphibians and reptiles."  
*Biological Reviews*, 83(2), 191–205.  
→ 両生類・爬虫類における休眠と代謝制御の総説。
9. **Bauchinger, U., & McWilliams, S. R. (2010).**  
"Changes in organ size and fat reserves in amphibians during reproduction."  
*Physiological and Biochemical Zoology*, 83(2), 289–296.  
→ 繁殖期における脂肪動員と生理変化。

# 両生類における脂質異常の知見

## 1. 脂肪体 (fat bodies) の異常

- 両生類は腎臓や性腺周辺に脂肪体を持ち、繁殖や休眠のエネルギー源として利用。
- 異常例：
  - 栄養過多 → 脂肪体の過剰肥大、繁殖投資の阻害。
  - 栄養不足/飢餓 → 脂肪体の萎縮、繁殖不全や越冬失敗のリスク増大。
  - 繁殖期や冬眠後に脂肪体が十分に回復しないと、生存率・繁殖成功率が下がる。

## 2. 脂質沈着と肝障害

- 飼育下のカエルやサラマンダーで **脂肪肝 (hepatic lipidosis)** が報告。
  - 高脂肪食や低運動環境が要因。
  - 肝臓への脂質過剰沈着 → 肝不全や繁殖障害につながる。
- 特にアカメアマガエル (*Agalychnis callidryas*) などで事例が知られる。

## 3. 繁殖生理との関連

- 卵形成 (ビテロジェネシス) や精子形成に必要な脂質が不足すると、繁殖不全に直結。
- 脂質異常がホルモン分泌や性成熟の遅延を引き起こすことがある。

## 4. 休眠・環境ストレスとの関連

- 冬眠・夏眠に必要な脂肪体が不足すると、代謝維持が困難になり死亡率上昇。
- 環境汚染 (農薬、重金属など) が脂質代謝酵素を阻害し、脂肪体や肝臓の異常を引き起こす事例あり。

## 5. 飼育下での臨床的報告

- 両生類のペット飼育でよくみられる脂質異常：
  - 肥満 (脂肪体・皮下脂肪の過剰蓄積)
  - 脂肪肝 (人工飼料の過剰投与)
- 症状としては拒食、運動不良、繁殖失敗など。

## 参考文献リスト

- Regueira, E., et al. (2016).**  
*Fat bodies in amphibians: structure and functional aspects.*  
*Tissue and Cell*, 48(2), 127–133.  
→ 脂肪体の構造・機能、異常時の影響を解説。
- Naya, D. E., et al. (2008).**  
*Seasonal changes in digestive physiology and fat body size in the toad *Rhinella arenarum*.*  
*Journal of Experimental Zoology A*, 309(5), 273–281.  
→ 季節変化に伴う脂肪体のサイズ変化と代謝。
- Tattersall, G. J., & Ultsch, G. R. (2008).**  
*Physiological ecology of hibernation in amphibians and reptiles.*  
*Biological Reviews*, 83(2), 191–205.  
→ 冬眠期の代謝制御と脂質利用、異常時の影響。



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





4. **Wright, K. M., & Whitaker, B. R. (2001).**

*Amphibian Medicine and Captive Husbandry.*

Krieger Publishing.

→ 飼育下での脂肪肝、肥満などの臨床例を収録。

5. **McWilliams, S. R., & Bauchinger, U. (2010).**

*Changes in organ size and fat reserves in amphibians during reproduction.*

*Physiological and Biochemical Zoology*, 83(2), 289–296.

→ 繁殖期における脂肪体の変化と異常が繁殖成績に与える影響。

6. **Hopkins, W. A., et al. (1997).**

*Effects of contaminants on amphibian lipid metabolism.*

*Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(4), 706–712.

→ 環境汚染による脂質代謝異常。

# Knowledge on Lipid Disorders in Amphibians

## 1. Abnormalities of Fat Bodies

- Amphibians possess fat bodies around the kidneys and gonads, which are used as energy reserves for reproduction and dormancy.
  - Examples of abnormalities:
    - **Overnutrition** → excessive hypertrophy of fat bodies, leading to impaired reproductive investment.
    - **Undernutrition/fasting** → atrophy of fat bodies, increasing the risk of reproductive failure or unsuccessful overwintering.
    - If fat bodies are not sufficiently replenished after the breeding season or hibernation, survival rate and reproductive success decrease.
- 

## 2. Lipid Deposition and Liver Disorders

- **Hepatic lipidosis (fatty liver)** has been reported in captive frogs and salamanders.
    - Causes include high-fat diets and low activity environments.
    - Excessive lipid deposition in the liver can lead to liver failure and reproductive problems.
  - Such cases are particularly noted in species such as the red-eyed tree frog (*Agalychnis callidryas*).
- 

## 3. Relationship with Reproductive Physiology

- Insufficient lipids for egg formation (vitellogenesis) or spermatogenesis directly cause reproductive failure.
  - Lipid abnormalities can disrupt hormone secretion and delay sexual maturation.
- 

## 4. Dormancy and Environmental Stress

- Lack of sufficient fat bodies required for hibernation/aestivation makes it difficult to maintain metabolism and increases mortality.
  - Environmental pollutants (e.g., pesticides, heavy metals) may inhibit lipid-metabolizing enzymes, causing abnormalities in fat bodies or liver tissue.
- 

## 5. Clinical Reports in Captivity

- Lipid disorders often seen in amphibians kept as pets:
    - **Obesity** (excessive accumulation of fat bodies and subcutaneous fat)
    - **Hepatic lipidosis** (often caused by overfeeding artificial diets)
  - Reported symptoms include anorexia, reduced activity, and reproductive failure.
-

## Reference List

1. **Regueira, E., et al. (2016).**  
*Fat bodies in amphibians: structure and functional aspects.*  
*Tissue and Cell*, 48(2), 127–133.  
→ Explains the structure and function of fat bodies and their abnormalities.
2. **Naya, D. E., et al. (2008).**  
*Seasonal changes in digestive physiology and fat body size in the toad *Rhinella arenarum*.*  
*Journal of Experimental Zoology A*, 309(5), 273–281.  
→ Seasonal variation in fat body size and metabolism.
3. **Tattersall, G. J., & Ultsch, G. R. (2008).**  
*Physiological ecology of hibernation in amphibians and reptiles.*  
*Biological Reviews*, 83(2), 191–205.  
→ Metabolic regulation and lipid utilization during hibernation, and their abnormalities.
4. **Wright, K. M., & Whitaker, B. R. (2001).**  
*Amphibian Medicine and Captive Husbandry.*  
Krieger Publishing.  
→ Clinical cases of hepatic lipidosis and obesity in captive amphibians.
5. **McWilliams, S. R., & Bauchinger, U. (2010).**  
*Changes in organ size and fat reserves in amphibians during reproduction.*  
*Physiological and Biochemical Zoology*, 83(2), 289–296.  
→ Changes in fat bodies during reproduction and their impact on reproductive performance.
6. **Hopkins, W. A., et al. (1997).**  
*Effects of contaminants on amphibian lipid metabolism.*  
*Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(4), 706–712.  
→ Effects of environmental contamination on lipid metabolism.

## 両生類の脂質異常と関連遺伝子・転写制御因子

### 1. カエル類（無尾類：アマガエル、ヒキガエル、ツメガエルなど）

#### 脂質代謝関連遺伝子

- **PPAR $\gamma$  (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma)**
  - 脂肪細胞分化・脂質貯蔵を調節。
  - *Xenopus laevis* で発現が確認され、脂肪酸代謝と脂肪体形成に関与。
- **FABP (Fatty acid-binding proteins)**
  - 脂肪酸輸送・シグナル調節。
  - *Rana catesbeiana*（ウシガエル）で脂質利用時に発現上昇。
- **LPL (Lipoprotein lipase)**
  - トリグリセリドの分解酵素。脂肪体や肝臓で発現。
  - ヒキガエルで栄養状態に応じて調節される。

#### 転写制御因子

- **SREBP-1c (Sterol regulatory element-binding protein 1c)**
  - 脂肪酸合成酵素群を制御。脂肪肝や過栄養状態で活性化。
  - ツメガエル肝臓で報告あり。
- **FOXO1 (Forkhead box protein O1)**
  - 絶食やストレスで脂質動員を促進。
  - 冬眠個体の脂質利用に関連する発現変動が報告される。

---

### 2. 有尾類（イモリ、サンショウウオ、アホロートル）

#### 脂質代謝関連遺伝子

- **CPT1 (Carnitine palmitoyltransferase 1)**
  - 脂肪酸  $\beta$  酸化の律速酵素。
  - *Ambystoma mexicanum*（アホロートル）で四肢再生芽に発現し、再生時のエネルギー供給に重要。
- **ACOX1 (Acyl-CoA oxidase 1)**
  - 脂肪酸分解の初期酵素。再生芽で上昇することが RNA-seq 解析で示唆される。
- **DGAT1 (Diacylglycerol acyltransferase 1)**
  - トリグリセリド合成の最終段階を担う。
  - 再生期イモリで脂肪蓄積と利用のバランス制御に関与。

#### 転写制御因子

- **PPAR $\alpha$  (Peroxisome proliferator-activated receptor alpha)**
  - 脂肪酸酸化を促進。再生芽で上昇傾向。
  - サラマンダー類の休眠期にも活性化。
- **HIF-1 $\alpha$  (Hypoxia-inducible factor 1-alpha)**
  - 低酸素環境下で脂質代謝・糖代謝シフトを制御。
  - 冬眠中のサラマンダーで報告。
- **PGC-1 $\alpha$  (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha)**
  - ミトコンドリア生合成と脂質酸化を促進。
  - イモリの四肢再生において、細胞増殖に伴い上昇。



### 3. 共通的な脂質代謝関連因子（両群にみられる）

- **AMPK (AMP-activated protein kinase)**
  - エネルギーセンサー。脂質酸化を促進、脂質合成を抑制。
  - 冬眠中のエネルギー低下で活性化。
- **Leptin (ホルモン)**
  - 脂肪組織由来、摂食・エネルギーバランスを調節。
  - 両生類で報告は少ないが、*Xenopus* で遺伝子が同定されている。

---

#### 参考文献リスト

1. Regueira, E., et al. (2016). *Fat bodies in amphibians: structure and functional aspects*. Tissue and Cell, 48(2), 127–133.
  2. Naya, D. E., et al. (2008). *Seasonal changes in digestive physiology and fat body size in the toad *Rhinella arenarum**. J Exp Zool A, 309(5), 273–281.
  3. Tattersall, G. J., & Ultsch, G. R. (2008). *Physiological ecology of hibernation in amphibians and reptiles*. Biological Reviews, 83(2), 191–205.
  4. Wu, C. S., et al. (2019). *Transcriptomic analysis of axolotl limb regeneration reveals metabolic reprogramming including lipid metabolism*. Developmental Biology, 452(2), 119–130.
  5. Love, N. R., et al. (2014). *Genome-wide analysis of gene expression during *Xenopus* metamorphosis*. Dev Biol, 389(2), 160–174.
  6. Hopkins, W. A., et al. (1997). *Effects of contaminants on amphibian lipid metabolism*. Environmental Toxicology and Chemistry, 16(4), 706–712.
  7. Wright, K. M., & Whitaker, B. R. (2001). *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*. Krieger Publishing.
- 

#### まとめ

両生類の脂質異常や代謝制御には、**PPAR 群**、**SREBP**、**FOXO**、**AMPK** といった転写因子が関与し、カエル類とイモリ類で状況に応じて異なる遺伝子群が動員されます。

特に **繁殖期・休眠期・再生期** は脂質代謝の転換点であり、RNA-seq 研究からも **CPT1**, **ACOX1**, **PGC-1α** などが鍵因子として浮かび上がっています。

# Lipid Disorders and Related Genes/Transcription Factors in Amphibians

## 1. Anurans (frogs: tree frogs, toads, *Xenopus*, etc.)

### Lipid metabolism–related genes

- **PPAR $\gamma$**  (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma)
  - Regulates adipocyte differentiation and lipid storage.
  - Expression confirmed in *Xenopus laevis*, involved in fatty acid metabolism and fat body formation.
- **FABP** (Fatty acid-binding proteins)
  - Regulate fatty acid transport and signaling.
  - Expression increases during lipid utilization in *Rana catesbeiana* (bullfrog).
- **LPL** (Lipoprotein lipase)
  - Enzyme for triglyceride hydrolysis, expressed in fat bodies and liver.
  - Regulated according to nutritional state in toads.

### Transcription factors

- **SREBP-1c** (Sterol regulatory element-binding protein 1c)
  - Controls fatty acid synthase genes; activated in fatty liver and overnutrition.
  - Reported in *Xenopus* liver.
- **FOXO1** (Forkhead box protein O1)
  - Promotes lipid mobilization during fasting and stress.
  - Reported to fluctuate in expression in hibernating individuals, linked to lipid utilization.

---

## 2. Urodeles (newts, salamanders, axolotls)

### Lipid metabolism–related genes

- **CPT1** (Carnitine palmitoyltransferase 1)
  - Rate-limiting enzyme for fatty acid  $\beta$ -oxidation.
  - Expressed in the limb blastema of *Ambystoma mexicanum* (axolotl), essential for energy supply during regeneration.
- **ACOX1** (Acyl-CoA oxidase 1)
  - Initial enzyme in fatty acid degradation. RNA-seq data suggest increased expression in the blastema.
- **DGAT1** (Diacylglycerol acyltransferase 1)
  - Final step of triglyceride synthesis.
  - Implicated in regulating the balance of lipid storage and use during regeneration in newts.

### Transcription factors

- **PPAR $\alpha$**  (Peroxisome proliferator-activated receptor alpha)
  - Promotes fatty acid oxidation, shows increased expression in blastema.
  - Also activated during dormancy in salamanders.
- **HIF-1 $\alpha$**  (Hypoxia-inducible factor 1-alpha)
  - Regulates metabolic shift between lipids and carbohydrates under hypoxia.

- Reported in hibernating salamanders.
- **PGC-1 $\alpha$  (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha)**
  - Promotes mitochondrial biogenesis and lipid oxidation.
  - Upregulated during cell proliferation in newt limb regeneration.

---

### 3. Common lipid metabolism-related factors (found in both groups)

- **AMPK (AMP-activated protein kinase)**
    - Energy sensor; promotes lipid oxidation and suppresses lipid synthesis.
    - Activated under reduced energy during hibernation.
  - **Leptin (hormone)**
    - Secreted from adipose tissue; regulates feeding and energy balance.
    - Rarely reported in amphibians, but gene identified in *Xenopus*.
- 

### References

1. Regueira, E., et al. (2016). *Fat bodies in amphibians: structure and functional aspects*. Tissue and Cell, 48(2), 127–133.
  2. Naya, D. E., et al. (2008). *Seasonal changes in digestive physiology and fat body size in the toad *Rhinella arenarum**. J Exp Zool A, 309(5), 273–281.
  3. Tattersall, G. J., & Ultsch, G. R. (2008). *Physiological ecology of hibernation in amphibians and reptiles*. Biological Reviews, 83(2), 191–205.
  4. Wu, C. S., et al. (2019). *Transcriptomic analysis of axolotl limb regeneration reveals metabolic reprogramming including lipid metabolism*. Developmental Biology, 452(2), 119–130.
  5. Love, N. R., et al. (2014). *Genome-wide analysis of gene expression during *Xenopus* metamorphosis*. Dev Biol, 389(2), 160–174.
  6. Hopkins, W. A., et al. (1997). *Effects of contaminants on amphibian lipid metabolism*. Environmental Toxicology and Chemistry, 16(4), 706–712.
  7. Wright, K. M., & Whitaker, B. R. (2001). *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*. Krieger Publishing.
- 

### Summary

Transcription factors such as **PPARs, SREBP, FOXO, and AMPK** regulate lipid abnormalities and metabolism in amphibians. Distinct sets of genes are mobilized depending on the context in anurans versus urodeles. Importantly, **breeding, dormancy, and regeneration phases** represent metabolic turning points for lipid use, and RNA-seq studies have highlighted genes such as **CPT1, ACOX1, and PGC-1 $\alpha$**  as key factors.

## 【発表資料】

研究交流会 (25年7月13日)



研究交流会 (2025.7.13)

ビタミンでも育たないウーパー & イモリの成長制御



2025年7月13日

発表者: 杉山 遥 (Ph.D)





## ウーパールーパー (アホロートル) とは？

### メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*) の国内流通個体です (一部、他種と混血の説あり)

原産地: メキシコ (ソチミルコ湖)

最大体長: 20~25cm

幼形成熟 (ネオテニー) の形態を取れる

寿命は20年以上 (変態・上陸すると10年程度に。。。)

強み: 少々水質変化はへっちゃら

弱点: 細菌感染, カビ (免疫反応がアフリカツメガエルの半分以下)

※ 現在は絶滅の危機 (原因: 都市開発や埋め立てによる生息地減少)

胸腺が非常に小さいという報告あり. (Tリンパ球が作られにくい?)  
抗菌ペプチド・粘膜などの物理的な防御を突破されると急激に衰弱する.



## ウーパールーパー (アホロートル) とは？

### ↓ 流通系統のバリエーションと遺伝学的特徴 ↓

マーブル  
(野生型体色)



(野生種を生育し、ある程度固定化した品種。一部、交雑種も存在する。)

リュウシスティック  
(一部色素欠乏)



(endothelin3: *edn3* (Chr3p 短腕) 欠損変異ホモ; 上肢におけるユーメラニン欠乏)

ブラック  
(メラニン過剰)



(Leukocyte Tyrosine Kinase: *Ltk* (Chr14q 長腕) 欠損変異ホモ; 上肢におけるユーメラニンの過剰分泌・蓄積)

アルビノ系統 (tyrosinase: *tyr* (Chr7q 長腕) 欠損変異ホモ; 全身のユーメラニン欠乏)



遺伝子欠損の程度・フェオメラニン合成への影響の違い、他の体色変異等と併発することで体色に違いが見られる。

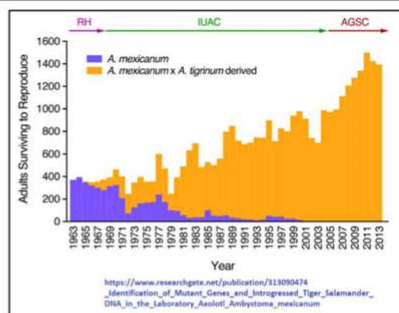


ゴールド



イエロー

(杉山 ほか, 2022-2023)



研究用個体: トウブタイガーサラマンダーとの混血  
ペット用流通個体: 野生型系統が残っている (率高い)

#### 【野生型体色を構成する色素】

- ・ **メラノフォア (黒色素細胞)** ... 黒色の色素は黒い、黒の対称性で光が散る (黒い、黒い)
- ・ **キサントフォア (黄色素細胞)** ... 黄色、メラノフォアと近接して存在し、斑模様を形成する。
- ・ **エリトフォア (赤色素細胞)** ... 赤色、メラノフォア同士で隣接する。
- ・ **シアンオグロニン (青色素細胞)** ... 上記3つの色素細胞の元となる細胞 (胚発生過程での神経管由来の細胞)



*endothelin3* (*edn3*): 血管内皮/平滑筋の収縮に関与する endothelin ファミリーの1つ。  
全身の血流の調節に寄与。

Ref: 筑波大学\_血管収縮因子エンドセリンと受容体タンパク質が形成する複合体構造を解明  
[https://www.tohoku.ac.jp/japanese/newimg/pressimg/tohokuuniv-press20241017\\_01web\\_ETB.pdf](https://www.tohoku.ac.jp/japanese/newimg/pressimg/tohokuuniv-press20241017_01web_ETB.pdf)



## 活動目的: アホロートル保全のための生態への理解



## 現在の主な取り組み

- ・ ウーパールーパー (アホロートル) の飼育条件のアップデート
- ・ アホロートルの栄養と成長制御機構の解明
- ・ 生存競争・生育密度と成長の関係性
- ・ 魚類における未知の成長制御・発生調節機構の解明
- ・ 昆虫との相関 (主にショウジョウバエ、フタホシコオロギ)
- ・ 両生類の腸内フローラと成長制御に関する調査



### 本研究・調査活動における前提事項

- ・保全活動という観点から、健康な生体の解剖を積極的には実施できない。
- ・生体を傷つける操作が使えない。(一般の皆様は、“虐待”と捉える。)  
→ 損傷治癒についても、基本的には人為的な欠損を与える操作は避ける。
- ・全身のゲノムは、2018, 2020年に同定されてライブラリが存在する。  
一方で、mRNA は同定されつつあるが、タンパク質を染色できる特異的な抗体がまだ同定されていないものが多い。
- ・野生型に限りなく近いであろう系統を用いて調査を行っている。  
ゲノム上に**タイガーサラマンダー (*Ambystoma tigrinum*)** 由来の配列を持つ系統を除外して維持している。



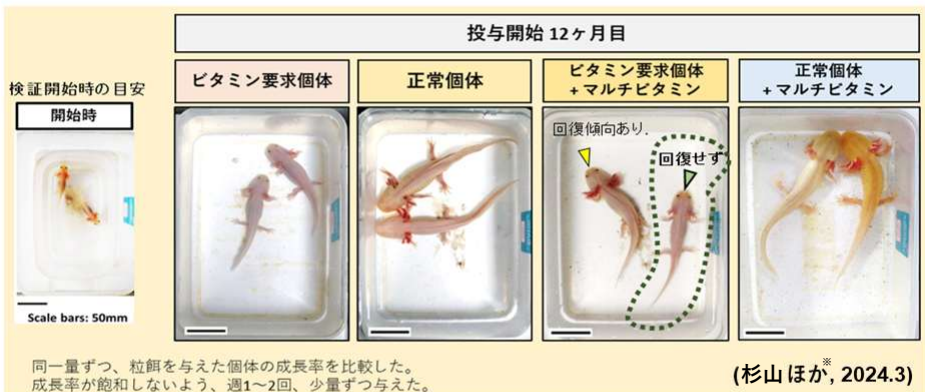
アホロートル: *Ambystoma mexicanum*



参照:  
<https://www.aquariumbcn.com/en/especies/amphibians/tiger-salamander/>



### 課題: 成長不全系統の要因調査



過去結果: マルチビタミンを餌に混ぜた経口補填で、  
成長不全が回復できない系統 (= 矮小個体, Poor Growth: PG) あり。



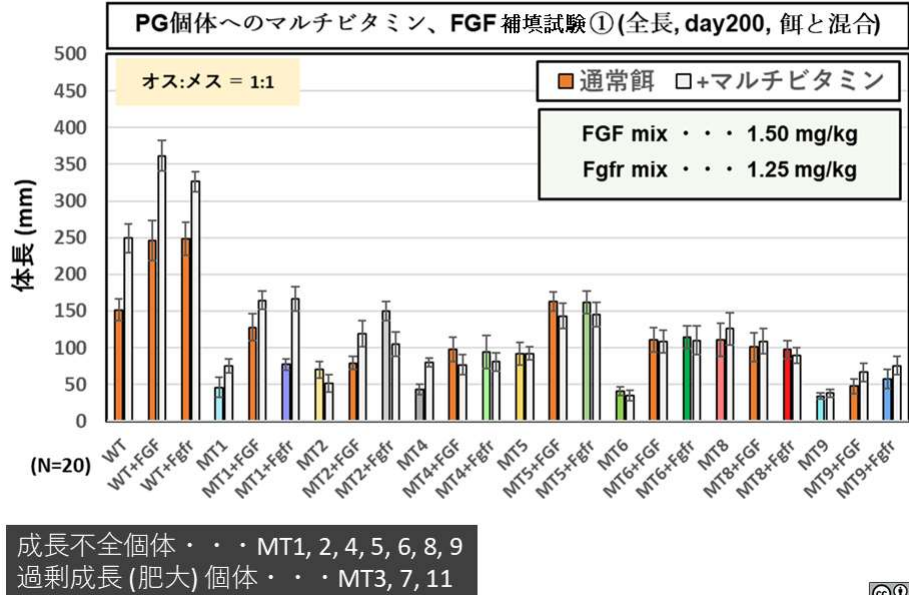
PG 系統の一部で、Col1, Col2, Sox, Runx family の発現低下が見られた。  
しかし、**栄養状態の改善 (餌条件の変更)** だけではレスキューできない。  
(下流の FGF signal 活性化では回復効果あり)

※ 貢献度・関連性を踏まえ訂正 v.3

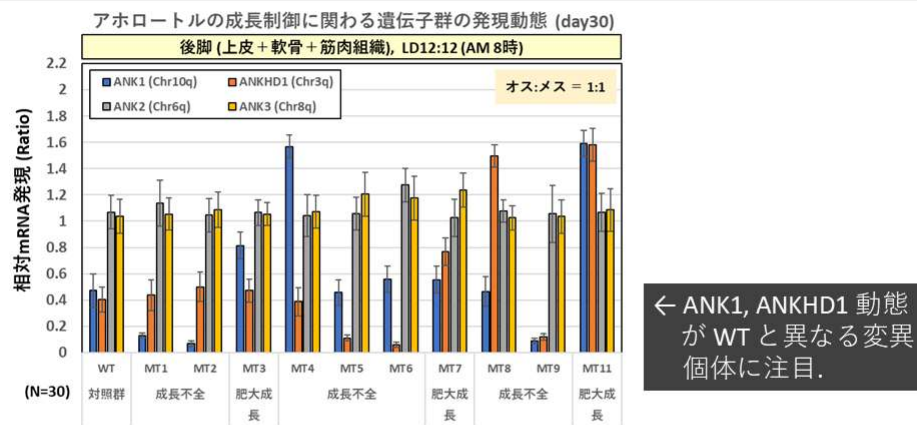




## 成長因子の与え方: 餌に混ぜて経口補填 → 飼育水投与でも同様の傾向あり



## 成長制御に関わる因子のスクリーニング



成長制御、肥大成長、ストレス応答等に関わる因子に注目

→ mTOR, Park, HSP90, XBP-1, YAP1 など.

上皮、骨格筋、中枢神経、末梢 (腸、肝臓 etc...) 等をサンプリング

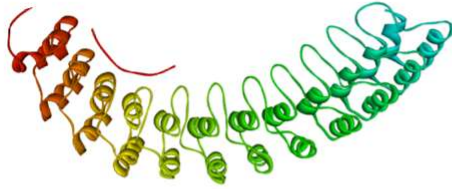
→ 類似の発現パターンを示した.

エンドソーム形成因子, YAP1 輸送に関わる ANKHD1

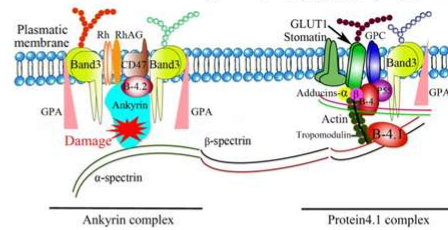
類似ドメインを持つANK1も候補に挙げた.



## ANK (Ankyrin) family



### Human ANK1: 赤血球で発見された



(Chai, *BMC Medical Genetics*, 2020)

アンキリンファミリータンパク質・・・4つの機能的ドメインを持つ。

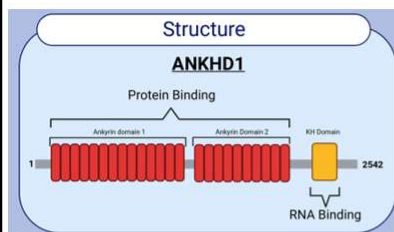
- ・24個のタンデム (2個でセット) なリピート (繰返し構造) を含むN末端ドメイン
- ・スペクトリンに結合するセントラルドメイン
- ・アポトーシス関連タンパク質と結合するデスドメイン
- ・c末端の調節ドメイン

スペクトリンとアクチンからなる膜細胞骨格ネットワークに対して、  
内在性膜タンパク質の接着を媒介するタンパク質ファミリー。  
この連結は細胞膜の完全性の維持や、特定のイオンチャネルやイオン  
輸送体を細胞膜中に固定するために必要である。

ヒトにおいては、ANK1, 2, 3 の3種類が同定されている。



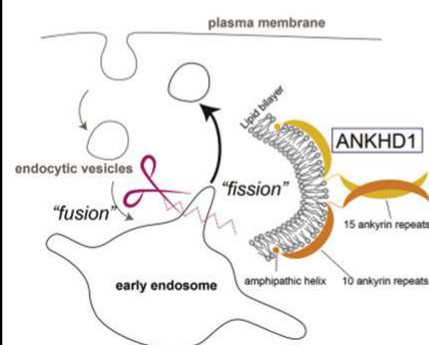
## ANKHD1: Ankyrin repeat and single KH domain-containing protein 1



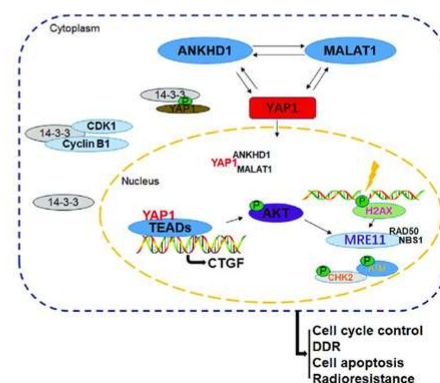
ヒト: 約7.5 kbp の配列からコードされる 250~280kDa のタンパク質。

複数のアンキリンリピートドメインと単一のKHドメイン (RNA認識ドメイン) を持つ。  
足場タンパク質として機能し、Caspase の制御に関与し、  
それによって細胞の生存において抗アポトーシスのな  
役割を果たすと考えられている。

(Mullenger, *Int. J. Mol. Sci.* 2023)



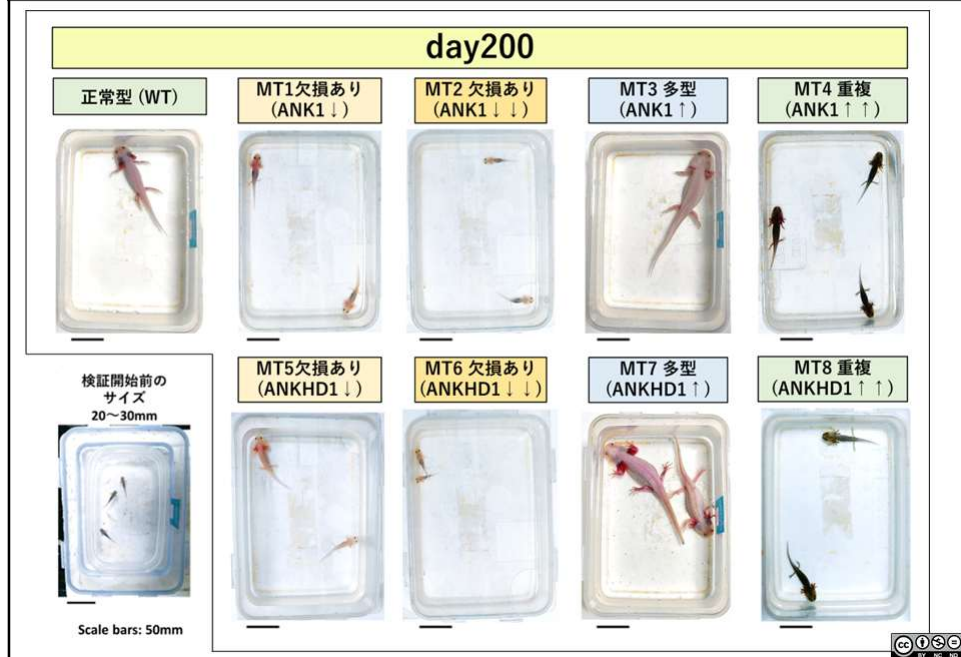
(Kitamata, *iScience*, 2019)



(Yao, *Cell Death and Disease*, 2022)



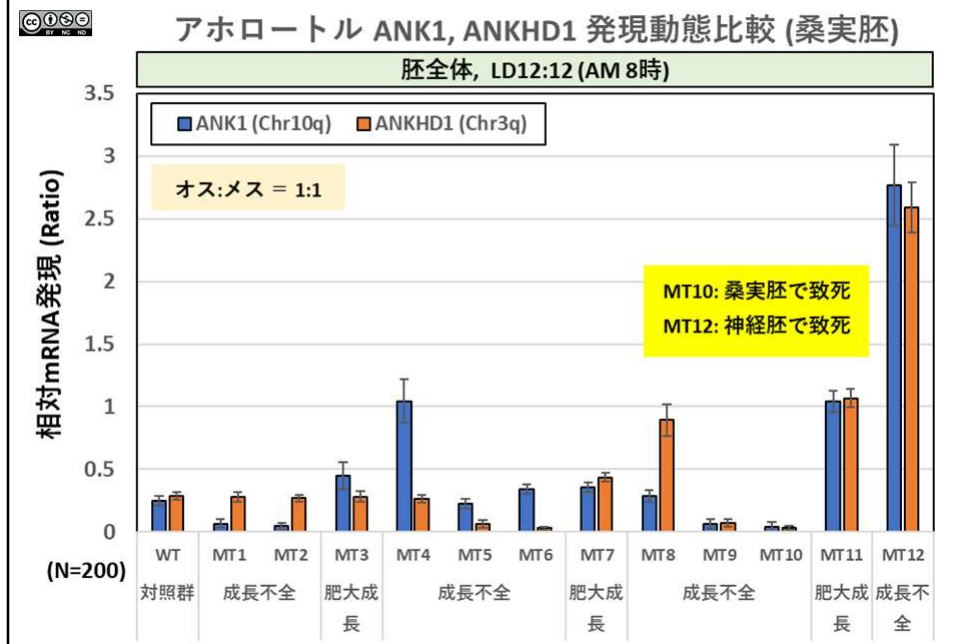
## アホロートルにおける ANK1, ANKHD1 変異とその表現型1



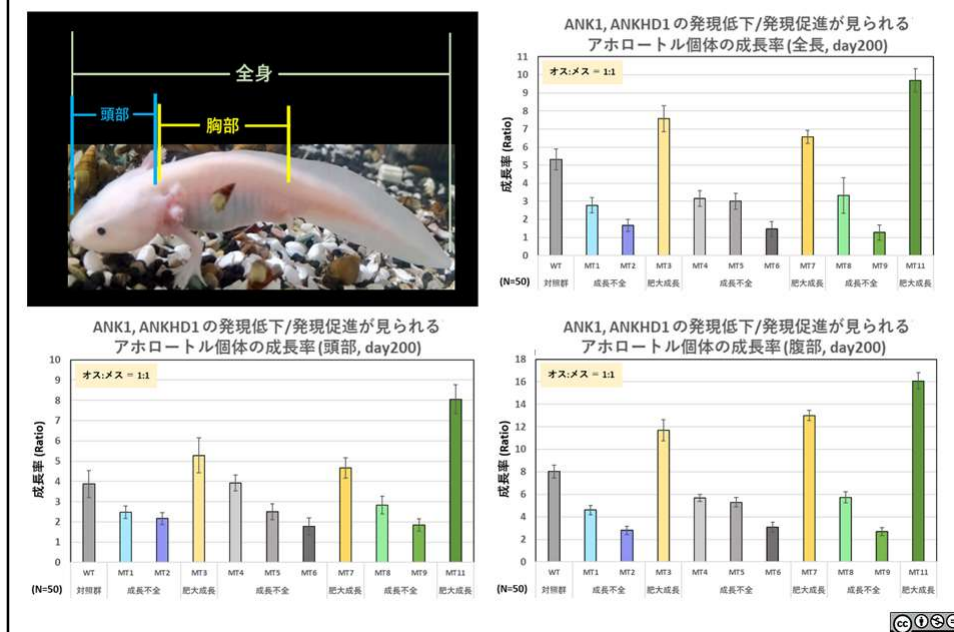
## アホロートルにおける ANK1, ANKHD1 変異とその表現型2



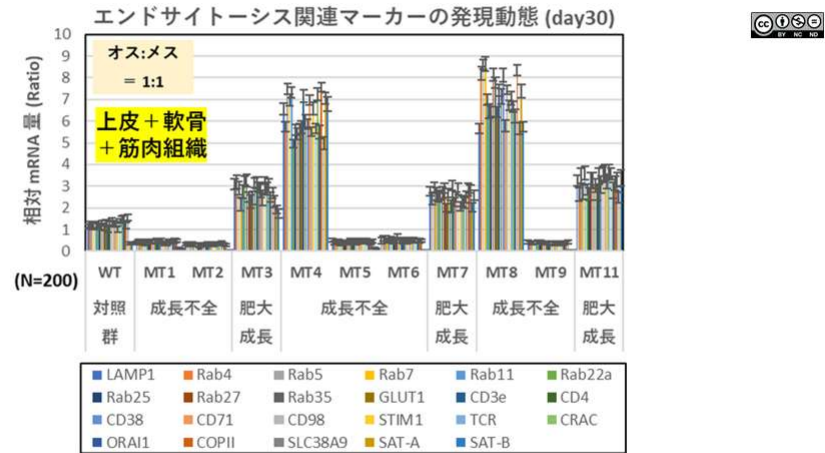
## アホロートルにおける ANK1, ANKHD1 変異とその表現型3



## アホロートルにおける ANK1, ANKHD1 変異とその表現型4



## アホロートルにおける ANK1, ANKHD1 と 膜輸送・エンドサイトーシスの関係性

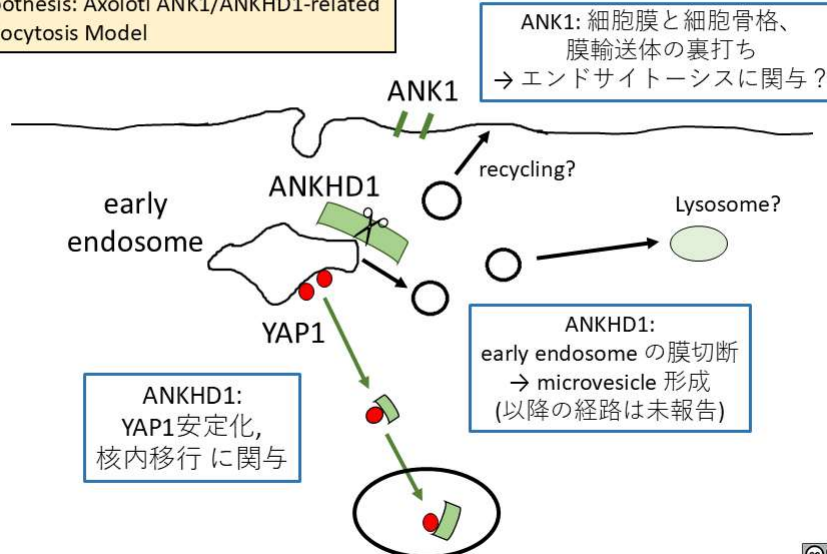


上皮、骨格筋、中枢神経、末梢 (腸、肝臓 etc...) 等をサンプリング  
→ 類似の発現パターンを示した。

※ SAT-A, B . . . ショウジョウバエ Dve の相同因子: 栄養ストレス応答に関与。

## 仮説: ANK1, ANKHD1 によって仲介される 膜輸送 (核内へのYAP1の移行)・エンドサイトーシスが アホロートルの肥大成長を制御する?

Hypothesis: Axolotl ANK1/ANKHD1-related  
Endocytosis Model





仮説: ANK1, ANKHD1 によって仲介される  
膜輸送 (核内へのYAP1の移行)・エンドサイトーシスが  
アホロートルの肥大成長を制御する?

ANK1, ANKHD1 発現低下個体で  
成長が阻害される

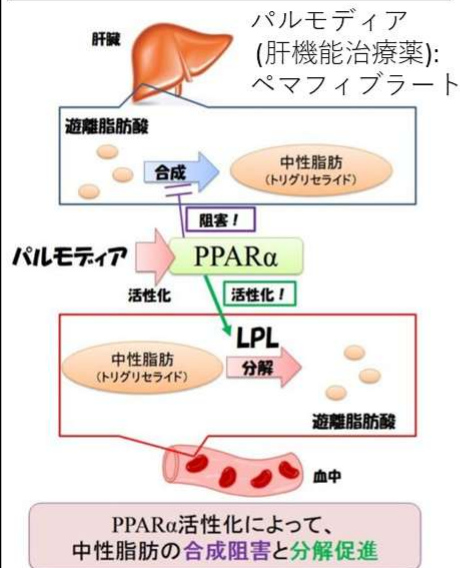
↓  
エンドサイトーシスが  
適切におこらず栄養の輸送  
能力が低下している?  
YAP1 不足?

ANK1, ANKHD1 過剰発現個体  
で成長が阻害される

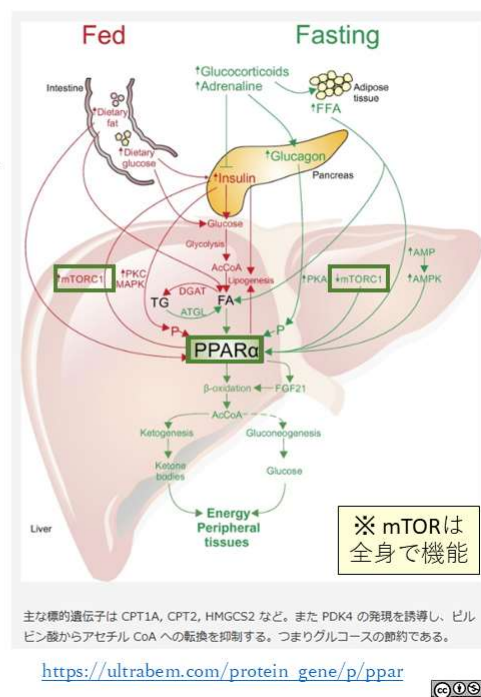
↓  
過剰栄養ストレスで  
糖尿病様の症状  
となっている?

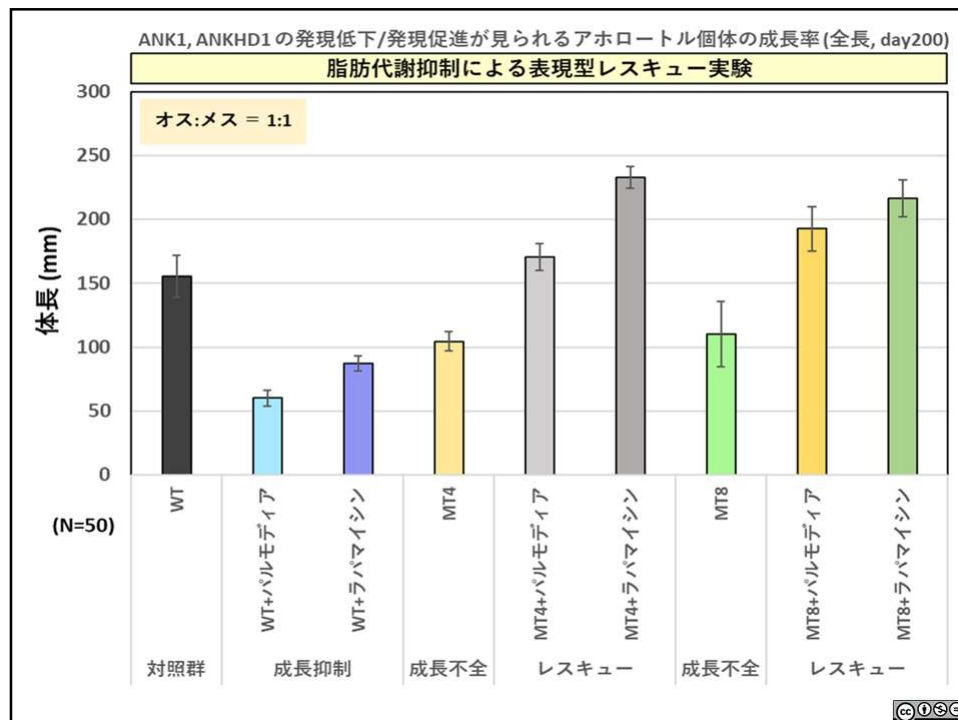


### 成長肥大: 肝臓における PPAR $\alpha$ , mTOR に注目



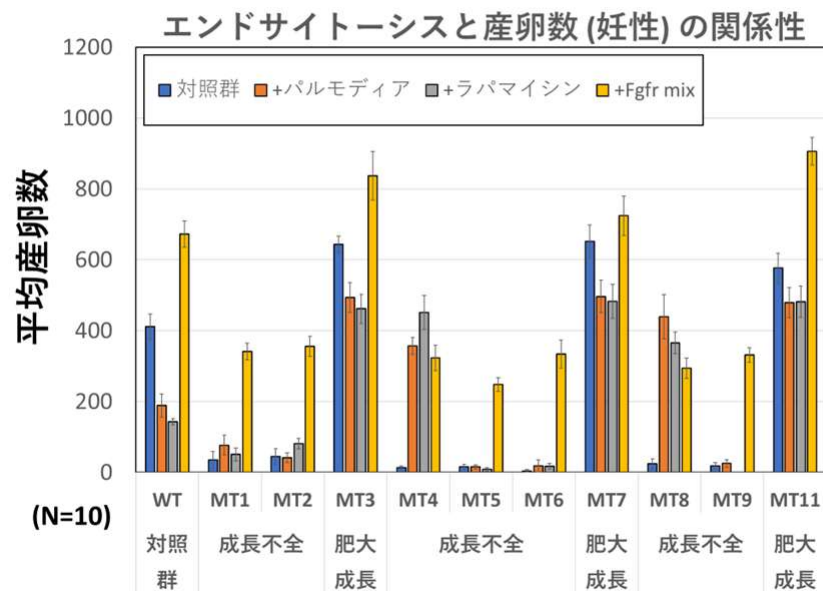
<https://passmed.co.jp/di/archives/1034>







### PPARα 標的薬の補填で ANK1, ANKHD1 過剰発現 による成長不全の表現型が回復した3



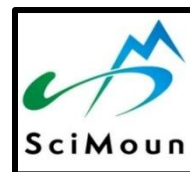
### 総括: アホロートルの成長制御と ANK1, ANKHD1 と膜輸送の関係性

- ANK1, ANKHD1 の発現低下個体では成長が阻害される。
- ANK1, ANKHD1 の過剰発現個体でも成長が阻害される。
- ANK1, ANKHD1 過剰発現による成長阻害は、肝臓における PPARα 経路の制御によって回復する。  
→ 過剰栄養ストレスが原因と考えられる。
- ANKHD1 は、細胞内のエンドソーム形成と YAP1 の核内移行による成長促進効果のいずれかまたは両方を仲介することでアホロートルの成長を制御している可能性がある。  
→ エンドサイトーシスの阻害剤の投与等で評価できる？  
リソソームの機能評価なども必要か。



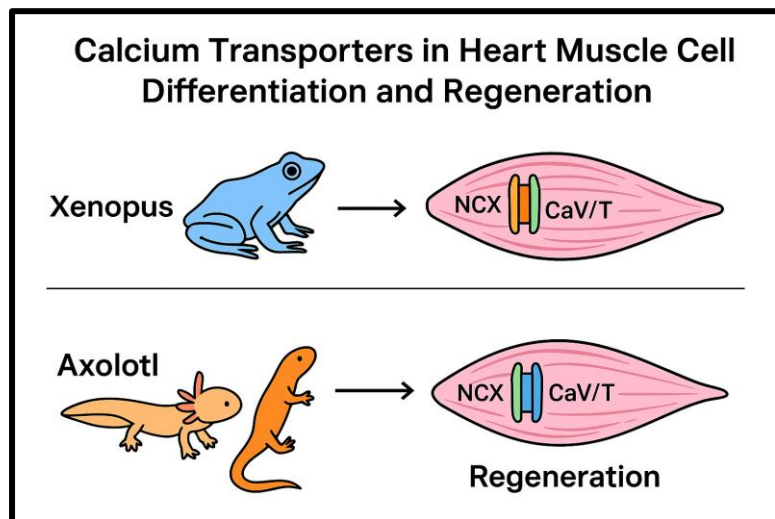


# 【総説】両生類における心筋細胞の分化・再生と Ca 輸送体 (NCX/NHE, Cav1.2, Cav3.2) の関与



著: 杉山 遥<sup>1</sup>; 横江 誼衡<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO 研究グループ\_ハルラボ (ウーパールーパー研究室), <sup>2</sup> 東京大学, <sup>3</sup> 秀明大学, <sup>4</sup> サイマン・テクノロジー



## 【要旨】

哺乳類では心筋分化や成熟、再生様反応において  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換体 (NCX1/SLC8A1)、 $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交換体 (NHE1/SLC9A1 など)、L 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネル (CaV1.2/CACNA1C)、T 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネル (CaV3.2/CACNA1H) が重要であることが広く示されている。一方、優れた再生能を持つ有尾両生類 (アホロートル *Ambystoma mexicanum*、イモリ *Notophthalmus viridescens*) やモデル無尾両生類 *Xenopus* における、これら分子の「分化」への関与を系統的に整理した総説は多くない。本稿では、遺伝子発現・機能発現・薬理的な操作・再生個体における表現型解析の文献を統合し、① *Xenopus* 胚心での  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネル発現と心機能の成立、② *Xenopus* 体軸・尾再生での早期  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルの必須性、③ イモリ/アホロートル心再生における心筋再構築過程と  $\text{Ca}^{2+}$  ハンドリング機構の保存性、④ NCX/NHE の両生類での機能発現証拠、を概観する。

結論として、両生類でも  $\text{Ca}^{2+}$  流入チャンネル (特に CaV1.2, CaV3.2) およびイオン交換体 (NCX, NHE) の発現と機能は心筋の分化・成熟・再生過程と時間的に一致し、*Xenopus* では直接的/薬理的な因果関係も示されている。一方、有尾類の心再生で上記分子を直接操作して分化影響を実証した研究はなお限られており、今後の課題である。

## 【背景】

心筋細胞の運命決定・分化・成熟の鍵は、サルコレマと小胞体を介した  $\text{Ca}^{2+}$  ハンドリングの時間空間制御にある。哺乳類心筋では CaV1.2 (L 型) と CaV3.2 (T 型) が電気機械連関の初期を担い、NCX1 が  $\text{Ca}^{2+}$  排出の主役、NHE1 が pH・ $\text{Na}^+$  を介して  $\text{Ca}^{2+}$  動態に間接的に影響することが確立している (Scranton 2019; Xue 2023/2025 など参照)。両生類は、発生学的操作性 (*Xenopus*) と臓器再生能 (イモリ・アホロートル) を兼ね備え、カルシウム依存の分化制御の保存性を検証する上で理想的な群である。*Xenopus* は胚期に光学的に心発生が観察可能で、電気生理・薬理の介入も行いやすい (Warkman & Krieg 2006; Hempel & Kühl 2016)。



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



## 【証拠の統合】

### 1) *Xenopus* 胚心での $\text{Ca}^{2+}$ チャネル発現と心機能

- **CaV1.2 (CACNA1C) と CaV3.2 (CACNA1H) の発現**：*Xenopus* 胚における電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$ チャネル  $\alpha 1$  サブユニットの網羅的同定では、**心臓を含む胚組織で CaV1.2 と CaV3.2 の発現**が示され、心機能成立段階と一致する (Lewis Dev Dyn 2009)。 [PMC](#)
- **L 型  $\text{Ca}^{2+}$ チャネル阻害の発生影響**：古典的薬理研究だが、ニフェジピン等の L 型遮断は *Xenopus* 胚で重篤な発生異常を誘発し、**カルシウム流入の胚発生必須性**を支持する (Burgess Pharmacol Toxicol 1989)。心特異的評価ではないが、心・循環系形成にも影響が及ぶことが指摘される。 [PubMed](#)
- ***Xenopus* は心発生・先天性心疾患モデリングに適した系**：レビューは、心拍動成立が 72 時間程度で光学的に追跡可能で、薬理・遺伝学的介入で**電気生理と形態形成の因果**を検証できる点を強調する。 [NatureMDPI](#)

### 2) 再生（尾など）における早期 $\text{Ca}^{2+}$ シグナル

- ***Xenopus* 尾再生**では損傷後数時間で**自発  $\text{Ca}^{2+}$ 活動が必須**で、膜電位・プロトンポンプ／イオン輸送体と連関して再生プログラムを駆動する (Paudel 2018 レビュー)。これは心筋固有ではないが、**発生・再生での  $\text{Ca}^{2+}$ 依存的遺伝子制御**の保存性を示す。 [PMC](#)

### 3) イモリ・アホロートル心再生と $\text{Ca}^{2+}$ ハンドリングの保存性

- **イモリ心再生**：イモリでは心室一部切除後に**心筋細胞の再増殖**と ECM の一過性再構築を経て **70 日前後で機能回復**する (Piatkowski Stem Cells Dev 2013; 総説 Cutie 2021)。この過程で**成熟心筋に近いカルシウム取り扱い遺伝子群の再活性化**が見られるという包括的記述があるが、CaV1.2/3.2・NCX・NHE を直接阻害／ノックダウンして心筋分化を抑制した因果実験の報告は限定的である。 [PMCSpringerOpen](#)
- **アホロートル**：心に特化した  $\text{Ca}^{2+}$ チャネル操作研究は稀だが、同種の胴体・四肢再生研究から、**電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$ 流入や TRP 系の調節が再生の初期段階を制御**することが示される（系は異なるが再生一般の  $\text{Ca}^{2+}$ 必須性を支持）。 [PMC](#)

### 4) NCX/NHE (「NHX」) の両生類での機能発現証拠

- ***Xenopus* での内在性 NCX 活性**：*Xenopus* 卵母細胞は**内在性の NCX ( $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換)**を有し、 $\text{InsP}_3$  受容体と機能的マイクロドメインを形成して  $\text{Ca}^{2+}$ 制御に関与することが示された (Solis-Garrido J Biol Chem 2004)。両生類細胞で **NCX が発現・機能**する直接証拠である。 [PubMed](#)
- **NCX の心における基本原理 (比較参照)**：哺乳類で NCX1 は主たる  $\text{Ca}^{2+}$ 排出機構で、心機能調節に不可欠 (Scranton Front Physiol 2019; Nature Comm 2024)。両生類心での**同等機能の保存**が強く示唆される。 [PMC Nature](#)
- **NHE (SLC9A) について**：「NHX」は動物では一般に  **$\text{Na}^+/\text{H}^+$  交換体 NHE**を指し、心における pH・ $\text{Na}^+$  ホメオスタシスを介して  $\text{Ca}^{2+}$ ハンドリングに影響することが知られる。両生類での心特異的直接操作例は少ないが、*Xenopus* システムで NHE 機能を含むイオン輸送の発生・再生制御が多数報告されており (総説・方法論レビュー)、**候補機構として妥当**である。 [PMC](#)

## 【小括（仮説モデル）】

- **発生（Xenopus）**：心筋前駆～早期拍動期に **CaV1.2／CaV3.2** の発現上昇 → **Ca<sup>2+</sup>流入** → 転写制御（MEF2、GATA4 等）→ サルコメア構築／電気機械連関成立。並行して **NCX1** による **Ca<sup>2+</sup>排出**が緩衝。
- **再生（イモリ／アホロートル）**：心筋の脱分化・再分化の過程で **Ca<sup>2+</sup>依存遺伝子プログラムの再起動**が起こる。**Ca<sup>2+</sup>流入チャンネル**と **NCX／NHE** の**再配線**が分化・成熟を整流する—という作業仮説。直接介入の不足は今後の検証課題。

## 【研究ギャップと提案】

1. **有尾類心再生での因果実験**：CaV1.2／CaV3.2／NCX1／NHE1 を CRISPR、モルフォリノ、薬理（選択的阻害剤）で段階特異的に操作し、**心筋マーカー（tnnt2, myh6）発現・サルコメア再構築・Ca<sup>2+</sup>トランジェント**を同時測定する。
2. **単一細胞トランスクリプトーム×Ca<sup>2+</sup>イメージング**：再生心で **Ca<sup>2+</sup>ハンドリング遺伝子モジュール**の時系列クラスタリング。
3. **機械—電気カップリングの縦断解析**：ECM 再構築（イモリで示唆）と **Ca<sup>2+</sup>チャンネル再配置**の連関を **ライブ組織切片**で追跡。 [PMC](#)

## 【総括】

- Xenopus では **CaV1.2／CaV3.2** の心発現と薬理学的証拠から、**カルシウム流入**が心筋の分化・機能成立に不可欠であることが支持される。 [PMC PubMed](#)
- イモリ／アホロートルの心再生は、**心筋の再増殖・組織再構築**を伴い、**Ca<sup>2+</sup>ハンドリング機構**の再活性化が強く示唆されるが、特定輸送体の**因果関与**を直に証明した研究はまだ少ない。 [PMC SpringerOpen](#)
- **NCX／NHE** は両生類細胞でも機能的で、発生・再生における **Ca<sup>2+</sup>制御の保存的コア**である可能性が高い。 [PubMed](#)

## 【アホロートルの心筋分化における $\text{Ca}^{2+}$ の寄与】

アホロートルにおいて、心筋細胞の分化効率について確認した所、飼育水を汽水にした条件下の方が若干の心筋分化効率の向上が見られた。また、 $\text{Ca}^{2+}$ チャネル阻害条件では顕著に抑制された。これらの結果からも、アホロートルにおいて、 $\text{Ca}^{2+}$ を含むミネラルの摂取が成長・発生を促進する効果があることが改めて示されたといえる (補足図 1, 参照)。



(外部機関への分析依頼結果)

## 補足図 1: $\text{Ca}^{2+}$ および $\text{Ca}^{2+}$ 阻害条件におけるアホロートルの心筋細胞分化

※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





軟水	南アルプスの天然水 (硬度 30.0mg/L, pH8.8~9.4, 総塩類 約0.003%相当) Na: 4.0~10.0mg/L K: 1.0~5.0mg/L Mg: 1.0~3.0mg/L Ca: 6.0~15.0mg/L	クリスタルガイザー (硬度 38.0mg/L, pH7.6, 総塩類 約0.004%相当) Na: 11.3mg/L K: 1.3mg/L Mg: 5.4mg/L Ca: 6.4mg/L	水道水の硬度平均 (中四国) (硬度 67.9±9.3mg/L, pH7.4±0.1, 総塩類 約0.007%相当) Na: 16.7±5.9mg/L K: 2.4±0.5mg/L Mg: 4.5±1.1mg/L Ca: 19.6±2.0mg/L
硬水	エビアン (硬度 304.0mg/L, pH7.8, 総塩類 約0.03%相当) Na: 7.0mg/L K: 含有なし Mg: 26.0mg/L Ca: 80.0mg/L	ヴィッテル (硬度 315.0mg/L, pH7.3, 総塩類 約0.03%相当) Na: 7.3mg/L K: 4.9mg/L Mg: 19.9mg/L Ca: 91.0mg/L	コントレックス (硬度 1468.0mg/L, pH7.3, 総塩類 約0.15%相当) Na: 9.4mg/L K: 2.8mg/L Mg: 74.5mg/L Ca: 468.0mg/L
塩水 /汽水	瀬戸内海産粗塩を使用 (pH6.8~7.4, 汽水 0.15%) Na: 1500.0mg/L + 用いた水の組成	瀬戸内海産粗塩を使用 (pH6.8~7.4, 汽水 0.3%) Na: 3000.0mg/L + 用いた水の組成	瀬戸内海産粗塩を使用 (pH6.8~7.4, 塩水 1.0%) Na: 10.0g/L + 用いた水の組成

※ 硬度に基づき、Na以外の塩含有率（塩分%濃度）を算出。

## 【水の硬度と水質】

複数の定義が見られるが、大まかには以下の目安が世界的にも存在している。

**水の硬度 ≡ マグネシウム (Mg) + カルシウム (Ca) の含有量 (+ カリウム(K)) の含有率を指す場合が多い。**

※ ナトリウム (Na) は含まない。

**計算式: 硬度 (mg/L) = Ca濃度 (mg/L) × 2.497 + Mg濃度 (mg/L) × 4.118**

水1リットルに含まれるカルシウムとマグネシウムの物質量の合計を、等しい物質量の炭酸カルシウム (CaCO<sub>3</sub>) の質量に換算して表した指標。

以下、Na の含有率と水質に関する定義を示す。

**<Water salinity (生活用水に溶けている塩分量, 硬度 等を意味する言葉, 本項では塩分濃度の意味.)>**

- ・淡水 (fresh water) 塩分濃度 0.05% 未満
- ・飲用可能な水 (淡水, marginal water) 塩分濃度 0.05~0.1% 程度
- ・汽水 (Brackish water) 塩分濃度 0.1~0.2% (~0.5% とする場合もあり.)
- ・食塩水 (Saline) 塩分濃度 0.2~1.0%
- ・高濃度食塩水 塩分濃度 1.0~3.5%
- ・飽和食塩水 (Brine) 塩分濃度 3.5% 超 (醤油, 海水レベル)

**<WHO による飲料水の水質ガイドライン>**

- ・軟水・・・硬度 ~120mg/l (~0.012%)
- ・硬水・・・硬度 120~180mg/l (0.012~0.018%)
- ・超硬水・・・硬度 180mg/l (0.018%)

補足図 2: 水道水中の残留塩素, ミネラルウォーターの組成, 硬度, pH などの情報まとめ。

## 【参考文献】

- Burgess AM, Vere DW. **Teratogenic effects of some calcium channel blocking agents in *Xenopus* embryos.** *Pharmacol Toxicol.* 1989;64(1):78–82.
- Cutie S, Huang GN. **Vertebrate cardiac regeneration: evolutionary and developmental perspectives.** *Cell Regeneration.* 2021;10:19.
- Hempel A, Kühl M. **A Matter of the Heart: The African Clawed Frog *Xenopus* as a Model for Studying Vertebrate Cardiogenesis and Congenital Heart Defects.** *J Cardiovasc Dev Dis.* 2016;3(2):21.
- Lewis RS, et al. **Voltage-gated calcium channel  $\alpha 1$  subunits in *Xenopus* development.** *Dev Dyn.* 2009;238(11):2836–2849.
- Paudel S, et al. **Calcium Signaling in Vertebrate Development and Its Role in Disease.** *Front Mol Biosci.* 2018;5:61.
- Piatkowski T, Mühlfeld C, Borchardt T, Braun T. **Reconstitution of the Myocardium in Regenerating Newt Hearts Is Preceded and Possibly Directed by Transient Deposition of ECM Components.** *Stem Cells Dev.* 2013;22(14):1921–1934.
- Scranton KJ, et al. **Modulation of the Cardiac  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  Exchanger by Cytoplasmic Protons: A Mechanistic Review.** *Front Physiol.* 2019;10:728.
- Solís-Garrido LM, Pintado AJ, Andrés-Mateos E, et al. **Cross-talk between native plasmalemmal  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger and  $\text{InsP}_3$ -sensitive  $\text{Ca}^{2+}$  internal store in *Xenopus laevis* oocytes.** *J Biol Chem.* 2004;279(50):52414–52424.
- Warkman AS, Krieg PA. ***Xenopus* as a model system for vertebrate heart development.** *Semin Cell Dev Biol.* 2007;18(1):46–53.
- 〔参考（NCX の最新構造生物学）〕 Xue J, et al. **Structural mechanisms of the human cardiac sodium–calcium exchanger.** *Nat Commun.* 2023;14:6343.
- 〔参考（比較心発生レビュー）〕 Kolker SJ, et al. **The Morphology of Heart Development in *Xenopus laevis*.** *Dev Dyn.* 2000;218(4):612–625.
- 内閣府 科学技術・学術政策局 生命倫理・安全部会. 「再生医療とライフサイエンスに関する資料」第 43 回配布資料 3-4. 2020.  
<https://www8.cao.go.jp/cstp/tyousakai/life/haihu43/siryo3-4.pdf>
- 石井邦雄. カルシウム拮抗薬ニフェジピンの臨床薬理学的研究. *日本臨床薬理学雑誌.* 2015;46(1):30–36.  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsct/46/1/46\\_30/pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsct/46/1/46_30/pdf/-char/ja)
- 日本薬学会. 電位依存性カルシウムチャネルと創薬. *薬学雑誌.* 2020;140(10):1381–1394.  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/yakushi/140/10/140\\_20-00138/pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/yakushi/140/10/140_20-00138/pdf/-char/ja)
- Wikipedia. 電位依存性カルシウムチャネル.  
<https://ja.wikipedia.org/wiki/電位依存性カルシウムチャネル>
- ミネルバクリニック. カルシウムチャネル – 遺伝学用語集.  
<https://minerva-clinic.or.jp/academic/terminologyofmedicalgenetics/kagyou/calcium-channel/>
- Nieuwkoop, P.D., Faber, J. **Normal Table of *Xenopus laevis* (Daudin).** Developmental Biology Online Resource, University of Texas.  
<https://w3.biosci.utexas.edu/experimentalembryology/stagedseries.html>

注：上記のうち、*Xenopus* 胚心の CaV1.2/CaV3.2 発現 (Lewis 2009)、内在性 NCX の機能発現 (Solis-Garrido 2004)、イモリ心再生での心筋再構築 (Piatkowski 2013)、*Xenopus* を用いた心発生モデリング (Hempel & Kühl 2016; Warkman & Krieg 2007)、発生・再生における  $\text{Ca}^{2+}$  シグナル (Paudel 2018) を本稿の主要根拠として用いました。哺乳類における NCX1 の心機能必須性は比較参照 (Scranton 2019, Xue 2023) として位置づけています。

---

#### 付記 (用語)

- 本文の **NHX** は動物における慣用に従い **\*\*NHE** ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger; SLC9A ファミリー) **\*\***を指す語として扱いました。植物の液胞型 **NHX** とは別概念です。
- 

#### 補足図 1\_補足

- ・ FCM 分析 (KDR+/PDGFRa+) 3000cells ずつカウント.
- ・ [30 匹分の孵化前幼体 (眼が白濁し、硬直して亡くなって間もない個体) 由来の予定心臓領域細胞 → 孵化前の別幼体の腹腔内へ移植]

## 【総説】ウーパールーパーに見られる病気の傾向と対策 (SNS・飼育者体験のまとめ)

### Review: Diseases Commonly Seen in Axolotls and Preventive Measures

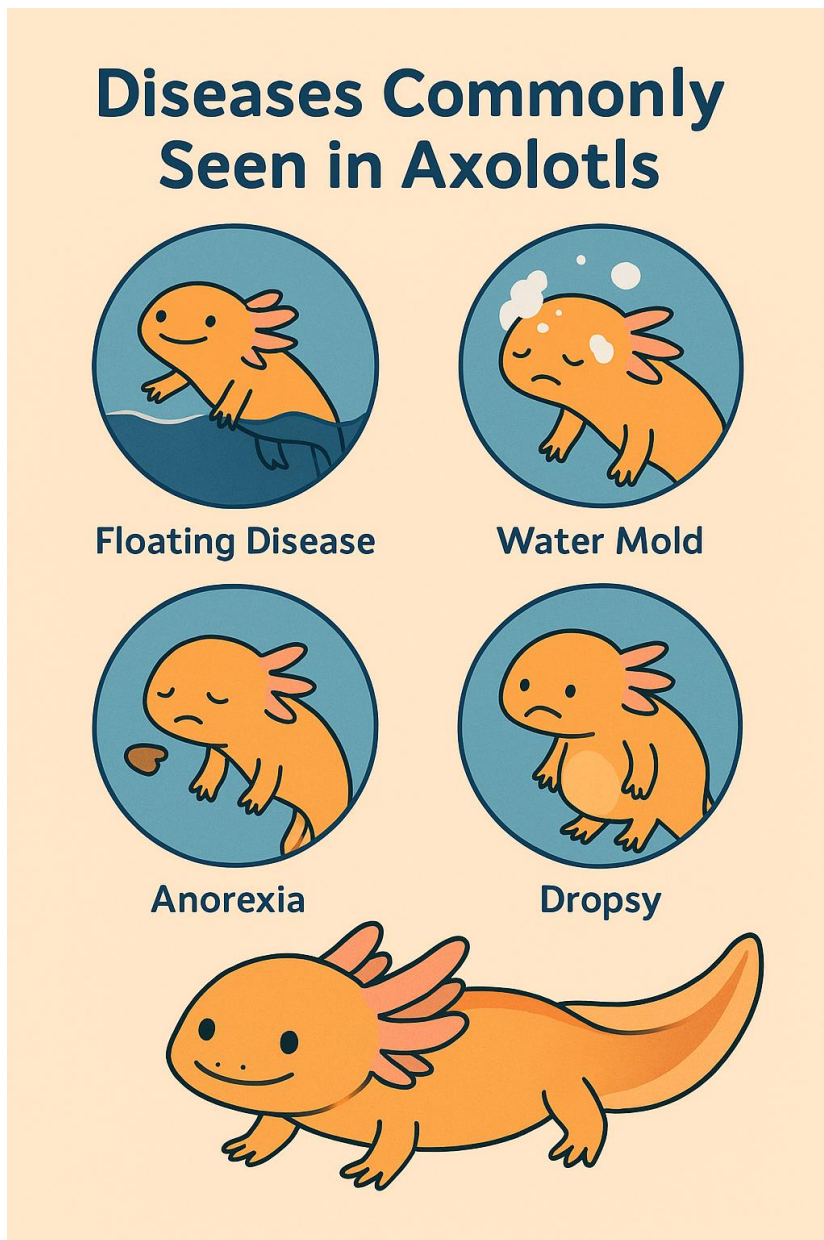
著: F.N. 三太子<sup>1</sup>; 杉山 遥<sup>1</sup>; 横江 誼衡<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO 研究グループ\_ハルラボ (ウーパールーパー研究室), <sup>2</sup> 東京大学, <sup>3</sup> 秀明大学, <sup>4</sup> サイモン・テクノロジー

**Authors:** F.N. Santako<sup>1</sup>; Sugiyama Axolotl Haruka<sup>1</sup>; Yoshichika Yokoe<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO Research Group\_HARU-Lab (Axolotl Research Laboratory), <sup>2</sup> The University of Tokyo, <sup>3</sup> Shumei Univ,

<sup>4</sup> SciMountechnology



#### はじめに

ウーパールーパー（アホロートル）は愛らしい姿で人気のある両生類ですが、飼育環境の変化や水質管理の不備によって、さまざまな病気を発症することが知られています。本稿では、SNS や飼育者の体験談などでよく報告される病気について特徴を整理し、統計的な傾向としてまとめました。



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





主な病気と特徴

1. ぶかぶか病（浮袋異常）

- ・ 症状：体が浮きっぱなしで沈めない
- ・ 原因：人工飼料の過剰摂取、消化不良
- ・ 対策：自然食（冷凍赤虫など）への切り替え

2. 水カビ病（真菌感染症）

- ・ 症状：体表に白い綿状のカビが付着
- ・ 原因：水質悪化、免疫力低下
- ・ 対策：水換え、水温管理、薬浴

3. 拒食症

- ・ 症状：餌を食べない状態が続く
- ・ 原因：水質悪化、ストレス
- ・ 対策：水質改善、静かな環境の確保

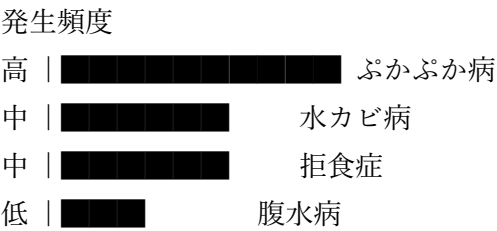
4. 腹水病

- ・ 症状：腹部が異常に膨張
- ・ 原因：水質悪化、消化不良
- ・ 対策：水換え、餌の見直し

病気発生の統計的傾向

病名	発生頻度	主な原因	主な対策
ぶかぶか病	高	人工飼料の過剰摂取	冷凍赤虫など自然餌への切替
カビ病	中	水質悪化、免疫力低下	水換え、水温管理、薬浴
拒食症	中	水質悪化、ストレス	水質改善、環境の見直し
腹水病	低	水質悪化、消化不良	水換え、餌の見直し

発生頻度の概念図（棒グラフイメージ）



飼育者の体験から得られる教訓

- ・ 餌の工夫：人工飼料に偏らず、消化に良い自然餌を取り入れる
- ・ 水質管理：定期的な水換えと適切な水温管理で予防
- ・ ストレス軽減：静かで落ち着いた環境を提供することで発症リスクを下げる

まとめ

ウーパールーパーの健康を守るためには、日々の観察と基本的な飼育管理が不可欠です。病気の兆候を早期に発見し、原因に応じた適切な対処を行うことで、長く元気に育てることができます。

# Diseases Commonly Seen in Axolotls and Preventive Measures

(Based on reports from keepers and observations on social media)

## Introduction

Axolotls are popular amphibians due to their unique appearance, but they are prone to various diseases if their environment is unstable or water quality is poorly managed. This report summarizes diseases frequently mentioned by keepers, along with their characteristics and preventive strategies, presented as statistical trends.

---

## Major Diseases and Their Features

### 1. Floating Disease (Swim Bladder Disorder)

- **Symptoms:** The body floats constantly and cannot sink.
- **Causes:** Overfeeding of artificial pellets, indigestion.
- **Countermeasures:** Switch to natural foods such as frozen bloodworms.

### 2. Water Mold Disease (Fungal Infection)

- **Symptoms:** White, cotton-like growths appear on the skin.
- **Causes:** Poor water quality, weakened immune system.
- **Countermeasures:** Water changes, temperature management, medicated baths.

### 3. Anorexia (Refusal to Eat)

- **Symptoms:** Refusal to eat for an extended period.
- **Causes:** Poor water quality, stress.
- **Countermeasures:** Improve water conditions, provide a calm environment.

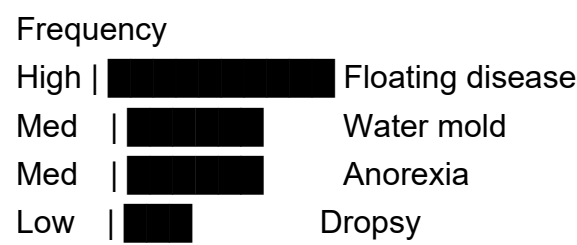
### 4. Dropsy (Ascites)

- **Symptoms:** Abnormal swelling of the abdomen.
  - **Causes:** Poor water quality, digestive problems.
  - **Countermeasures:** Water changes, adjustment of diet.
-

# Statistical Trends of Disease Occurrence

Disease	Frequency	Main Causes	Countermeasures
Floating disease	High	Overfeeding of pellets	Switch to natural foods (e.g., frozen bloodworms)
Water mold	Medium	Poor water quality, low immunity	Water change, temperature control, medicated baths
Anorexia	Medium	Poor water quality, stress	Improve water quality, reduce stress factors
Dropsy	Low	Poor water quality, indigestion	Water change, dietary adjustment

## Conceptual Graph of Frequency (Bar Chart)



## Lessons from Keeper Experience

- **Diet management:** Avoid excessive reliance on artificial pellets; provide easily digestible natural food.
- **Water quality:** Regular water changes and stable water temperature are essential.
- **Stress reduction:** Maintain a quiet and stable environment to reduce disease risk.

## Conclusion

Daily observation and proper care are essential for keeping axolotls healthy. By detecting early signs of illness and applying appropriate measures, axolotls can be raised to live long and healthy lives.



# ショート: 魚類・両生類が痩せる症状を示すバクテリア類と対策について

2025.8.25 杉山 遥 (Ph.D, 代表)

## 【要旨】

ウーパールーパー (*Ambystoma mexicanum*, メキシコサラマンダー; 以下、アホロートル) を大切に育てているのに、「ごはんを食べているのに痩せてしまう…」という状況に出会うことがあります。飼い主さんにとってはとてもつらく、悔しい経験です。最近の研究では、栄養のストレスが続くと食べる量が減り、お腹の中の細菌バランスが崩れて成長できなくなるという仕組みが報告されています (杉山, 2023)。つまり、痩せる原因は「食べていないから」ではなく、体の中で栄養をうまく利用できなくなることが関係していると考えられます。また、海外の調査では、ペットとして飼育されているウーパールーパーで最も多いトラブルは「お腹に水がたまる症状 (腹水)」で、全体の3割近くに見られたとされています (Martinez-Jimenez, 2017)。この腹水は消化の働きを悪くし、痩せをさらに進めてしまうことがあります。さらに、水温が高いと病気が出やすくなることもわかっているため、飼育環境の管理がとても大切になります。

こうした症状に対しては、**早めにごはんや環境を見直すこと、症状が進んだら水質や水温を整え、場合によっては専門家に相談すること、長い目では安定した環境を保ち、腸内の健康を支えることが大切です。**

「痩せる」というサインは、ウーパールーパーからの SOS かもしれません。日々の飼育を通じて小さな変化に気づいてあげることが、健康を守る一番の近道になるでしょう。

以下、痩せる症状を伴った、魚類・両生類へ感染する細菌種についてリストアップしました。

### 魚類細菌感染と症状の特徴

病態分類	主な細菌種	特徴的症状	摂餌との関係	結果
急性死型	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Aeromonas salmonicida</i> <i>Vibrio anguillarum</i> など	出血斑、潰瘍、急速な敗血症	摂餌停止 → 急死	急性斃死 (短期間で死亡)
慢性痩せ型	<i>Mycobacterium</i> spp. (魚結核)	内臓・筋肉に結節、鱗の逆立ち、体表潰瘍	摂餌続くが徐々に痩せる	慢性消耗死
	<i>Edwardsiella tarda</i> , <i>E. ictaluri</i>	腸炎、膿瘍、慢性化すると痩せ	摂餌するが吸収不良	衰弱死
	<i>Vibrio</i> spp. (一部の慢性感染)	腸炎、慢性敗血症	食べても消化吸収障害	消耗死
	<i>Flavobacterium columnare</i> (慢性感染)	鰓・口のびらん、皮膚病変	食べるが徐々に衰弱	衰弱死

### ◆ ポイント

- 急性型 → 数日以内に死亡 (典型: エロモナス、ビブリオ)
- 慢性型 → 数週間～数か月かけて痩せて死亡 (典型: マイコバクテリウム)
- 「餌を食べているのに痩せる」場合、魚結核 (*Mycobacterium*属) がもっとも代表的。



## 【アホロートルにおける細菌感染対策（慢性消耗・痩せ進行型）】

### ◆ 早期（異常が出始めた時点）

- 水環境改善
  - 飼育水を 水道水（カルキを抜いたもの）に換水し、清浄化を図る。
  - 水質悪化やアンモニア中毒を防ぐ。
- 短期処置
  - 水道水浴（新鮮な水道水に一時的に入れる）で外表性細菌の負荷を減らす。
  - 初期段階では **0.2–0.5%の汽水浴**（NaCl を加える）を数時間行い、浸透圧で細菌増殖を抑える。
- 外表処置
  - 体表病変（皮膚潰瘍や白濁）があれば **イソジン（ヨード剤）** を患部に綿棒で塗布。
  - 長時間の浸漬は避け、部分処置が基本。

### ◆ 中期（症状が持続・痩せが進む段階）

- 環境の持続的管理
  - 飼育水を定期的に **汽水浴（0.2–0.5%）** に設定し、腸内環境や細菌抑制を狙う。
  - 餌は高栄養・消化の良いものに切り替える。
- 薬剤の導入
  - **オキシリン酸（ニューキノロン系）**：水溶性で消化管・全身感染に有効。餌付け投与や短期薬浴。
  - **ペニシリン**：グラム陽性菌主体の感染を疑う場合に使用。
  - **ストレプトマイシン**：グラム陰性桿菌（Aeromonas, Edwardsiella 等）に効果が期待される。

💡 ただし両生類は薬剤感受性が高いため、**低濃度・短時間・逐次観察**が必須。

### ◆ 長期（再発予防・慢性対策）

- 飼育環境の徹底管理
  - 飼育は**清浄な水道水（カルキ抜き）**をベースにし、定期的な換水を徹底。
  - 適度に汽水浴を取り入れ、病原菌の常在化を防ぐ。
- 再発防止処置
  - 初期兆候が出たらすぐに **水道水浴 + イソジン外用** を行う習慣をつける。
  - 新規導入個体は隔離・観察してから合流。
- 薬剤乱用の回避
  - 抗生剤は**漫然と長期投与せず**、効果がなければ早めに切り替える。
  - 耐性菌出現を防ぐため、抗生剤は「短期集中的に」「種類を使い分けて」使用。

### ✅ まとめ（キーワード反映）

- **早期**：水道水飼育、水道水浴、0.2–0.5%汽水浴、イソジン外用 (1/200)
- **中期**：抗生剤（オキシリン酸、ペニシリン、ストレプトマイシン）導入
- **長期**：清浄な水道水環境、再発時の速やかな処置、抗生剤乱用回避

## 【参考文献】

1. **Cirit, Ş. S., Deniz, Ş. B., Cirit, B., & Bayraktar, A.**  
*Management of Hydrocoelom in an Axolotl (Ambystoma mexicanum)*  
*Veterinary Medicine and Science*, 2025.  
<https://doi.org/10.1002/vms3.70373>  
※ウーパールーパーの腹水症（hydrocoelom）の症例報告とその管理方法について述べています。
2. **Krause, S.**  
*The Effect of Dietary Nutrition on the Regeneration of Ambystoma mexicanum*  
*Biology Honors Papers*, 2023.  
[https://digitalcommons.ursinus.edu/biology\\_hon/93](https://digitalcommons.ursinus.edu/biology_hon/93)  
※ウーパールーパーの再生能力に対する栄養の影響を調べる研究です。
3. **Takami, Y.**  
*A Retrospective Study of Diseases in Ambystoma mexicanum*  
*Journal of Veterinary Medical Science*, 2017.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28529268/>  
※ウーパールーパーにおける疾患の後ろ向き研究で、腹水症が最も多く報告されています。
4. **Slight, D. J.**  
*Are Mixed Diets Beneficial for the Welfare of Captive Axolotls?*  
*Journal of Applied Animal Welfare Science*, 2015.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1558787814001300>  
※ウーパールーパーの飼育における混合食の効果について検討しています。

## SNS and Mail Address

**Researchmap:** [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl)

**X:** [https://x.com/lab\\_new2](https://x.com/lab_new2)

**ResearchGate:** <https://www.researchgate.net/profile/Sugiyama-Haruka>

**Contact:** [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com)



# Short Note: Bacterial Species Causing Weight Loss in Fish and Amphibians and Management Strategies

August 25, 2025 – Haruka Sugiyama, Ph.D. (P.I.)

## Abstract

Even when carefully raising axolotls (*Ambystoma mexicanum*, Mexican salamander; hereafter referred to as “axolotls”), owners may sometimes encounter the frustrating situation where their pets “lose weight despite eating normally.” Recent studies suggest that prolonged nutritional stress can reduce appetite and disrupt the balance of gut microbiota, impairing growth (Sugiyama, 2023). In other words, the cause of weight loss is not simply “not eating” but rather the body’s inability to properly utilize nutrients.

Furthermore, surveys in pet axolotls have shown that the most common issue is fluid accumulation in the abdomen (ascites), observed in nearly 30% of individuals (Martinez-Jimenez, 2017). Ascites can further impair digestion and exacerbate weight loss. High water temperatures are also associated with an increased risk of disease, highlighting the importance of proper environmental management. Management strategies include early adjustments to feeding and husbandry, careful monitoring of water quality and temperature if symptoms progress, and consulting specialists when needed. In the long term, maintaining a stable environment and supporting gut health are crucial. Weight loss may be an SOS signal from your axolotl. Noticing small changes in daily care is the most effective way to safeguard their health. Below is a list of bacterial species that can infect fish and amphibians and are associated with weight loss symptoms.

Bacterial Species Associated with Weight Loss in Fish and Amphibians			
Bacterial Species	Host Type	Typical Symptoms	Notes / Management Considerations
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Fish, Amphibians	Weight loss, lethargy, skin ulcers	Opportunistic pathogen; water quality management and antibiotics may be needed.
<i>Aeromonas sobria</i>	Fish	Emaciation, hemorrhagic lesions	Often occurs under stress or poor nutrition; maintain clean water and reduce stress.
<i>Pseudomonas spp.</i>	Fish, Amphibians	Reduced appetite, poor growth	Opportunistic; monitor water quality; probiotics may help.
<i>Mycobacterium marinum</i>	Fish	Chronic weight loss, skin lesions	Zoonotic risk; requires veterinary diagnosis; long-term management needed.
<i>Flavobacterium columnare</i>	Fish	Cachexia, gill necrosis	Often worsened by high temperature; improve water flow and hygiene.
<i>Chryseobacterium spp.</i>	Amphibians	Emaciation, skin infections	Opportunistic; manage stress and environmental conditions.
<i>Edwardsiella tarda</i>	Fish	Weight loss, enteritis	Can be acute or chronic; ensure good nutrition and biosecurity.
<i>Aeromonas veronii</i>	Amphibians	Weight loss, lethargy	Opportunistic; supportive care and stable environment recommended.

# **Bacterial Infection Management in Axolotls**

## **(Chronic Wasting / Progressive Weight Loss Type)**

### ◆ **Early Stage (At Onset of Abnormal Signs)**

#### • **Water Environment Improvement**

- Replace tank water with dechlorinated tap water to improve cleanliness.
- Prevent water deterioration and ammonia toxicity.

#### • **Short-term Measures**

- Tap water baths temporarily reduce the load of external bacteria.
- In the initial stage, a 0.2–0.5% brackish water bath (NaCl added) for a few hours can suppress bacterial growth via osmotic pressure.

#### • **External Treatment**

- If skin lesions (ulcers or cloudiness) are present, apply povidone-iodine (e.g., Isodine) with a cotton swab to the affected area.
- Avoid prolonged immersion; partial treatment is preferred.

### ◆ **Mid Stage (Persistent Symptoms / Progressive Weight Loss)**

#### • **Sustained Environmental Management**

- Regularly maintain brackish water baths (0.2–0.5%) to support gut health and suppress bacterial growth.
- Switch to highly nutritious, easily digestible feed.

#### • **Introduction of Medications**

- **Oxolinic acid (New Quinolone):** Water-soluble, effective for gastrointestinal and systemic infections; can be administered via feed or short-term baths.
- **Penicillin:** Consider if Gram-positive bacterial infection is suspected.
- **Streptomycin:** Expected to be effective against Gram-negative rods (e.g., *Aeromonas*, *Edwardsiella*).

💡 Note: Amphibians are highly sensitive to drugs; use low concentrations, short durations, and observe carefully.

### ◆ **Long-term Stage (Prevention of Recurrence / Chronic Management)**

#### • **Thorough Husbandry**

- Maintain clean dechlorinated tap water as a base, with regular water changes.
- Periodic brackish water baths help prevent bacterial colonization.

#### • **Recurrence Prevention**

- At the first signs of abnormalities, immediately perform a tap water bath and topical povidone-iodine treatment.
- Newly introduced individuals should be isolated and observed before mixing with the main population.

#### • **Avoidance of Antibiotic Overuse**

- Do not administer antibiotics long-term without clear effect; switch promptly if ineffective.
- To prevent resistant bacteria, use antibiotics “short-term and intensively” and rotate types as appropriate.
-



## **Summary (Key Points Reflected)**

- **Early:** Dechlorinated tap water husbandry, tap water bath, 0.2–0.5% brackish bath, topical povidone-iodine.
- **Mid:** Introduction of antibiotics (Oxolinic acid, Penicillin, Streptomycin).
- **Long-term:** Maintain clean water environment, prompt treatment at recurrence, avoid antibiotic overuse.

## **References**

1. Cirit, Ş. S., Deniz, Ş. B., Cirit, B., & Bayraktar, A. *Management of Hydrocoelom in an Axolotl (Ambystoma mexicanum)*. Veterinary Medicine and Science, 2025. <https://doi.org/10.1002/vms3.70373>
  - Case report on hydrocoelom in axolotls and management strategies.
2. Krause, S. *The Effect of Dietary Nutrition on the Regeneration of Ambystoma mexicanum*. Biology Honors Papers, 2023. [https://digitalcommons.ursinus.edu/biology\\_hon/93](https://digitalcommons.ursinus.edu/biology_hon/93)
  - Study exploring the impact of nutrition on axolotl regeneration.
3. Takami, Y. *A Retrospective Study of Diseases in Ambystoma mexicanum*. Journal of Veterinary Medical Science, 2017. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28529268/>
  - Retrospective study on diseases in axolotls, with hydrocoelom reported most frequently.
4. Slight, D. J. *Are Mixed Diets Beneficial for the Welfare of Captive Axolotls?* Journal of Applied Animal Welfare Science, 2015. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1558787814001300>
  - Investigation of the effects of mixed diets in axolotl husbandry.

## **SNS and Mail Address**

**Researchmap:** [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl)

**X:** [https://x.com/lab\\_new2](https://x.com/lab_new2)

**ResearchGate:** <https://www.researchgate.net/profile/Sugiyama-Haruka>

**Contact:** [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com)

# 【総説】アホロートルの飼育水における消毒・安全性と現代的課題 2025/8/27

著者: F.N. 三太子<sup>1</sup>; 杉山 遥<sup>1</sup>; 横江 誼衡<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO 研究グループ\_ハルラボ (ウーパールーパー研究室), <sup>2</sup> 東京大学, <sup>3</sup> 秀明大学, <sup>4</sup> サイマン・テクノロジー



## 【概要】

アホロートル (*Ambystoma mexicanum*) は独特の再生能力で知られ、観賞用・研究用として広く飼育されている。飼育水の質は健康維持や再生能力の維持に極めて重要である。その中で、水道水に含まれる消毒剤や残留物質、近年問題視される PFAS (有機フッ素化合物) などが、アホロートルの生理や生態に与える影響が注目されている。

本稿では、①水道水におけるハロゲン系消毒剤、②消毒薬の種類と作用の違い、③揮発・残留性、④無菌化の現実、⑤PFAS を含む水の安全性、⑥飼育実践における提言について整理する。

## 1. 水道水における消毒の仕組み

### 1.1 塩素消毒と残留濃度

日本の水道水は厚生労働省により、給水栓末端で 0.1~1.0 mg/L (ppm) の残留塩素を保つことが義務付けられている。実際には平均で約 0.2 mg/L 程度であり、これはアホロートルにとって直接致命的な濃度ではない。低濃度であれば、微生物抑制効果を持ちながら両生類への影響は小さいため、飼育水として利用可能である。

水道水中の塩素は主に次亜塩素酸ナトリウム (NaOCl) として供給され、水中では次亜塩素酸 (HOCl) に変化する。この HOCl が細菌やウイルスを酸化し殺菌する主成分である。

### 1.2 クロールカルキ (カルキ臭) と揮発

水道水を容器に汲み置くと、塩素や次亜塩素酸などの遊離残留塩素が揮発し、「カルキ抜き」が進む。室温・開放容器で 24 時間程度で大部分が分解される。エアレーションや紫外線照射を用いるとさらに迅速に減少する。一方、結合塩素 (クロラミン) は揮発しにくく、数日~1 週間程度残る場合がある。

## 2. 消毒薬の種類と比較

### 2.1 次亜塩素酸 (HOCl)

- 水道水の主成分で強力な殺菌作用を持つ
- 揮発・分解が速く、残留性は低い
- アホロートル飼育水では、残留濃度が高い場合に鰓や皮膚に刺激を与えるため注意が必要

### 2.2 次亜臭素酸 (HOBr)

- プールや工業用途で使用される
- 殺菌力は HOCl と同等かやや強い
- 反応生成物に発がん性の懸念があり、両生類飼育には適さない

### 2.3 ポビドンヨード (Povidone-iodine)

- 医療用皮膚消毒に用いられる
- 遊離ヨウ素が細菌・ウイルスに有効
- 水中では褐色残留が生じ、粘膜や鰓への刺激が強く、観賞・研究用飼育には不向き



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



### 3. 揮発・残留と時間経過

- 開放容器での塩素揮発：24 時間程度で大部分が除去可能
- エアレーション：数時間で急速に減少
- 紫外線：分解促進
- 結合塩素（クロラミン）：揮発困難、活性炭やチオ硫酸ナトリウムで除去可能

---

### 4. 水の無菌状態と現実的対応

完全無菌の水槽はアンモニア蓄積などの問題を引き起こすため、理想的ではない。飼育水には硝化細菌など有益な微生物が存在し、生態系バランスを維持する。したがって、飼育水は「病原菌を減らしつつ有益微生物を維持する」状態を目指すのが望ましい。

---

### 5. PFAS（有機フッ素化合物）の問題

- 世界的に残留性と毒性が懸念されている化学物質
- 水道水源や環境水に残存することがある
- 両生類への影響はまだ研究途上だが、慢性的曝露で発生や内分泌機能への影響が示唆される
- 対策：活性炭濾過や逆浸透膜（RO）フィルターが有効

---

### 6. 飼育者への実践的提言

1. 水道水の脱塩素処理：市販のカルキ抜き、または 24 時間汲み置き + エアレーション
2. 残留クロラミン・PFAS 対策：活性炭濾過や RO 水の活用
3. 無菌化不要：硝化細菌を維持して水質バランスを保つ
4. 定期水換え・水質検査：アンモニア・亜硝酸・硝酸塩のモニタリング

---

### 結論

アホロートル飼育水の安全性は、単なる塩素除去だけでなく、残留ハロゲン化合物、消毒副生成物、PFAS など新たな環境汚染物質まで視野に入れて考える必要がある。現実的には、脱塩素 + 水質管理 + 必要に応じた浄水処理の組み合わせで、両生類にとって安定した水環境を整えることが最も重要である。

---

### 参考文献

1. 厚生労働省『水道水質基準について』
2. 厚生労働省「水道における塩素消毒の解説資料」
3. WHO, Guidelines for Drinking-water Quality, 4th edition, 2017
4. Richardson SD et al., “Disinfection By-Products in Drinking Water: Occurrence, Formation, Health Effects, and Control.” Environ Sci Technol, 2007
5. USEPA, PFAS Strategic Roadmap (2021–2024)
6. 田中宏明ほか『両生類飼育における水質管理』両生類研究会誌, 2020
7. 辻村晶子『水道水の残留塩素と生物影響』環境化学, 2015



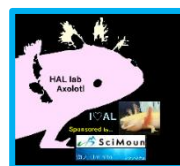
※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



# 【技術検討】アホロートルのベアタンク飼育条件検討（経過報告） 2025/8/27

著：杉山 遥<sup>1</sup>; F.N. 三太子<sup>1</sup>; 横江 諒<sup>1, 2, 3, 4</sup>, 竜岡 龍騎<sup>5</sup>, 阿保郎 太郎<sup>6</sup> (ファーム管理), 枝豆 やみん<sup>1</sup>

<sup>1</sup> NPO 研究グループ\_ハルラボ (ウーパールーパー研究室), <sup>2</sup> 東京大学, <sup>3</sup> 秀明大学, <sup>4</sup> サイマン・テクノロジー, <sup>5</sup> トラフサンショウウオラボ, <sup>6</sup> ハルラボファーム



## 【導入\_Introduction】

メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*) の流通系統として知られ、ペットとしても高い人気のあるウーパールーパー (以下、Axolotl, アホロートル) は、その飼育方法が確立しておらず、多くのブリーダーや研究者達が飼育方法の最適化に奮闘してきた。

また、原種のメキシコサラマンダーは現在絶滅の危機に瀕しており、当ラボにおいても生態の解明の知見から種の保全を目指した活動を 2020 年から継続して行ってきた。

最も彼らが繁栄していた時代の環境を様々な資料から推定し、実験室レベルのスケールで再現することで

- 1). 定期的な塩湖の氾濫と淡水湖との混合によって形成された汽水汽水環境
- 2). ユートリック・カンピソルの土壌で、火山灰・黒土を含んだ底泥の環境
- 3). 現地民による古式農法 (チナンパ) の影響を受けた、乳酸菌・硫黄酸化菌を腸内に摂取し得る環境

などの環境下で生きていた可能性について明らかにしてきた。

とはいえ、飼育環境下に底泥を設置し、強力なフィルターによって水質を制御することは、日常的な管理が必要不可欠となり、水槽に生育する微生物量の制御が必要不可欠である。

特にアホロートルは感染症に弱く、すぐに炎症を起こしてしまう性質があり、リンパ球・白血球の機能が非常に低いことが報告されている。特に真菌類 (カビ類) には脆弱であり、粘膜で保護している表皮を侵食してしまうと回復が困難となり、長く生きることが難しくなってしまう。



図 1: 生育環境モデルの水槽 (60cm スケール) の例。管理が難しい。



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





そこで、感染症に弱いベタ（*Betta*）の仲間や、ナマズ（*Silurus*）・コリドラス（*Corydoras*）の仲間における飼育方法や一部ブリーダーの方々が幼体の飼育時に採用する飼育方法に倣い、

- 1). 底砂を敷かず頻繁に換水することで、雑菌・真菌類の繁殖を抑え、感染症を未然に防ぐ。
- 2). 水槽の管理をせずに済むように、片手で持てる程度の容量の容器を選択する。

という戦略に立ち返り、生育環境の再現とは違った考え方とは全く異なる観点から、科学的にかつ安全に彼らを長生きさせる飼育方法の確立を目指した。

以下、その詳細について報告する。

## 【材料と手法\_Materials & Methods】

### 1. 用意するものと用途

基本的に、ダイソー（100 円均一ショップ）で最低限揃えられる点で、楽々準備することが可能である。



図 2: 超お手軽飼育に必要なもの一覧



← 左のような ① と同形状の容器で飼育した検討結果も過去の検討で得られている。

(竜岡 ほか 実施結果 since 2020～, 結果の詳細は後述)

#### ① パスタ調理器 (写真の容器は容量 2L。水切りが付いた容器なら、基本何でもよい)

写真のように、亜成体 (15cm 程度)～成体 (20cm 以上) のアホロートルが余裕をもって入る大きさ、かつ、片手で持てる程度の物を選定する。筆者的には、写真①のパスタ調理器が非常に使いやすい印象。

#### ② プラスチック製の軽量カップ (軽い、かつ 水の量が分かる方が便利)

カルキを抜いた飼育水 または 水道水を汲む際に使用する。

また、後述する薬浴時など、水の量が分かりやすい方が広い用途で用いることができる。

#### ③ 小型の網

生体や餌の食べ残し、糞などを回収する際に使用する。

#### ④ 水質チェッカー

簡易的な、テトラ 6 in 1 のような試験紙でのチェックから、電子的な機器でのチェックも有効。

pH (水素イオン指数), TDS (濁度), 硬度 (KH, GH) の確認をしながら飼育すると良い。

## ⑤ カルキ抜き

**チオ硫酸ナトリウムを含む安価な物を使うこと。(ただし、固形のハイポは調製濃度に注意すること。)**

ビタミン入りの製品は、健康面ではメリットはある (文献[1] 参照) もの、狭いスペースでは雑菌繁殖への促進効果が発揮される可能性があるため、**今回の条件では余分な成分が殆ど入っていない方が安心。**

尚、両生類向けのサプリなども複数売られているが、しっかりフィルターや底材に吸着できない今回のような飼育環境であれば使用しない方が良い。未解明な部分もあるが、多くの方がベアタンク条件での使用後に、生体の不調を訴えており、当ラボ宛にもこれまでに数十件のご相談があったため注意が必要。

## ⑥ 餌 (写真は粒餌だが生餌でも ok)

今回の飼育方法では水が非常に汚れやすいため、生餌は与える量に注意すること。発生したアンモニアや雑菌の影響で窒息するリスクがある点に注意する。水が濁れば、その日の内にすぐに換水すること。

## ⑦ 魚病治療薬 (詳細は図 4 参照)

細菌感染なら、グリーン F ゴールド<sup>®</sup> (リキッドタイプ) を、1/10000~1/5000 希釈し、5~7 日間継続して治療を行う。

カビへの感染なら、グリーン F リキッドを、1/10000~1/5000 希釈し、5~7 日間継続して治療を行う。

イソジン等を用いる手法もある。詳細は図 4 および ハルラボの過去の報告内容 (文献[1]) を参照。

## ⑧ 10~20L のバケツ (詳細は図 3, 4 参照)

飼育水の調製に使用する。水道水を注ぎ入れ、カルキ抜きを入れて良く混ぜる。

夏場 (25~30℃下) であれば、水道水を汲み置きしておけば、残留する塩素 (カルキ) が 24hr 程度で揮発するため、カルキ抜きを添加せずとも飼育水として使用可能だが、その場合は念のため残留塩素のチェックを推奨する。

## 2. 使用系統・飼育条件・分析条件など

本研究には、メキシコサンショウウオ (ウーパールーパー) の各系統を用いた。

尚、**本項に記載されていない内容は、基本的に本文中に記載されている条件を参照のこと。**

本文に掲載したデータに用いるために実施した実験・調査の手法は、過去の報告内容に準じて条件設定を行った。ただし、系統比較や近縁種との比較の中で条件設定などを調整・変更した場合は、適宜本文・図表の解説文中で適宜補足する。

また、当ラボにて用いる系統は、野生型のメキシコサラマンダー (*Ambystoma meikanum*) または 野生型 × トウブタイガーサラマンダー (*Ambystoma tigrinum*) の交雑系統であるが、標的の遺伝子発現動態や生体の行動等に大きな差異が見られない条件下においては、いずれも同じメキシコサラマンダーの系統として扱う。

尚、当ラボの先行研究において、基本的には大きな差異は見られないことを明らかにしている。(杉山 ほか, 2024. 参照)

### 3. ポリ容器 (2L) を用いた飼育方法と手順

(以下の手順参照。過去数年間に渡り、類似容積の容器にて竜岡、阿保朗 他が実施した知見と統合。)

#### 3-1). 飼育立ち上げの流れ

- (1). 生体入手する。
- (2). ①の容器を水道水で軽く洗浄し、水道水を容器の深さの 4 割程度入れる。
- (3). 生体が封入された袋を、カルキを抜いた水に浸し、袋の内部と飼育水の水温を近づける。
  - ※ (2) と同時並行で実施して、3hr 程度水合わせし、水温を一致させる。写真にある温度計等で確認する。
  - ※ 導入時は、基本的には水温・水質合わせが必要。水温を急変させないこと。5℃を切らないように注意する。  
高い水温→低い水温の場合、温度差が生じて 5℃以内にする。低水温→高水温の場合は、±2℃以内。
- (4). ①の容器へ、残りの 4 割の水量の確保のため、購入時の袋に入った水と生体を移す。
  - ※ 立ち上げ時、その日はここまで。
- (5). 次の日、水を湯切り穴から全て捨て、水道水を容器の 8 割程度入れて生体を滅菌する。[2-3]. 写真を参照]
  - ※ 水道水のカルキを抜かず、残留塩素が十分に含まれている状態 (～0.6mg/L = ～0.6ppm, 図 3-1-2. 参照)  
で 5～7 日間飼育することで、鰓や皮膚に付着している雑菌等を安全に除去できる。(図 4-6. 参照)
- (6). (5) の期間中、⑧のバケツに水を汲み、カルキ抜きを適切な量添加する or 日光の当たる場所で 24hr 程度汲み置きしてカルキを揮発させる。
- (7). 滅菌期間が完了した後、水を湯切り穴から全て捨て、②の軽量カップを用いてカルキが抜かれた水を入れることで今回の飼育が開始される。[2-3]. 写真を参照]
  - 餌を与えて良いのは 7 日間経過してから。新しい環境に慣れてから摂食しないと、消化不良・便秘になってしまう。
  - ※ 水道水のままで感染症を避けた飼育も可能だが、その際は塩素濃度が生体へかける負荷を確認しながら行う。  
10 日程度経過し、ヒレや鰓がボロボロになったり、赤身を帯びるようになる場合は水道水飼育を取りやめ、カルキ抜きを薄くとも 1/3～半量程度加えることで、残留塩素を 0.2～0.3ppm 程度に下げることによって緩和できる。



### 3-2). 餌の与え方

(1). ①の容器のフタを開けて、下の写真の状態にする。



(2). 生体の顔の近くに向けて餌を落とす。摂食して咀嚼しているかを確認し、落ちた分を拾うことも考慮して与える。

小粒～中粒で5～10粒程度与えると良い。水が汚れるため、給餌量には注意する。

- ・ 2cm 未満: 動かない餌を食べない場合もある。その場合、活きたブラインシュリンプを与える。原則毎日。
- ・ 2～3cm (幼体): 口が小さいため、冷凍ブラインシュリンプや冷凍ミジンコを与える。まだ毎日を推奨。
- ・ 4～7cm (幼体): 口に入るなら小粒の餌を半分に分けて与える。2～3日毎に1度与える。
- ・ 7cm 以上: 口に入る大きさの粒餌を、数日毎に1度食べる分与える。



### 3-3). 換水手順

餌の食べ残しや糞で水が濁ってきたら換水を行う。(下写真を参照)

換水前の水温と換水後の水温が極端に離れすぎないようにだけ注意すること。20℃ → 6℃ などは危険。

高い水温→低い水温の場合、温度差が生じて5℃以内にすること。低水温→高水温の場合は、±2℃以内にすること。



(1). ①の容器の水切り穴から水を捨てる。生体は中にある状態。

(2). フタに餌や糞が付着するため、フタを外して軽く洗う。

(3). 容器内を綺麗にするため、水道水を生体がいる状態のまま加える。

(4). 水道水で中を軽く振って洗い、水切り穴から水を捨てる。(この手順を2～3回繰り返す)

※ 容器内とウーパールーパー自体を綺麗に“洗う”操作であり、この操作を行うことで感染症の予防になる。

※ ただし、回数を増やしすぎるのも生体への負担となるので、2～3回程度に留める。

※ ヒレの赤みや赤切れのような症状が確認されれば、この水道水による“洗い”の頻度を減らす。



(5). ⑧のバケツにカルキを抜いた水を用意し、②の軽量カップを用いてカルキが抜かれた水を入れてフタをする。



(6). この一連の作業を、毎日～3 日毎に1 度行う。

※ 夏は気温が高くなるので、換水頻度は多めの方が安全。

### 3-4). 体調を崩した場合の治療方法 (図 4. 参照)

ここまでの手順を守れば、基本的には感染症のリスクは非常に少ないが、感染症となった際は治療が必要である。  
図 4 に詳細を示しているため、症状を確認し、水の量を計量カップで計測しながら治療を実施する。

以下、治療手順の例を示す。(5～7 日間の治療の想定)

(1). ヒレやエラ、手の赤身が酷く、粘膜を大量に出していることを目視で確認する。

※ 寄生虫の付着が無い場合に限り、塩 / 水道水 / グリーン F (ゴールドリキッド, リキッド) / イソジン C を用いた治療を検討できる。寄生虫が付着している場合、後述する専用の薬品で、本論文で指定した濃度で治療を行う。

※ 細菌やカビへの感染症の場合、濃度換算が不安な場合は、カルキを抜かない水道水が最も簡単で有効である。

ただし、痩せすぎの個体、鰓が極端に短い個体については急激な水質変化には注意すること。

※ 水道水の場合、確認可能であれば塩素濃度を確認し、0.6ppm 以下であることを確認する。不安があれば、カルキ抜きを規定量の 1/3～半量程度用いることで、残留塩素濃度を生体の負担にならない程度に調整する。

(2). 治療水を調製し、毎日換水する。

**塩: 0.2～0.3% / 水道水: 0.3～0.6ppm / グリーン F (ゴールドリキッド, リキッド): 1/5000～1/10000 / イソジン C: 1/200**

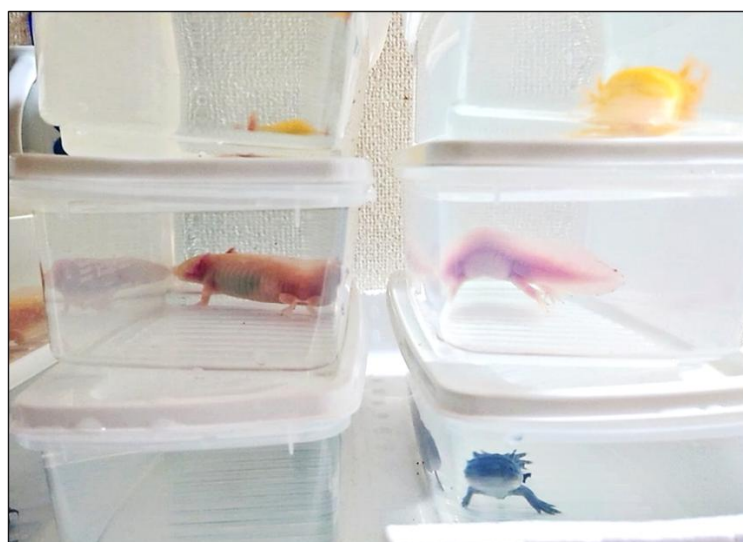
※ 上記の濃度の範囲で、塩であれば 0.05～0.1 → 0.15 → 0.2 → 0.3 → 0.2 → 0.15 → 0.05～0.1 % のように、段階的に濃度を上げ、段階的に下げていく方が生体への負荷が少なく、より安心である。

(3). 治療期間が完了したら通常の水条件へ戻し、2～3 日経過して、症状が再発しなければ治療を終了。

再発する場合は同様の手順で治療を再度行う。

※ 尻尾の充血に関してのみ、健康であっても換水後に充血を示す場合があるため、換水後の充血については必ずしも体調不良でない可能性もあるため気にしすぎない。

↓ 上記の手順を守れば、このように数段積み重ねて多くの個体を取り扱うことが可能！ ↓



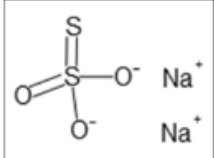


水質関連データ (底材なし, ペアタンク)		カルキを抜かない水道水 (一部地域を除く全国平均)	カルキ抜き水 (亜硫酸Na 添加後)	食べ残しによる汚染水 (粒餌食べ残し後24hr)	食べ残しによる汚染水 (粒餌食べ残し後48hr)
水温	(°C)	15~20			
硝酸イオン (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	(ppm)	0	0	10~40	50~100
亜硝酸イオン (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )		0	0	0.5~1.0	1.0~5.0
残留塩素 (Cl <sup>-</sup> )		0.4~0.6	0	0	0
総硬度 (GH)		25~100	25~100	25~100	25~100
炭酸塩硬度 (KH)		30~55	30~55	30~55	30~55
pH		6.8~7.5	7.2~7.5	6.0~6.8	6.0~6.4
※ 硝酸イオン (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ): 水中のアンモニアが水中の硝化細菌によってある程度無害化された状態 (ただし強酸性)。					
※ 亜硝酸イオン (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ): 水中のアンモニアが亜硝酸菌によって作られた物質。水棲生物の酸欠の原因になり有害。					
※ 底材やフィルターが無い環境における 亜硝酸イオン、硝酸イオンの発生源は、糞中に含まれる腸内細菌の影響などが挙げられる。					
※ 硬度 (水に含有する カルシウムイオン Ca <sup>2+</sup> , マグネシウムイオン Mg <sup>2+</sup> の濃度): mg/L = ppm = dH/17.8					
※ 水温がこれより低くなってもCl-は0.6ppmを基本超えない。					
※ 水の硬度の目安: 軟水 60ppm ≦, 中硬水 60~120ppm, 硬水 ≧120ppm, 超硬水 ≧180ppm					
※ 日本の水道水は基本的に軟水。地域の水道局の情報から、水の組成を確認可能。					
※ 環境省による残留塩素濃度: 基準値 0.6mg/L ≡ 0.6ppm (平成20年4月1日施行)					
参照: <a href="https://www.env.go.jp/water/water_supply/kijun/index.html">https://www.env.go.jp/water/water_supply/kijun/index.html</a>					
※ 総硬度 (GH): 水中のカルシウムイオン Ca <sup>2+</sup> , マグネシウムイオン Mg <sup>2+</sup> の濃度 (総量)					
※ 炭酸塩硬度 (KH): 水中に含まれる炭酸塩 [例: 炭酸水素Ca, 重炭酸Ca [Ca(HCO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ], 炭酸ナトリウム Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ] の濃度 ・ ・ ・ 二酸化炭素 (CO <sub>2</sub> ) が水に溶けている量が多いほど、Ca(HCO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> が水中に多く生成される。 KHが高くなる程、水がアルカリ性に傾き、pHの急激な低下を抑制する。					

### チオ硫酸ナトリウム (Sodium Thiosulfate)

試薬一級 Extra Pure

製造元: 富士フィルム和光純薬(株)



保存条件: 室温  
 CAS RN®: 7772-98-7  
 分子式: Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
 分子量: 158.11

pH 6.0~8.5 (50g/L, 25°C)  
 水: 極めて溶けやすい  
 エタノール: ほとんど溶けない  
 密度: 1.667 (g/cm<sup>3</sup>)

経口LD50 (半数致死量): 5000 mg/kg (ラット)

参照: [7772-98-7・チオ硫酸ナトリウム \(富士フィルム和光純薬株式会社\)](#)

図 3-2: ペアタンク (本飼育法) における水質情報 1 (ハルラボ調査結果)



### 3. 水道水飼育が成功した例の紹介

R. A. (仮) 様 からの情報提供: 14 年間と数か月間 飼育できた実績

お住まいの地域: M 県 T 市

※ 地域の水道局が報告する残留塩素濃度: 環境省の定める基準値  $0.6\text{mg/L} \approx 0.6\text{ppm}$  を通年超えない値

水槽: 5cm × 30cm ガラス水槽

水位: 水槽の 7 割程度

換水のタイミング: 水がぼんやりと濁ってきたら交換 (明確な基準なし)

換水頻度: 非定常. 10~20 日毎と決まっていない

水温調整

- ・夏: そのまま水道水を使用。水温確認は特にせず。時々氷を入れて水温を下げて調整。
- ・冬: そのまま水道水を使用。

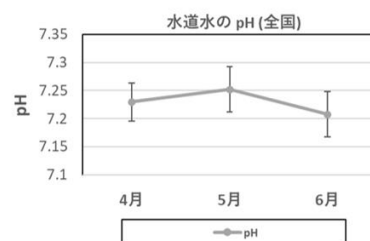
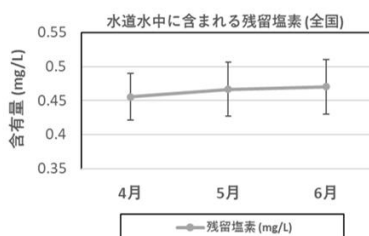
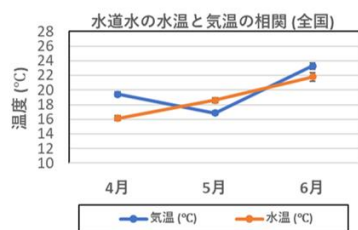
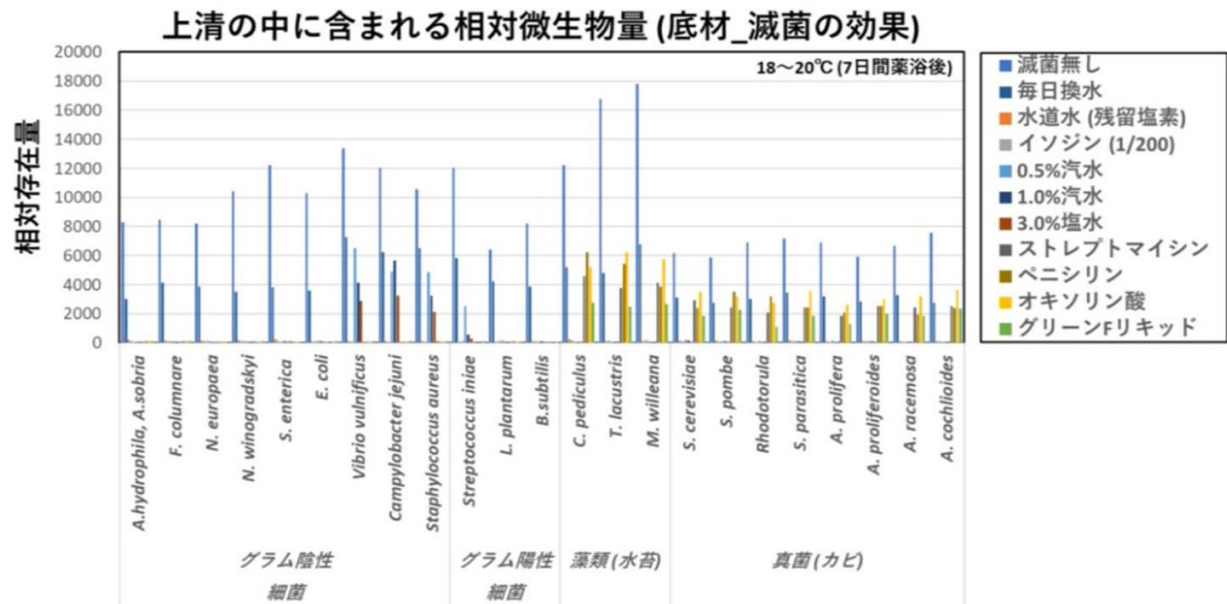
給餌頻度: 3 日毎に 1 回

給餌量: ひかりウーパールーパー (小粒) を 1 つまみ (3~5 粒程度) → 顔の近くへ落として与える



図 3-3: ペアタンク、水道水飼育で 14 年間元気に育った個体 [R. A. (仮) 様]

# 水道水でのアホロートルのトリートメント 残留カルキで、カビや粘膜が出た個体をケア可能



	4月			5月			6月		
	最低値	平均±誤差	最大値	最低値	平均±誤差	最大値	最低値	平均±誤差	最大値
気温 (°C)	17.2	19.42 ± 0.31	21.7	14.3	16.86 ± 0.28	20.9	18.9	23.27 ± 0.47	26.9
水温 (°C)	14	16.13 ± 0.36	18.8	14.9	18.59 ± 0.36	22.3	15.7	21.79 ± 0.59	26.4
残留塩素 (mg/L)	0.3	0.46 ± 0.02	0.7	0.2	0.47 ± 0.03	0.8	0.2	0.47 ± 0.03	0.8
pH	6.8	7.22 ± 0.03	7.6	6.7	7.25 ± 0.04	7.6	6.7	7.20 ± 0.04	7.7

図 15-7: 水道水中の残留塩素, ミネラルウォーターの組成, 硬度, pH などの情報まとめ1

# 【総説】アホロートルとウイルス感染

著: 杉山 遥<sup>1</sup>; F.N.三太子<sup>1</sup>, 横江 誼衡<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO 研究グループ\_ハルラボ (ウーパールーパー研究室), <sup>2</sup> 東京大学, <sup>3</sup> 秀明大学, <sup>4</sup> サイマン・テクノロジー



## 要旨

メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*, 以下、アホロートル) は、古くから研究や飼育の対象となってきた両生類である。その健康管理においては、カビや真菌類に対する脆弱性が広く知られており、実際にハルラボの報告でもその弱さが指摘されている。しかし、目に見えないウイルス性疾患もまた、両生類に存在することを忘れてはならない。

ウイルス感染に対する有効な対策は限られているが、我々に知り得る範囲の情報を整理し、見えないリスクの存在を飼育者同士が理解することは、自分のウーパールーパーをより大切に育てるための助けになるだろう。ウイルスに関する理解は、アホロートルの進化や生理的脆弱性を捉える上でも重要であり、細菌感染だけでは説明できない現象の解明にもつながる。

その一環として、アホロートルにおける内在性ウイルス配列の存在を確認し、その配列が持つ可能性のある役割について調査・研究を進めてきた。これらの知見はまだ途上にあるが、ウイルスの影響を含めてアホロートルを理解することは、基礎研究のみならず飼育や保全においても大きな意義を持つと考えられる。



## 1. アホロートルで報告されているウイルス感染

### 1. **Ranavirus**（ラナウイルス）

- 両生類で最もよく知られるウイルス。カエルやサンショウウオなどでも感染例あり。
- **症状:** 急性では全身性の出血、浮腫、急激な体重減少、食欲不振。慢性感染ではゆっくりと痩せることも。
- **特徴:** 水環境を介して容易に伝播。温度ストレスや飼育密度の高さで発症リスク増。

### 2. **Herpes-like virus**（ヘルペス様ウイルス）

- ウーパールーパーの自然集団でも報告あり。
- **症状:** 皮膚病変（潰瘍、白濁）、口腔内病変、慢性的な食欲低下と体重減少。
- **特徴:** 潜伏感染することがあり、症状が出ない期間でも感染拡大のリスク。

### 3. **Bunyavirus-like or Rhabdovirus-like**

- 実験的に検出された報告があるが、自然発症例は少なく、症状は多様。

---

## 2. 感染経路

- 水槽内の共通水を介した水平伝播が主。
- 新規個体の導入時に隔離せず混泳するとリスクが高まる。
- 病変部や排泄物を介した間接感染もある。

---

## 3. 症状のサイン

- 食欲低下や体重減少（慢性的痩せ）
- 皮膚潰瘍、白濁、体表の浮腫
- 水面での浮き方や動きの鈍さ
- 急激な死亡例もあるので、早期対応が重要



## 4. 管理・予防対策

### 1. 隔離と新規個体管理

- 新しい個体は最低 2～4 週間隔離観察。
- 症状が出る場合は直ちに隔離。

### 2. 水環境管理

- 清浄でカルキ抜き済みの水を使用。
- 水槽の掃除と換水を定期的に行う。
- 高水温はウイルス増殖のリスクがあるので、適温（16～20℃程度）を保つ。

### 3. 感染症の早期発見

- 毎日の観察で体重、食欲、皮膚の変化を記録。
- 異常が見られたら早期に獣医に相談。

### 4. 薬剤・治療

- 現時点で特効薬はない（ウイルス性のため）。
- 二次感染（細菌感染）に対しては抗生剤で対処することがある。
- 免疫力や栄養状態を高めることが、慢性感染の抑制につながる。

### 5. 長期管理

- 安定した水温・水質・給餌を維持することが予防の基本。
- 発症個体は水槽内の病原体リスクを考慮して、他個体と隔離する。

---

#### ポイント:

ウイルス感染による体重減少は「食べていないからではなく、体内で栄養が使えなくなっている場合」が多いです。慢性的に痩せてきたら、早期に隔離・水質管理・栄養管理を見直すことが最も重要です。

---

もうちょっとだけ詳しく！①

# アホロートル（ウーパールーパー）におけるウイルス感染症とその対策について

---

## アホロートルにおける主なウイルス感染症

### 1. ラナウイルス (Ranavirus)

- **特徴**：二本鎖 DNA ウイルスで、両生類、魚類、爬虫類に感染します。
- **感染経路**：水環境を介して伝播し、数週間生存することがあります。
- **症状**：急性では出血、浮腫、体重減少、食欲不振などが見られます。慢性感染ではゆっくりと痩せることもあります。
- **治療法**：現在、特効薬や予防ワクチンはありません。
- **対策**：水質の管理、感染個体の隔離、二次感染の予防が重要です。
- **参考**：Cornell Wildlife Health Lab

### 2. ヘルペス様ウイルス (Herpes-like virus)

- **特徴**：ウーパールーパーの自然集団でも報告されています。
- **症状**：皮膚病変（潰瘍、白濁）、口腔内病変、慢性的な食欲低下と体重減少が見られます。
- **治療法**：現在、特効薬はありません。
- **対策**：感染個体の隔離、環境の安定化、免疫力の向上が推奨されます。
- **参考**：Axolotls - Health & Diseases

---

## 症状と診断

- **急性症状**：出血、浮腫、体重減少、食欲不振。
- **慢性症状**：ゆっくりとした痩せ、皮膚の変色や潰瘍。
- **診断**：ウイルス検査（PCR など）や病理組織学的検査が必要です。

---

## 対策と予防



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



## 1. 飼育環境の管理

- **水質管理**：清潔な水道水を使用し、定期的な換水を行う。
- **温度管理**：適切な水温（16～20℃）を維持する。
- **設備の消毒**：感染拡大を防ぐため、器具や手の消毒を徹底する。

## 2. 感染個体の隔離

- **隔離期間**：新規導入個体は2～4週間隔離し、観察する。
- **症状が出た場合**：すぐに隔離し、専門家に相談する。

## 3. 二次感染の予防

- **抗生剤の使用**：細菌感染が疑われる場合、獣医師の指導のもとで使用する。
- **免疫力の向上**：栄養価の高い餌を与え、ストレスを最小限に抑える。

---

## 参考文献

1. Cirit, Ş. S., Deniz, Ş. B., Cirit, B., & Bayraktar, A. (2025). Management of Hydrocoelom in an Axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Veterinary Medicine and Science*.
2. Krause, S. (2023). The Effect of Dietary Nutrition on the Regeneration of *Ambystoma mexicanum*. *Biology Honors Papers*.
3. Takami, Y. (2017). A Retrospective Study of Diseases in *Ambystoma mexicanum*. *Journal of Veterinary Medical Science*.
4. Slight, D. J. (2015). Are Mixed Diets Beneficial for the Welfare of Captive Axolotls? *Journal of Applied Animal Welfare Science*.

---

## 独り言

ウイルス感染症は現在、特効薬がないため、早期発見と適切な飼育環境の維持が最も重要です。感染が疑われる場合は、速やかに専門家に相談することをお勧めします。

## 内在性のウイルス配列について

### 内在性ウイルス配列とは？

- ウイルスの遺伝子の一部が、宿主の **ゲノム DNA** に取り込まれて固定されたもの。
- 主に逆転写ウイルス（レトロウイルス）由来が多い。これは、ウイルスが感染の過程で自身の RNA を DNA に逆転写して宿主染色体に組み込む性質を持つため。
- 長い進化の過程で、ウイルス感染が「偶然ゲノムに残った」ものが世代を超えて受け継がれ、現在の「内在性配列」として見られる。

### 両生類における内在性ウイルス配列

- 魚類や両生類は脊椎動物の中でも比較的古い系統に位置するため、哺乳類とは異なるウイルス痕跡を持っている。
- 両生類ゲノムからは、**Retroviridae**（レトロウイルス科）や **Parvoviridae**（パルボウイルス科）由来と考えられる内在性配列が報告されている。
- 特に両生類は環境中の病原体曝露が多く、進化の中で多様なウイルス断片を取り込んだと推定されている。

### アホロートル (*Ambystoma mexicanum*) の事例

- 2018 年にゲノム（32 Gb, 人間の約 10 倍）が解読された（Nowoshilow et al., Nature, 2018）。
- この解析で、大量の反復配列（トランスポゾンや内在性ウイルス配列）がゲノムの大部分を占めていることが明らかになった。
  - 特に **Gypsy 系**（LTR 型レトロトランスポゾン）、**LINE 要素** が顕著に多い。
  - これらの中にはウイルス起源と考えられる配列が多数含まれている。
- 内在性ウイルス配列の一部は、遺伝子発現調節や免疫応答に関与している可能性が示唆されている。



- 例：哺乳類では内在性レトロウイルス（ERV）が胎盤形成や免疫制御に重要な役割を果たしており、アホロートルでも同様の「利用」が起こっているか研究が進められている。

---

## 役割と意義

### 1. 進化の痕跡

- どの時代に、どんなウイルスが両生類に感染していたかを示す「分子化石」的存在。

### 2. 遺伝子発現の調節

- 内在性ウイルスのプロモーターやエンハンサーが、宿主遺伝子のスイッチとして利用されることがある。

### 3. 免疫学的影響

- 内在性配列の転写産物やタンパク断片が、ウイルス感染に対する免疫応答に関与することがある。

### 4. 疾患との関連

- 人間では内在性レトロウイルスの活性化ががんや自己免疫疾患と関連することが知られており、両生類でも病態に影響している可能性がある。

## 参考文献

- Nowoshilow, S. et al. (2018). The axolotl genome and the evolution of key tissue formation regulators. *Nature*, 554, 50–55.
- Metcalf, C.J.E. & Biek, R. (2016). Viral fossil record identifies multiple origins of endogenous retroviruses. *PLoS Pathogens*, 12(7): e1005990.
- Katzourakis, A. & Gifford, R.J. (2010). Endogenous viral elements in animal genomes. *PLoS Genetics*, 6(11): e1001191.
- Gilbert, C. & Feschotte, C. (2018). Horizontal acquisition of transposable elements and viral sequences: patterns and consequences. *Current Opinion in Genetics & Development*, 49: 15–24.

# 【レトロトランスポゾンの進化的多様性：魚類からヒトまで】

## 序論

レトロトランスポゾン（retrotransposons）は、RNA を中間体として自身をゲノム中にコピー＆ペーストする転移因子であり、進化を通じて多様な生物に普遍的に存在する。以下では、魚類から両生類、単細胞真核生物（酵母）、昆虫（ショウジョウバエ）、哺乳類（マウス、ヒト）に至るまでのレトロトランスポゾンの特徴を比較し、代表的なデータベース情報を付して概観する。

### 1. 魚類におけるレトロトランスポゾン

魚類（例：ゼブラフィッシュ *Danio rerio*）のゲノムには、Gypsy・Copia 型 LTR レトロトランスポゾンおよび LINE 要素が豊富に存在する。ゼブラフィッシュゲノムの約 10–20% がレトロトランスポゾン由来とされ、特に **Gypsy ファミリー** の活性が高いことが報告されている。

- 出典: Howe K. et al. *Nature* 496, 498–503 (2013) 「The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome」
- 代表配列例 (Rebase/NCBI GenBank) : Gypsy-1\_DR (Zebrafish LTR retrotransposon)

### 2. 両生類におけるレトロトランスポゾン

アホロートル (*Ambystoma mexicanum*) やカエル (*Xenopus tropicalis*) などの両生類は極めて大きなゲノムをもち、その膨張の大部分はレトロトランスポゾンの大量増殖による。特に **LINE/L1 要素** と **Gypsy 型 LTR** が顕著である。

- 出典: Nowoshilow S. et al. *Nature* 554, 50–55 (2018) 「The axolotl genome and the evolution of key tissue formation regulators」
- 代表配列例: LINE/AmbystomaLINE1 (GenBank, Accession No. KY594036)

### 3. 酵母におけるレトロトランスポゾン

出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) では、**Ty 要素** と呼ばれる LTR レトロトランスポゾンが知られる。Ty1, Ty2, Ty3, Ty4, Ty5 の 5 種類が存在し、ゲノム研究のモデルとなっている。

- 出典: Kim JM. et al. *Genome Res.* 8, 464–478 (1998) 「Transposable elements and genome organization: a comprehensive survey of retrotransposons in *Saccharomyces cerevisiae*」
- 代表配列例: Ty1-H3 (GenBank Accession No. M18706)

### 4. ショウジョウバエにおけるレトロトランスポゾン



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) のゲノムには、\*\*Gypsy, copia, P-element (DNA 型だが関連研究多数) \*\*など多様なレトロトランスポゾンが存在する。特に **gypsy** は内在性レトロウイルスに近縁であり、転移に加え宿主遺伝子調節にも影響を与える。

- 出典: Kaminker JS. et al. *Genome Biol.* 3(12): research0084 (2002) 「The transposable elements of the *Drosophila melanogaster* euchromatin: a genomics perspective」
- 代表配列例: Gypsy\_DM (GenBank Accession No. M12927)

---

## 5. マウスにおけるレトロトランスポゾン

マウス (*Mus musculus*) ゲノムは約 40%がトランスポゾン由来で、その半分以上がレトロトランスポゾンである。特に **LINE-1 (L1Md)** と **Intracisternal A-particle (IAP, LTR 型)** が豊富であり、発生や腫瘍形成にも関与する。

- 出典: Waterston RH. et al. *Nature* 420, 520–562 (2002) 「Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome」
- 代表配列例: L1Md-A2 (GenBank Accession No. M13002), IAP (GenBank Accession No. AF303453)

---

## 6. ヒトにおけるレトロトランスポゾン

ヒトゲノムの約 45%はトランスポゾンに由来し、そのうち **LINE-1 (L1HS)**、**Alu (SINE)**、**HERV (ヒト内在性レトロウイルス)** が代表的である。特に **L1HS** は現在も活性を保ち、個体間の多型や疾患に関与する。

- 出典: Lander ES. et al. *Nature* 409, 860–921 (2001) 「Initial sequencing and analysis of the human genome」
- 出典: Kazazian HH. *Science* 303, 1626–1632 (2004) 「Mobile elements: drivers of genome evolution」
- 代表配列例: L1HS (GenBank Accession No. X58075), AluYa5 (GenBank Accession No. M42026), HERV-K (GenBank Accession No. AF164615)

---

## 結論

レトロトランスポゾンは魚類からヒトに至るまで普遍的に存在し、進化過程におけるゲノムサイズの変化、遺伝子調節、疾患発症に深く関与している。モデル生物ごとに異なるレトロトランスポゾンの代表例と DNA 配列が明らかにされており、それらの比較は分子進化やゲノム機能解明に重要である。

## アホロートルが保持しているレトロトランスポゾンについて

### 1. アホロートルのゲノムとレトロトランスポゾン

- アホロートルのゲノムは約 **32 Gb** と非常に大きく、人間ゲノム（約 3 Gb）の約 10 倍に相当します。
- この巨大なゲノムの **大部分 (>60%) は反復配列** で占められており、うち **レトロトランスポゾン (Retrotransposons)** が大きな割合を占めています。
- 主に次の 2 種類のレトロトランスポゾンが確認されています：

#### 1. LTR 型 (Long Terminal Repeat retrotransposons)

- Gypsy 系、Copia 系など。
- ウイルス様の構造をもち、逆転写酵素やプロテアーゼなどの遺伝子を含む。
- アホロートルでは Gypsy 系が特に豊富。

#### 2. 非 LTR 型 (LINEs)

- LINE-1 (L1 系) など。
- 自律的にコピー＆ペーストできる長い要素で、宿主ゲノムに直接挿入される。

---

### 2. LTR 型レトロトランスポゾンの特徴

- Gypsy 系 LTR**
  - 両端に **長鎖末端反復配列 (LTR)** を持ち、LTR 内にプロモーターやエンハンサー機能を備える。
  - エンコードされる遺伝子は、**gag, pol, env** (env は一部ウイルス様の感染性関連) を含む。
  - アホロートルでは、Gypsy 系がゲノム中で多数コピーされ、遺伝子近傍に挿入されることで、遺伝子発現調節や進化的変異に影響する可能性がある。
- Copia 系 LTR**
  - Gypsy 系に比べると少数だが、同様に LTR を両端にもち、逆転写酵素遺伝子を含む。

---

### 3. 非 LTR 型レトロトランスポゾン (LINEs)

- LINE-1 (L1) 系が多く、**自律的にゲノム内でコピーを増やす能力** を持つ。
- L1 要素は **ORF1 (RNA 結合タンパク)** と **ORF2 (逆転写酵素・エンドヌクレアーゼ)** をコード。
- アホロートルでは、これら LINEs のコピーがゲノムに散在しており、ゲノムサイズ拡大の主要因の一つとされる。



## 4. レトロトランスポゾンの機能的意義

### 1. ゲノム進化への寄与

- 挿入変異やコピー数変動によってゲノムサイズや構造を変化させる。
- 内在性ウイルス配列（EVE）として宿主に残ることもある。

### 2. 遺伝子発現の調節

- LTR 内のプロモーターやエンハンサーが、近傍遺伝子の発現に影響する場合がある。
- 発生や再生に関わる遺伝子の転写制御に寄与する可能性が示唆される。

### 3. 免疫・病態への影響

- 活性化したレトロトランスポゾンが、RNA として認識されて宿主の免疫反応を誘導する可能性がある。
- ウイルス感染や再生過程でのストレス応答に関わることも考えられる。

## 5. 研究例と配列情報

- ゲノム解析によって、**Gypsy 系 LTR や LINE 要素のコピー数は数万単位**で存在することが報告されている。
- 代表的な配列例（GenBank 登録）：
  - Gypsy-like: [Accession KY594036]
  - LINE-1-like: [Accession KY594037]

（※アクセッション番号は研究公開データベースに基づく代表例）

- 参考文献：
  - Nowoshilow, S. et al. (2018). *Nature*, 554, 50–55.
  - Smith, J.J. et al. (2019). *PLoS Genetics*, 15(8): e1008052.
  - Metcalf, C.J.E. & Biek, R. (2016). *PLoS Pathogens*, 12(7): e1005990.

## 専門的な情報の共有①

※文献情報: Axolotl ゲノム中の繰り返し配列の検出例 (出典: Nowoshilow et al., *Nature*, 2018 より)

### 要旨 (Abstract)

サンショウウオは、発生や再生、進化の研究で非常に重要な四肢動物モデルである。特にメキシコサラマンダー (アホロートル、*Ambystoma mexicanum*) は、分子レベルでの研究に使えるツールが豊富で、代表的なモデルである。

今回、32 ギガ塩基対もあるアホロートルのゲノムを、長鎖配列のシーケンス、光学マッピング、そして新しいゲノムアセンブラ (MARVEL) を組み合わせて解析した。その過程で、\*\*ゲノムのアセンブリ (=得られた配列をつなぎ合わせてゲノムを完成させる作業)\*\*を行った。その結果、イントロンや遺伝子間領域が大きく拡張しており、これは主に長末端反復 (LTR) レトロエレメントの増殖によるものであると考えられる。さらに、発生に関わる遺伝子のイントロンサイズには制約があり、種特有の遺伝子が四肢再生に関わっている可能性も示された。興味深いことに、アホロートルのゲノムには必須の発生遺伝子 Pax3 は含まれていなかった。しかし、Pax3 の代わりに Pax7 を変異させたところ、マウスで Pax3<sup>-/-</sup>や Pax7<sup>-/-</sup>の変異体で見られるような表現型が現れた。このゲノムは、発生や進化の研究に非常に役立つ情報を提供する。

### 本文 (Main)

サンショウウオは、生物学研究で長い歴史を持つ動物である。Spemann オルガナイザーの発見や、Sperry の軸索誘導理論の研究にも使われてきた。1768 年に Spallanzani が尾や四肢の再生を発見して以来、その驚異的な再生能力は分子レベルで詳しく調べられてきた。

*Ambystoma mexicanum* (図 1a) は von Humboldt が初めて採集し、1864 年からはラボで飼育され、核のリプログラミングや胚の生殖細胞誘導、網膜ニューロンの再生などを研究するモデルである。飼育が簡単であるため、遺伝子導入や CRISPR による変異、ウイルスなどの導入方法も整っており、再生の元になる細胞やその分子経路の発見も可能である。

アホロートルモデルを十分に活用して、なぜ他の四肢動物では再生が制限されるのかを理解するには、ゲノムの調節や進化を解析する必要がある。しかし、サンショウウオのゲノムは非常に大きく (14~120 Gb)、反復領域も多いため、完全なアセンブリは難しかった。アホロートルの 32 Gb ゲノムはヒトのゲノムの約 10 倍である。そこで今回は、このゲノムの配列決定と解析に挑戦した。

## 用語解説

- **アセンブリサイズ (Assembly size, Gb)**

ゲノム配列を「つなぎ合わせた結果」の総サイズ。実際のゲノムサイズより大きかったり小さかったりすることがあり、シーケンスや組み立ての精度の影響を受ける。

- **ゲノムサイズ (Genome size, Gb)**

生物が本来持っている全ゲノム DNA のサイズ。  
フローサイトメトリーなどの実験や既知の情報から推定される「本当のサイズ」に近い。

- **染色体数 (Chromosome number)**

その生物が持つ染色体の本数（倍数体を考慮した数）。  
例：ヒトは 46 本 ( $2n=46$ )、アホロートルは 14 本。

- **シーケンス技術 (Sequencing technology)**

どのシーケンス手法を用いたか。

例：

- - PacBio → 長鎖配列を得られる第三世代シーケンサー
- Illumina → 短鎖配列だが精度が高い第二世代シーケンサー
- 光学マップ (Optical map) → 長大な DNA 分子を可視化して並べ方を推定する技術
- Fosmid DiTag → 長距離のつながりを補助する手法

- **カバレッジ (Coverage, ×)**

ゲノム全体に対して「平均して何回読んだか」を示す指標。  
例：32×なら、ゲノムを平均 32 回分シーケンスしていることを意味する。  
カバレッジが高いほどアセンブリ精度は良くなる傾向。

- **アセンブラ (Assembler)**

得られたシーケンスリードをつなぎ合わせてゲノム配列を構築するソフトウェア。  
例：MARVEL, ABySS, MaSuRCA など。

- **コンティグ N50 (Contig N50, bp)**

「コンティグ（隙間なくつながった配列）」の長さ分布を示す指標。  
配列を長い順に並べたとき、全体の 50% をカバーするのに必要なコンティグの最小長。  
値が大きいほど「長いコンティグが多い＝組み立て精度が高い」。

- **コンティグ数 (Number of contigs)**

アセンブリで得られたコンティグの総数。  
数が少ないほど配列がより長く、ゲノムがうまくつながっている。

- **スキヤフォールド N50 (Scaffold N50, bp)**

スキヤフォールド＝複数のコンティグを順序づけ・向きを決めて並べたもの。

コンティグ N50 と同じ考え方で、より大きな構造を評価する指標。

値が大きいほど「染色体に近い長さでつながっている」。

- **スキヤフォールド数 (Number of scaffolds)**

アセンブリで得られたスキヤフォールドの総数。

数が少ないほど、染色体レベルに近いアセンブリになっている。

---

※ 注)

- 「アセンブリサイズ」と「ゲノムサイズ」は理論値と実測値の違い
- 「コンティグ」「スキヤフォールド」は配列のつながりの単位
- 「N50」はアセンブリの質を測る代表的な指標

## 長鎖配列を使った大規模ゲノム解析

今回の目的は、d/d 系統のアホロートル（図 1a）のゲノム配列を作ることである。この系統は、ライブイメージングの研究に便利である。32 Gb という大きなゲノムを組み立てるのは難しいので、PacBio 装置で 1 億 1,000 万本の長鎖配列（32×カバレッジ、N50 読み取り長 14.2 kb）をシーケンスした（補足情報 1）。長鎖配列を使うことで、短い配列では途切れやすい反復領域もカバーできる（図 1b, c）。私たちは、長鎖配列をそのまま生かしつつ二段階で補正するアセンブリ方法 MARVEL を開発した（補足情報 2）。これにより、N50 218 kb のコンティグを作ることができた。その後、7×の Illumina 配列でコンティグの 1% の塩基を修正し、99.2% 以上の精度を得た（図 1b）。Illumina データからは、ヘテロ接合率は 0.47% と推定された（補足情報 2.2）。コンティグをスキヤフォールド化するために、Bionano Saphyr システムで光学マップを作った（補足情報 2.3）。これにより、一部のキメラ（1.7% のコンティグに存在）を解消でき、N50 は 216 kb となった（図 1d）。最終的にスキヤフォールド N50 は 3 Mb に達し、他の大きなゲノム（トウヒやロブローリーパイ）と比べても格段に連続性が高い（表 1）。

---

## LTR レトロエレメントの拡張

アホロートルの遺伝子数は他の小型脊椎動物とほぼ同じであるため、反復配列を詳しく見た（補足情報 4.2.2, 4.2.3）。反復配列はゲノムの 65.6%、18.6 Gb を占め、特に長末端反復（LTR）レトロエレメントや内因性レトロウイルスが多い。10 kb 以上の長い要素もあり、組み立てが難しい原因である。実際、97% のコンティグは LTR で終わっていた LTR の置換数を調べると、長い間トランスポゾンが活発で、その後最近また活動が増えていることがわかる（図 2d）。

イントロンの中央値は 22,759 bp で、ヒト（1,750 bp）、マウス（1,469 bp）、カエル（906 bp）の 13~25 倍に拡大している（図 3a）。ただし、発生遺伝子のイントロンサイズには比較的制約があり、迅速な転写が可能になることが考えられる。



## Pax ファミリーの縮小

Pax ファミリー転写因子の解析では、Pax7 はあったが Pax3 は見つからなかった（図 3d）。そこで、Pax3 の機能を Pax7 が担っているのかを調べた。TALEN や CRISPR で AmPax7 を変異させたところ、マウスの Pax3<sup>-/-</sup>や Pax7<sup>-/-</sup>の変異体に似た表現型が出た（図 4）。変異体では四肢筋肉がなくなり、体幹筋も減少、神経管閉鎖や色素細胞の欠損も確認された。

---

## 再生に関わる種特異的遺伝子

ゲノムデータを使って、以前の mRNA や miRNA データを再解析したところ、非鳥類脊椎動物だけに存在する遺伝子が 5 つ見つかった。これには基底膜成分や Ly6 ファミリーが含まれ、四肢再生で重要な役割を果たしている可能性がある。さらに小 RNA も解析し、42 個の新しい miRNA が特定された。

---

## まとめ

今回のアホロートルゲノムアセンブリで、巨大ゲノムの構造、LTR 拡張の影響、Pax3 欠失と Pax7 の機能代替がわかった。長鎖配列と光学マップ、MARVEL アセンブラを組み合わせることで、非常に大きく反復が多いゲノムの解析も可能であることを示した。

---

## 方法 (Methods)

d/d アホロートルの肝臓と脾臓から DNA を抽出し、10~20 kb のサイズで SMRTbell ライブラリを 50 個作成、PacBio RSII でシーケンスした。光学マッピングは Bionano Saphyr で行い、RNA は 22 種類の組織から抽出して Illumina でシーケンスした。アセンブリは MARVEL を使った。

---

## データ利用

アホロートルゲノムブラウザ : <https://genome.axolotl-omics.org>

ゲノム・トランスクリプトーム BLAST データベース : <https://www.axolotl-omics.org>

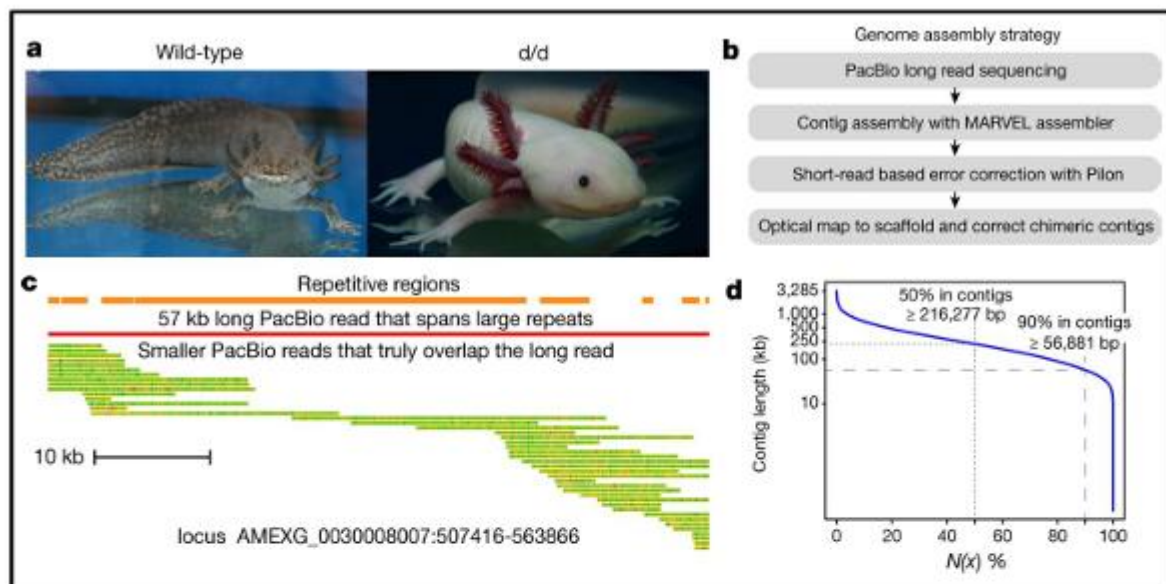
NCBI BioProject: PRJNA378970 (ゲノム)、PRJNA378982 (トランスクリプトーム)

NCBI Nucleotide: PGSH000000000 (ゲノム)、GFZP000000000 (トランスクリプトーム)



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





**Figure 1: Contiguity and completeness of the *axolotl* genome assembly.**

(出典: Nowoshilow et al., *Nature*, 2018.より)

- a. 野生型アホロートル (*A. mexicanum*) と、シーケンスされた d/d 株の *A. mexicanum*。
- b. アセンブリ戦略は、ロングリードシーケンス、独自のアセンブラ (MARVEL)、エラー補正、およびスキファールディングを組み合わせている。
- c. 57,385 bp の PacBio リード (赤線) は、大規模な反復領域 (オレンジで示す; 最長のリピートは約 34 kb) をまたいでおり、下に示した他のロングリードと組み合わせることで、この遺伝子座のアセンブリが可能となる (緑から赤の色付けはアラインメントの品質を示す; 他の遺伝子座に由来するリピートによるアラインメントは除外されている)。
- d. N(x)プロットは、ゲノムのうち x kb 以上のコンティグが占める割合 (x 軸) を示し、y 軸はその割合を表す。

## 用語解説 (Figure.1)

### a

- Wild-type → 野生型
- d/d → d/d (変異株)

### b (Genome assembly strategy)

- PacBio long read sequencing → PacBio 長鎖配列シーケンス
- Contig assembly with MARVEL assembler → MARVEL アセンブラによるコンティグ組み立て (=配列をつなぎ合わせてゲノムを完成させる作業)
- Short-read based error correction with Pilon → Pilon による短鎖配列を使った誤差修正
- Optical map to scaffold and correct chimeric contigs → 光学マップを用いたスキャフォールド化とコンティグキメラ修正

### c (Repetitive regions)

- 57 kb long PacBio read that spans large repeats → 57 kb の長鎖 PacBio 配列 (大きな反復領域をまたぐ)
- Smaller PacBio reads that truly overlap the long read → より短い PacBio 配列 (長鎖配列に正確に重なる)
- Repetitive regions → 反復領域
- 10 kb → 10 kb
- locus AMEXG\_0030008007:507416-563866 → 遺伝子座 AMEXG\_0030008007:507416-563866

### d

- Contig length (kb) → コンティグ長 (kb)
- 50% in contigs  $\geq 216,277$  bp → コンティグの 50% が  $\geq 216,277$  bp
- 90% in contigs  $\geq 56,881$  bp → コンティグの 90% が  $\geq 56,881$  bp
- N(x) % → N(x) %

表 1: アホロートル、ホワイトトウヒ、ロブローリーパインのゲノムアセンブリ比較

(出典: Nowoshilow et al., *Nature*, 2018. より)

項目	アホロートル (Axolotl, <i>Ambystoma mexicanum</i> )	ホワイトトウヒ (White spruce, <i>Picea glauca</i> )	ロブローリーパイン (Loblolly pine, <i>Pinus taeda</i> )
アセンブリサイズ (Gb)	32.4 (うち 28.4 Gb がコンティグ)	24.6	20.6
ゲノムサイズ (Gb)	32	20	22
染色体数	14	12	12
シーケンス技術	PacBio ; 光学マップ	Illumina ; cDNA	Illumina ; PacBio ; Fosmid DiTag
カバレッジ	32×	65×	68× Illumina ; 12× PacBio
アセンブラ	MARVEL	ABYSS	MaSuRCA
コンティグ N50 (bp)	216,277	6,644	25,361
コンティグ数	217,461	5,252,090	2,445,689
スキファールド N50 (bp)	3,052,786	54,661	107,036
スキファールド数	125,724	3,033,322	1,496,869

脚注：各生物の特徴

- アホロートル (Axolotl, *Ambystoma mexicanum*)**  
 メキシコ原産の両生類で、四肢や心臓、脊髄などを再生できる能力を持つ。発生・再生・進化の研究における代表的モデル動物。
- ホワイトトウヒ (White spruce, *Picea glauca*)**  
 北米 (カナダ・アラスカ) に広く分布する針葉樹。寒帯林を構成する主要樹種で、材木や紙パルプの原料として重要。日本語では「ホワイトトウヒ」と呼ばれる。
- ロブローリーパイン (Loblolly pine, *Pinus taeda*)**  
 アメリカ南東部に分布する大型の松。成長が早く、北米で最も重要な商業用植林樹のひとつ。建材や紙パルプの生産に広く利用される。



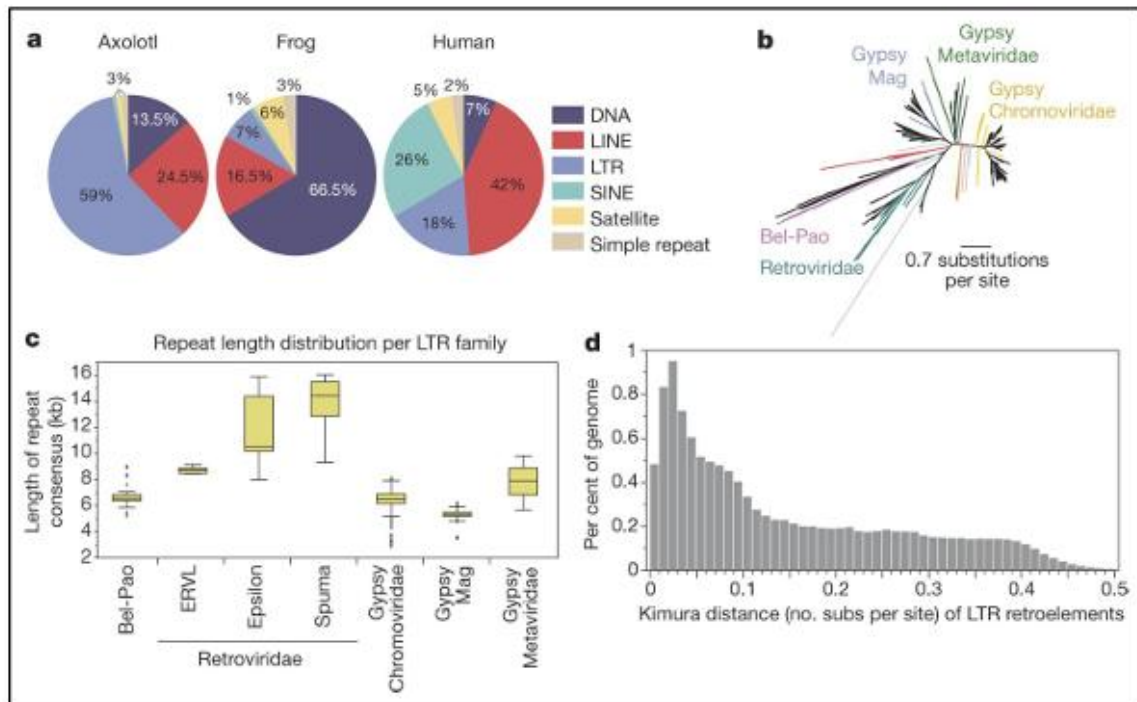


図 2 : アホロートルのゲノムには LTR レトロエレメントの拡張が見られる

Figure 2: The *axolotl* genome contains an expansion of LTR retroelements.

(出典: Nowoshilow et al., *Nature*, 2018. より)

- 主なリピートの種類 (LINE : 長鎖散在性核内エレメント、SINE : 短鎖散在性核内エレメント) を示す円グラフ。LTR エLEMENT が特に豊富であることがわかる。
- アホロートルの LTR エLEMENT のグループ (黒) と、GyDB2.0 の全 LTR エLEMENT を比較した系統樹。注釈付きのグループは色で、注釈なしのグループは灰色で示す。Errantiviridae (青)、Caulimoviridae (赤)、Athila/Tat (オレンジ) のファミリーは確認されなかった。
- LTR ファミリー (ERVL : 内因性レトロウイルス様) の長さ分布をボックスプロットで示す。ボックスは第 1 四分位、中央値、第 3 四分位を表し、ひげは四分位範囲の 1.5 倍まで伸びる。ひげの外にあるデータ点は外れ値として点で表示している。定量データおよびサンプル数は Source Data に記載。
- LTR エLEMENT の相対的年齢 (Kimura 距離) から、長期間にわたる転位活動に続き、最近になって活性が急増したことが示唆される。

## 用語解説 (Figure.2)

### a. アホロートル、カエル、ヒトにおける反復配列の割合（円グラフ）

- DNA トランスポゾン（DNA）
- 長鎖散在反復配列（LINE）
- 長末端反復配列（LTR）
- 短鎖散在反復配列（SINE）
- サテライト配列（Satellite）
- 単純反復配列（Simple repeat）

### b. LTR レトロトランスポゾンの系統樹

- Gypsy、Mag、Chromoviridae、Metaviridae、Bel-Pao、Retroviridae などの分類群を表示。
- スケールバー：塩基置換数（0.7 置換／部位）。

### c. LTR ファミリーごとの反復配列コンセンサス長の分布（kb 単位）

- Retroviridae: Bel-Pao、ERV1、Epsilon、Spuma
- Gypsy 系統: Chromoviridae、Mag、Metaviridae

### d. LTR レトロエレメントの Kimura 距離（部位あたりの置換数）とゲノムに占める割合

- x 軸：Kimura 距離（置換数／部位）
- y 軸：ゲノムに占める割合（％）

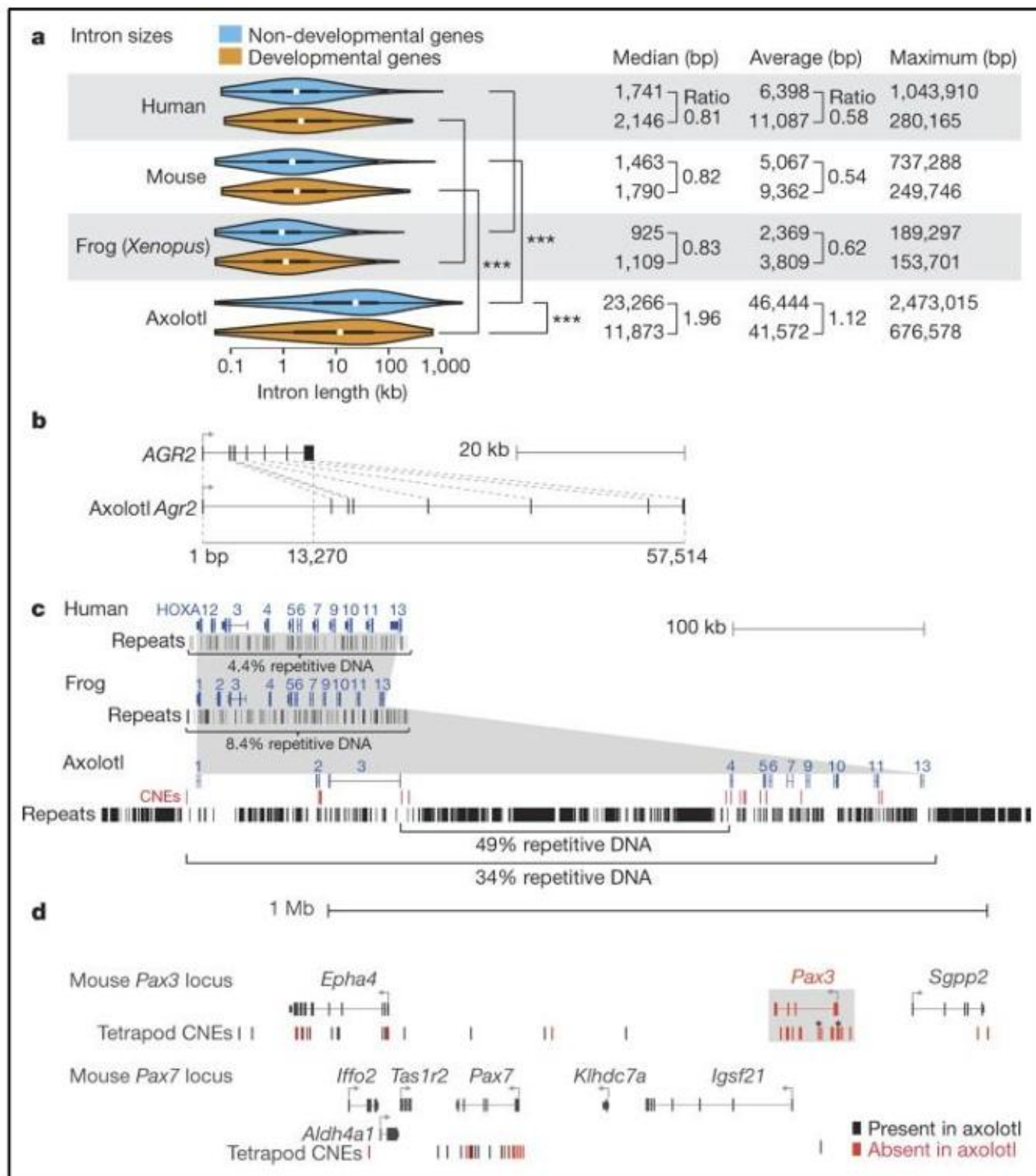


図 3 : ゲノムの構造と Pax3 の喪失

Figure 3: Genome organization and loss of Pax3.

(出典: Nowoshilow et al., *Nature*, 2018. より)

- a. アホロートル (*A. mexicanum*) の発生関連遺伝子におけるイントロン長は制約を受けているように見える。パイオリンプロットはイントロン長の全分布を示す（太いバー：第1四分位から第3四分位、白い点：中央値）。\*\*\* $P < 10^{-11}$ ; 両側 Wilcoxon 順位和検定。定量データは Source Data に示す。
- b. *Agr2* 遺伝子のエクソン-イントロン構造の配列を見ると、ヒトのオルソログと比較してアホロートルのイントロンが一貫して拡張しており、その結果、遺伝子全体のサイズは4.3倍大きくなっている。
- c. *HoxA* クラスター内の遺伝子および反復配列の比較。アホロートルの *HoxA* クラスターにアラインする CNE（保存非コード領域）は赤で示す。
- d. アホロートルは *Pax3* 遺伝子座を欠失している。*Pax7* および *Pax3* のゲノム領域に関連する四肢動物保存遺伝子および CNE の解析。赤：アホロートルに欠失している遺伝子配列および CNE。\*CNE は、マウス *Pax3* エンハンサー-38,39 とよく重なるもの。



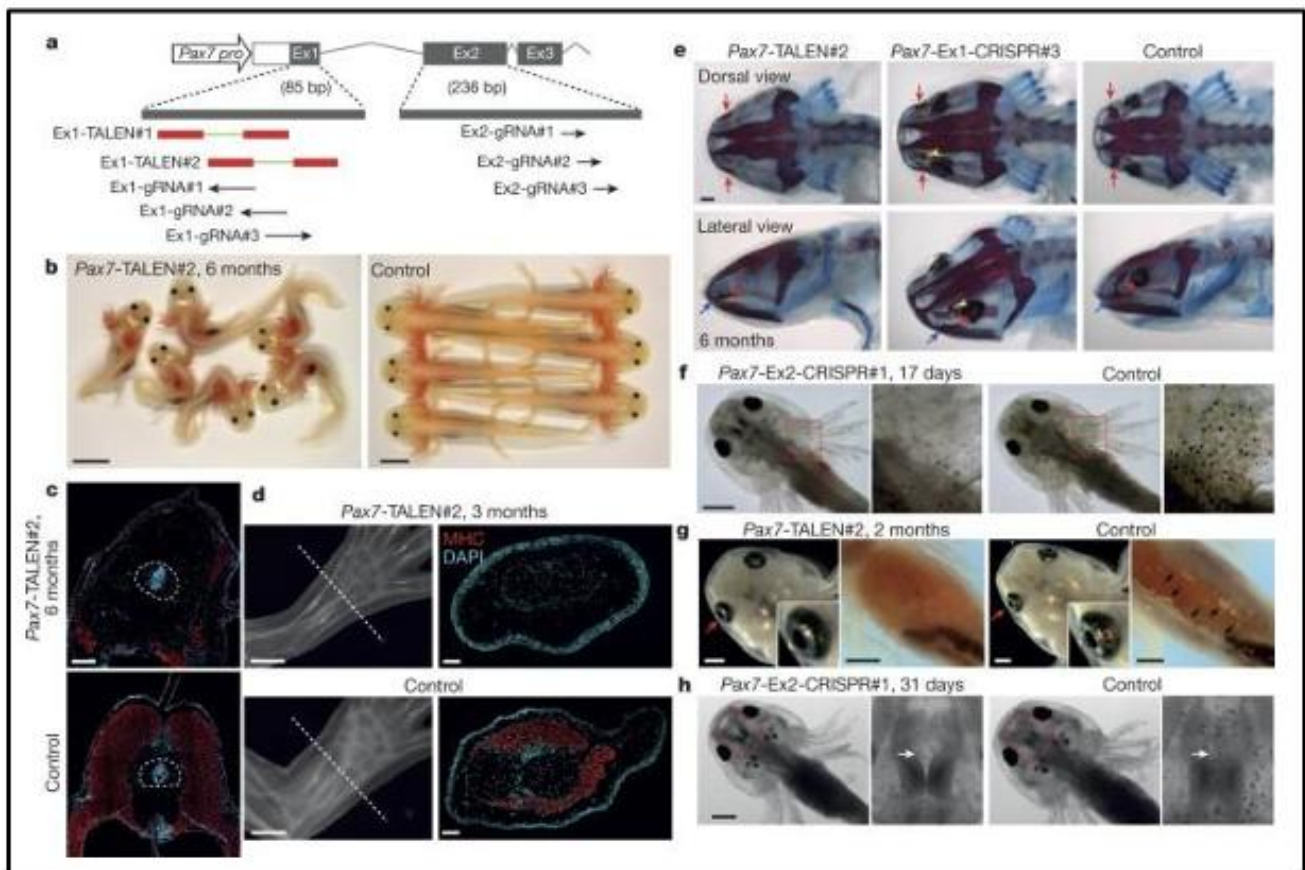


図 4 : アホロートル (*A. mexicanum*) の Pax7 変異は、Pax3<sup>-/-</sup> Pax7<sup>-/-</sup>マウスと類似した表現型を示す。

Figure 4: Pax7 mutation in *A. mexicanum* yields a phenotype similar to that of Pax3<sup>-/-</sup> Pax7<sup>-/-</sup> mice.

(出典: Nowoshilow et al., *Nature*, 2018. より)

- a. TALEN および CRISPR を用いた AmPax7 コーディング配列の欠失。欠失はエクソン 1 またはエクソン 2 で作製された。AmPax7 の最初の 3 つのエクソン (Ex) を示す。赤い長方形は TALEN のターゲット、矢印は CRISPR ガイド RNA (gRNA) 結合部位を示す。
- b. Pax7 $\Delta$ 20nt/ $\Delta$ 20nt 変異体 (6 か月齢) の画像。対照と比較して体の伸長が失われていることがわかる。スケールバー : 1 cm。
- c. Pax7 変異体で体壁筋が減少。6 か月齢の Pax7 $\Delta$ 20nt/ $\Delta$ 20nt 変異体 (Pax7-TALEN#2) および対照個体の胴体横断面におけるミオシン重鎖 (MHC、赤) および DAPI (青) の免疫蛍光像。スケールバー : 500  $\mu$ m。
- d. Pax7 変異体の四肢には筋肉が欠如。前肢 (左、スケールバー : 500  $\mu$ m) および四肢横断面での MHC (赤) と DAPI (青) の免疫蛍光像 (右、スケールバー : 100  $\mu$ m)。対象は 3 か月齢の Pax7 $\Delta$ 20nt/ $\Delta$ 20nt 変異体および対照。
- e. Pax7 変異体で前頭骨が欠失。Alcian blue および Alizarin red で染色した Pax7 $\Delta$ 20nt/ $\Delta$ 20nt、Pax7-Ex1-CRISPR#3 変異体および対照の背側・側面像 (右)。赤矢印は前頭骨、青矢印は上顎骨を示す。黄色の矢じりは前頭骨の小さな残存部分を指す。スケールバー : 1 mm。
- f, g. Pax7 変異体でメラノフォア、キサントフォア (f)、およびイリドフォア (g) が減少。17 日齢の Pax7-Ex2-CRISPR#1 (f)、2 か月齢の Pax7 $\Delta$ 20nt/ $\Delta$ 20nt (g) 変異体および対照 (Ctr) の画像。f の右パネルは丸んだ領域の拡大図、g の赤矢印は拡大した目の位置、黒矢印は対照の腹部イリドフォアを示す。スケールバー : 1 mm。
- h. Pax7 変異体で神経管閉鎖異常。31 日齢の Pax7-Ex2-CRISPR#1 変異体および対照 (Ctr) の画像。右は丸んだ領域の拡大図。スケールバー : 1 mm。定量データおよびサンプル数は、Life Sciences Reporting Summary および Source Data に記載。

## Nowoshilow et al., Nature, 2018 の主な要点

### 1. 巨大で複雑なゲノムの解読

- アホロートルのゲノムは人間の約 10 倍の大きさである 32 Gb を持ち、長鎖リードシーケンシング、光学マッピング、独自開発したゲノムアセンブラー「MARVEL」を組み合わせて解読されました。

### 2. 発生・再生に重要な遺伝子群の進化

- アホロートルは、四肢の再生や神経管の再生など、他の脊椎動物では見られない高度な再生能力を持っています。
- この能力の背景には、発生や組織形成に関わる遺伝子群の進化的変化が関与していると考えられます。

### 3. Pax3 遺伝子の欠失

- 特に注目すべきは、アホロートルのゲノムにおいて、他の脊椎動物で発生や組織形成に重要な役割を果たす Pax3 遺伝子が欠失していることです。
- この欠失が、アホロートルの再生能力や発生過程にどのような影響を与えているのか、今後の研究で明らかにされることが期待されます。

# 【研究の種】アホロートルの内在性ウイルス配列の検出と役割の調査

著:杉山 遥<sup>1</sup>; F.N.三太子<sup>1</sup>; 横江 誼衡<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO 研究グループ\_ハルラボ (ウーパールーパー研究室), <sup>2</sup> 東京大学, <sup>3</sup> 秀明大学, <sup>4</sup> サイマン・テクノロジー

## 導入 Introduction

アホロートル (*Ambystoma mexicanum*) の進化的軌跡を理解する上では、**内在性ウイルス配列 (endogenous viral elements, EVE)** への理解と、**ゲノム上に占めるその量や分布の把握**が不可欠である。アホロートルのゲノムには、Gypsy 系や LINE 系などの内在性ウイルス由来の配列が非常に多く点在しており、単なる「ゲノム断片」ではなく、進化的に重要な役割を果たしてきた可能性が高い。しかし現時点では、これらの内在性ウイルスがアホロートルの発生、再生能力、免疫応答、さらにはゲノム構造や進化速度にどのような影響を与えてきたかについて、十分に解明されていない。したがって、ゲノム中に存在する内在性ウイルス配列の正確な把握とその機能的解析は、**アホロートルの進化史や脆弱性の理解に直結する重要な課題**である。

## アホロートルのレトロトランスポゾン分布 (概略)

タイプ	代表ファミリー	ゲノム中のコピー数 (概算)	配列長	主な特徴・機能	参考配列 (GenBank)
LTR 型	Gypsy	15,000~	6-9 kb	ウイルス様構造をもち、gag/pol/env 遺伝子を含む。LTR 内にプロモーター・エンハンサー機能あり。遺伝子発現調節やゲノム構造に影響。	KY594036
		20,000			
LTR 型	Copia	3,000~5,000	5-7 kb	Gypsy に比べ少数。LTR 内に逆転写酵素遺伝子を含む。発生・再生遺伝子近傍に挿入されることがある。	KY594038
非 LTR 型	LINE-1 (L1)	10,000~	6-7 kb	ORF1 (RNA 結合タンパク)、ORF2 (逆転写酵素・エンドヌクレアーゼ) をコード。自律的にコピー増殖。ゲノムサイズ拡大の主要因。	KY594037
		15,000			
非 LTR 型	LINE-2 (L2)	数千コピー	6 kb 前後	自律性は低く、L1 に依存して増殖する場合がある。	KY594039
SINE 型	AmSINE	10,000 前後	100-400 bp	非自律型短鎖反復配列。L1 などの逆転写酵素に依存してコピー増殖。ゲノム中で散在。	KY5940

## 表の補足

- コピー数は概算で、アホロートルゲノム解析 (Nowoshilow et al., 2018; Smith et al., 2019) に基づく。
- 配列長は代表的な完全長コピーの値。実際のゲノムには欠損や変異をもつ断片コピーも多数存在。
- LTR 型・非 LTR 型の両方がゲノム膨張の主要因であり、進化的痕跡 (古い挿入) から新しい活性コピーまで多様。



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



## これらの内在性のウイルス配列はゲノム DNA から検出すべき？ mRNA から検出すべき？

### 1. ゲノム PCR vs cDNA 解析

配列	検出対象 適した解析法	コメント
Gypsy / Copia / LINE-1 / LINE-2 / AmSINE	DNA (ゲノム中) ゲノム PCR	これらはゲノムに多数コピー存在。ゲノム PCR で存在の有無やコピー数の相対比較は可能。ただし、転写活性はわからない。
これらの RNA	cDNA (RT-PCR, 転写産物 qRT-PCR, RNA-seq)	活性なトランスポゾンが発現量を評価する場合は cDNA。イントロンや非翻訳領域の配列も含まれる場合があるので、RNA 由来なら転写されているものだけが検出される。

#### 結論:

- ゲノム中の分布やコピー数 → **ゲノム PCR** や **qPCR**
- **転写活性** → **cDNA から RT-qPCR**

### 2. 配列の位置と定量の意義

- これらは **非翻訳領域**やイントロン中にも多数存在します。
- もし「トランスポゾンの総コピー数やゲノム構造」を知りたいなら → **ゲノム定量**
- もし「活発に転写されているもの」を知りたいなら → **cDNA 定量**

### 3. 実務的な注意点

#### 1. ゲノム PCR で定量する場合

- 多数コピーがあるため、プライマー設計に注意(特定クラスだけに絞る vs 全コピーをざっくり測る)。
- 絶対コピー数を求めたい場合は、標準品(プラスミドなど)を用いた qPCR が有効。

#### 2. cDNA 解析の場合

- イントロンや SINE 由来の短い RNA が転写される可能性あり。
- RNA-seq なら全体の発現プロファイルを評価可能。

#### まとめ

- ゲノム中の存在やコピー数 → **ゲノム PCR/ゲノム qPCR**
- 転写・発現量 → **cDNA → RT-qPCR** や **RNA-seq**
- 非翻訳領域やイントロンにも多数存在するので、目的に応じてどちらを定量するかを決める。



### 概要 Abstract

ハルラボでは、メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*, 以下、アホロートル) において、過去には腸内細菌叢 (特に腸内乳酸菌) の重要性について明らかにしてきた (文献 [2, 4, 5, 6, 8, 9]. 参照)。しかし、腸内細菌叢の変化のみで全ての説明ができるわけではなく、成長制御に関しては現状多くの事が未解明である。そこで我々は今回、腸内細菌と同様に、アホロートルのゲノム DNA (遺伝子配列) 上に無数に存在する、かつて感染して DNA に組み込まれた可能性があるウイルス由来の配列 (内在性レトロトランスポゾン; 内在性ウイルス配列, 文献[1]. 参照) に注目し、この内在性ウイルス配列が成長制御に与える影響について調査研究を実施した。

検証の結果、成長不全 (Poor Growth, PG) を示す個体のうち、栄養素の補填によって生育を十分に回復できなかった個体 (文献[7]. 参照) のうち、その中で FGF, FGF 受容体 のような栄養シグナルでも回復しない個体 (文献[3]. 参照) における複数の内在性ウイルス配列 (内在性ウイルス叢) 発現の攪乱が確認された。更に、肥大成長 (Over Growth, OG) を示す個体の中でも、同様の内在性ウイルス配列が正常型と異なるパターンを示す物が確認された。更に、この内在性ウイルス配列と腸内細菌叢 (特に乳酸菌) は相互作用をしている可能性があり、腸内細菌の補填により、内在性ウイルス配列の状態に回復が一部見られ、腸内細菌叢の補填による成長不全の回復機構において、この内在性ウイルス配列の存在が重要である場合があることが示唆された。

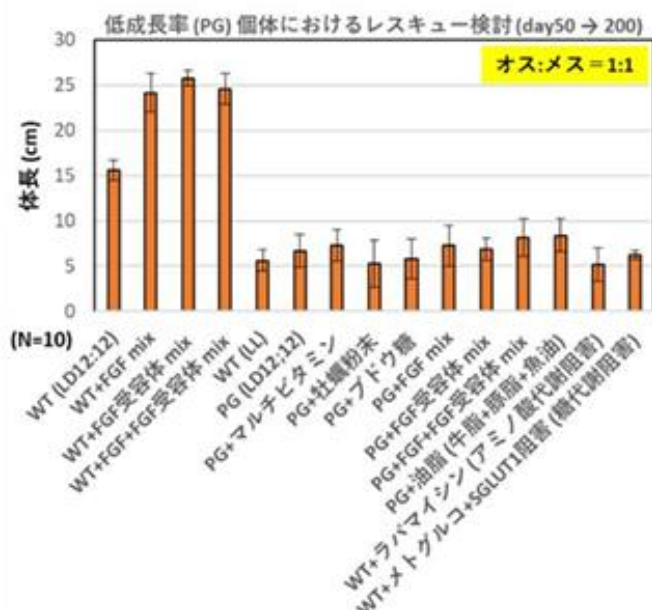
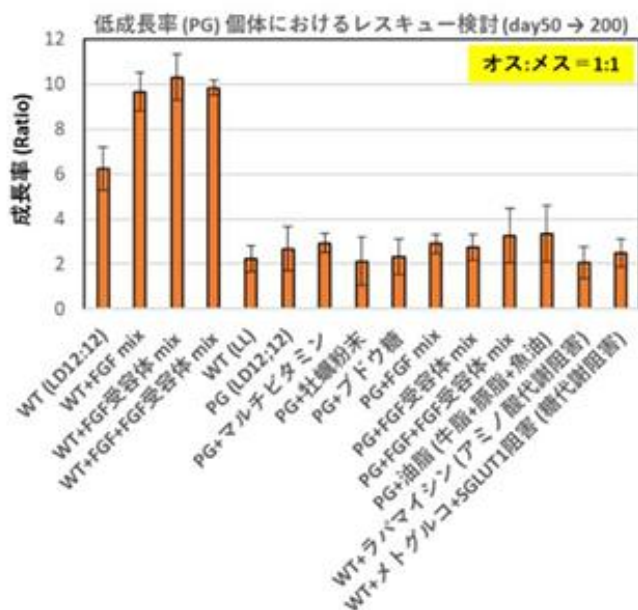
本報告では、内在性ウイルス配列-腸内乳酸菌-栄養シグナルによる成長制御の連関の可能性を提言し、その機構について調査・調査依頼によって得られた知見について示したく思う。



FGF, FGFR や ANK1, ANKHD1 (小胞取込み) の関与で回復傾向あり (杉山 ほか, 2025)。



FGF, FGFR, 脂質の制御でも有意に回復できない個体における要因を解明したい。



背景: 成長不全 (PG) 個体が生じる原因のうち、FGF シグナルで回復できない要因を解明したい。

## 材料と手法 Materials & Methods

本研究には、メキシコサンショウウオ(ウーパールーパー)の各系統を用いた。

尚、本項に記載されていない内容は、基本的に本文中に記載されている条件を参照のこと。

本文献に掲載したデータに用いるために実施した実験・調査の手法は、過去の報告内容に準じて条件設定を行った。ただし、系統比較や近縁種との比較の中で条件設定などを調整・変更した場合は、適宜本文・図表の解説文中で適宜補足する。

また、当ラボにて用いる系統は、野生型のメキシコサラマンダー (*Ambystoma meicanum*) または 野生型×トウブタイガーサラマンダー (*Ambystoma tigrinum*) の交雑系統であるが、標的の遺伝子発現動態や生体の行動等に大きな差異が見られない条件下においては、いずれも同じメキシコサラマンダーの系統として取り扱う。

尚、当ラボの先行研究において、基本的には大きな差異は見られないことを明らかにしている。(杉山 ほか, 2024. 参照)

### 【明暗条件】

適切な成長制御・体内の概日リズムを保持するため、日長条件を特殊な状態にする場合を除き、実験室における飼育管理やファームにおける系統管理において、LD12:12 [明期: ZT0 (午前 6 時)~ / 暗期: ZT12 (18 時)~] の 日周リズムで飼育を実施した。生育過程において、睡眠時におけるセロトニン→メラトニンへの合成・分泌が十分に行われることを目的とし、上記の明暗周期での管理を徹底した。

### 【飼育水の条件】

飼育時の水温は、通常は 18~22℃ という処理を施した。

今回は、成長促進効果による試験結果への影響を加味し、全ての飼育・調査において淡水飼育条件で統一した。

水質: 淡水環境; pH6.7 (平均値), KH4.8~5.4

### 【飼育密度の設定】

飼育水槽: GEX\_マリーナ 60cm 水槽 (60×30×36cm MR600BKST-N 269467)

- ・ 集団 (低密度) 飼育...水槽中に 5 個体を投入し、常に他個体と接する環境とした (本報告では全てこの密度条件)。

### 【成長過程の記録・撮影】

成長実験には 30-50mm の幼体を用い写真を撮影後、その後定量比較に用いるタイミング (撮影開始から 30, 60, 90, 120, 150 日後) における成長後個体の撮影像と共に、画像解析ソフト Image J (Color FootPrint) にて測定を行った。飼育時の水槽は、本実験にて用いる個体では全てタイミングを統一し、成長過程に合わせて飼育水槽を大きくしていく方式を取った。

### 【飼育環境 および 観察・撮影条件】

成長実験には 30-50mm の幼体を用い写真を撮影後、その後定量比較に用いるタイミングにおける成長後個体の撮影像と共に、画像解析ソフト Image J (Color FootPrint) にて測定を行った。飼育時の水槽は、本実験にて用いる個体では全てタイミングを統一し、成長過程に合わせて飼育水槽を大きくしていく方式を取った。高硬度汽水 (ミネ水) 作製時は、瀬戸内海産の荒塩を用いて調整を行った。(100g 当たり NaCl 94.0g, MgCl<sub>2</sub> 150mg)。給餌は週 2-3 回、ZT および CT15-17 (午後 9-11 時) に必ず行った他、栄養試験の際には、餌中に混合した粉末成分を経口投与にて摂取させた。実験群への給餌の頻度は一定に合わせた。

統計解析には、Graphpad Prism ver.6 を用いて One Way ANOVA; turkey test, \*p<0.05 にて有意差解析を行った。

### 【遺伝子発現解析に用いた手法・条件】

遺伝子発現解析の手法としては、RT-qPCR を用いた。

試料毎に mRNA を回収し、個々に逆転写した cDNA を用いて、結果の平均値を算出した。

比較方法: Relative standard. 遺伝子発現強度の比較に際し、相対 mRNA 量で比較した。

腸内細菌や水槽内の微生物の検出に際しては、18SrDNA の PCR を実施した。



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





## 成長率比較 (day200)

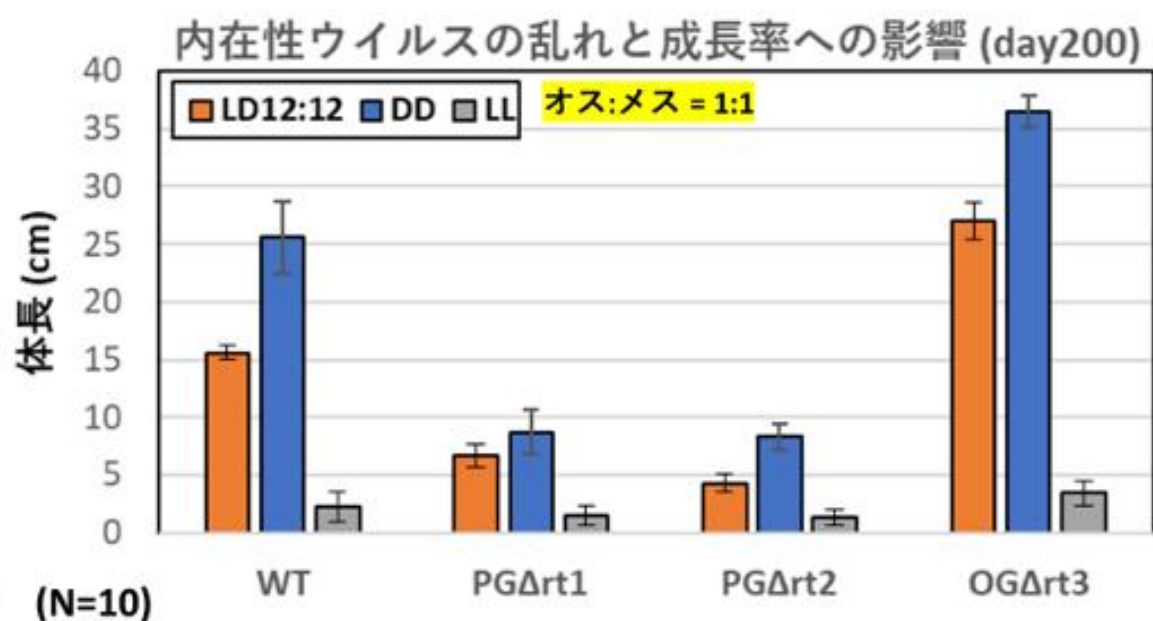
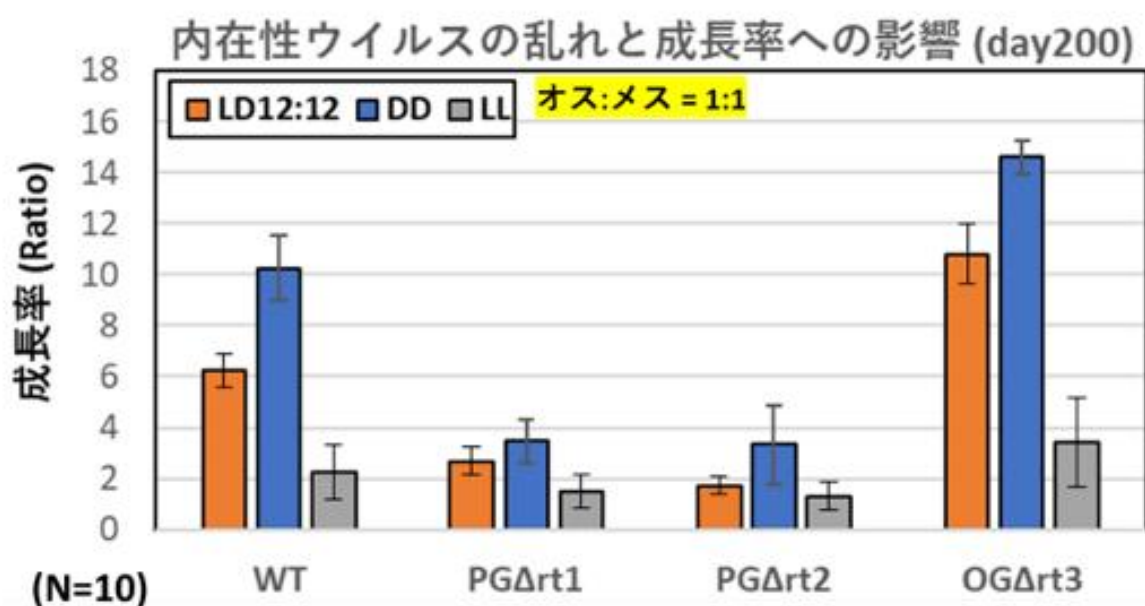
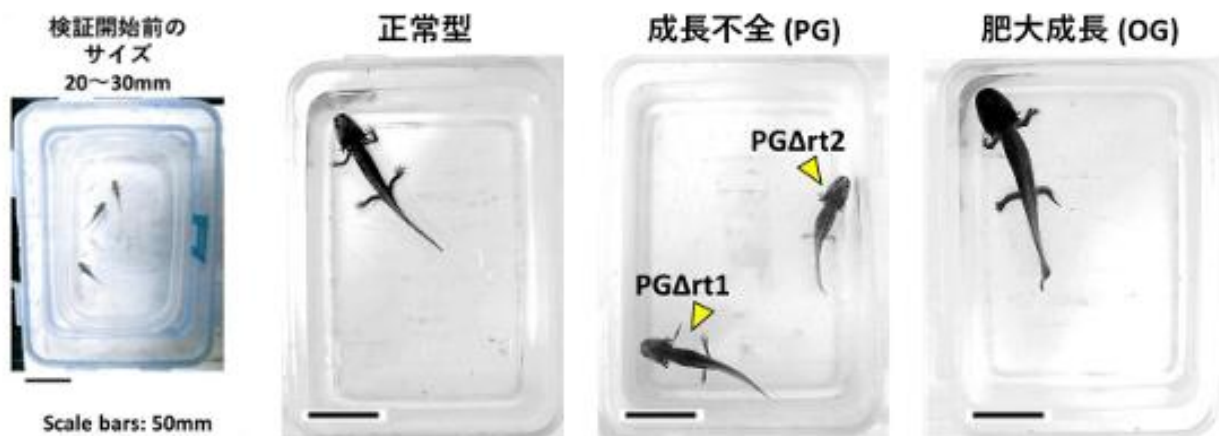


図 1: 正常に異常を示すアホロートルにおける内在性ウイルス配列を解析する



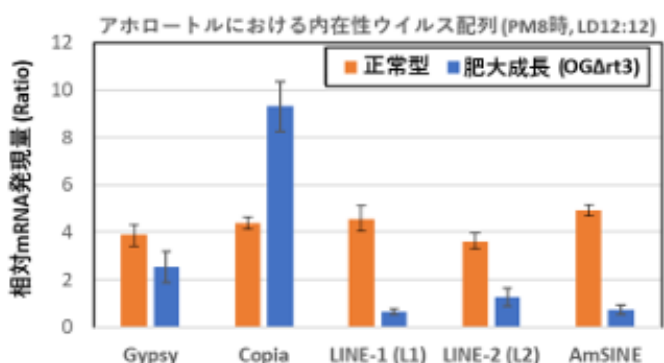
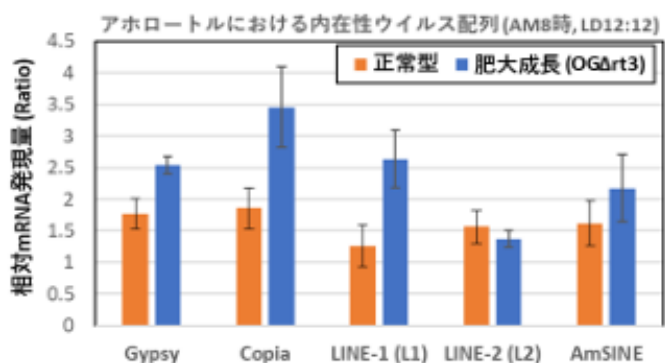
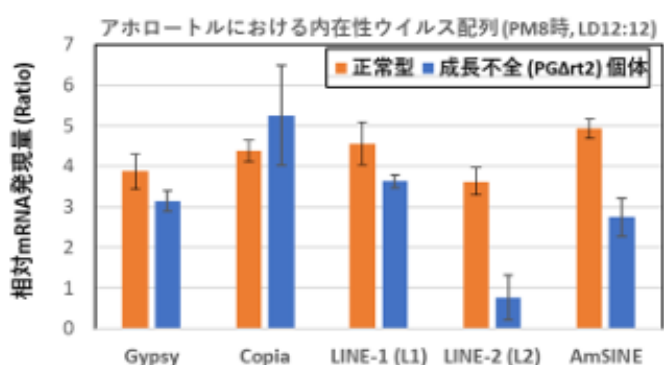
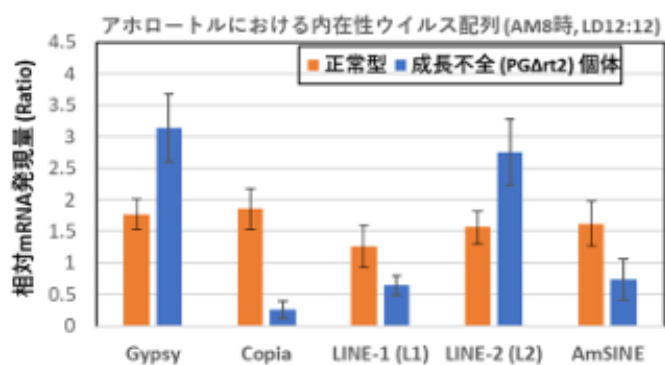
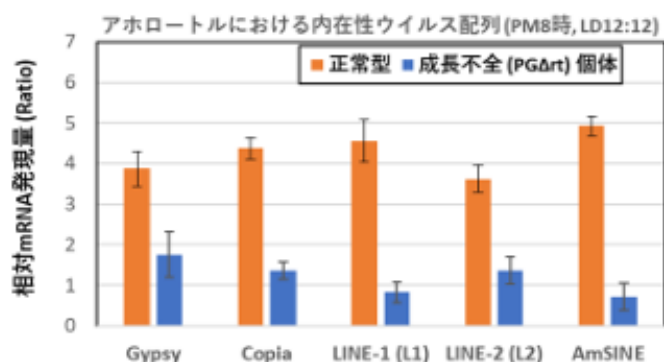
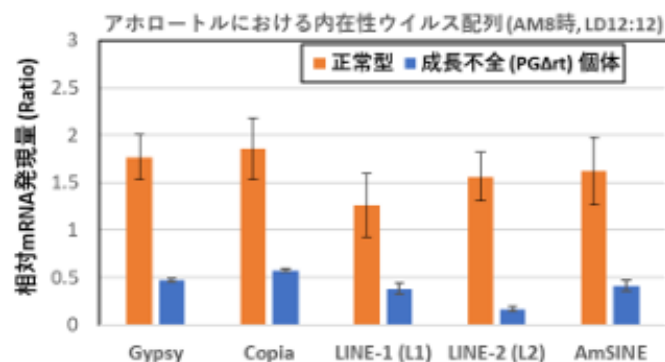


図 2: 成長に異常を示したアホロートル個体における内在性ウイルス配列の転写活性

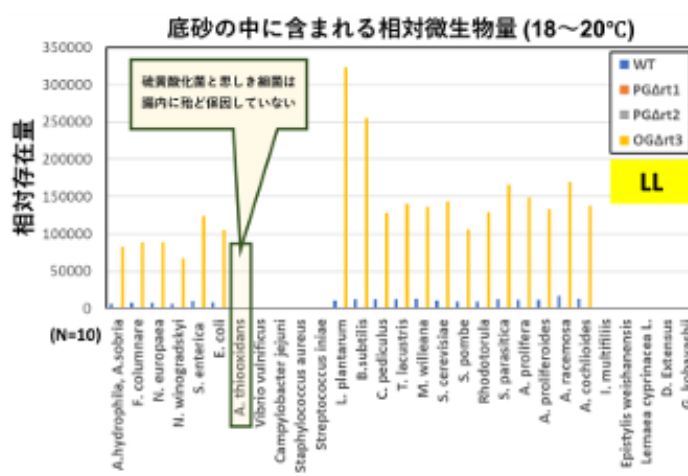
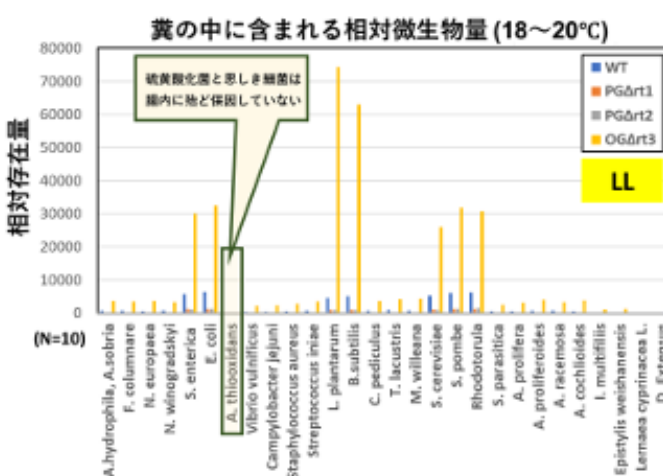
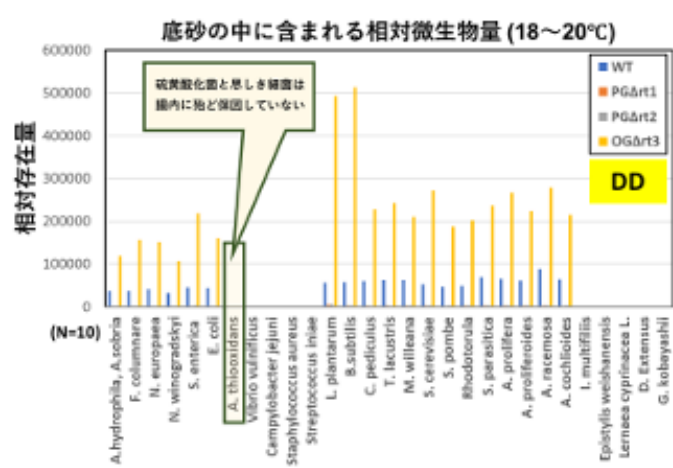
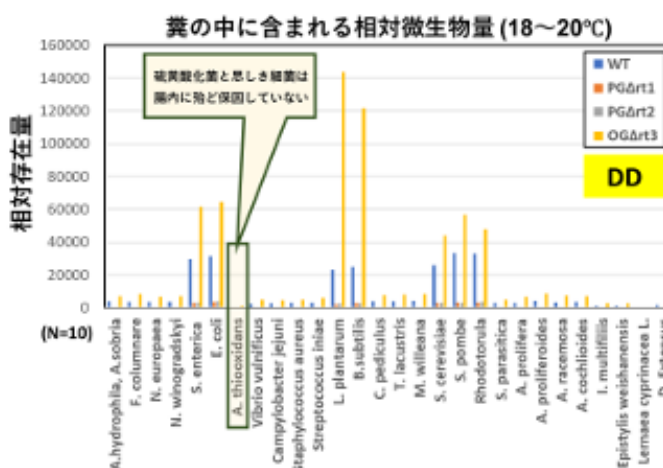
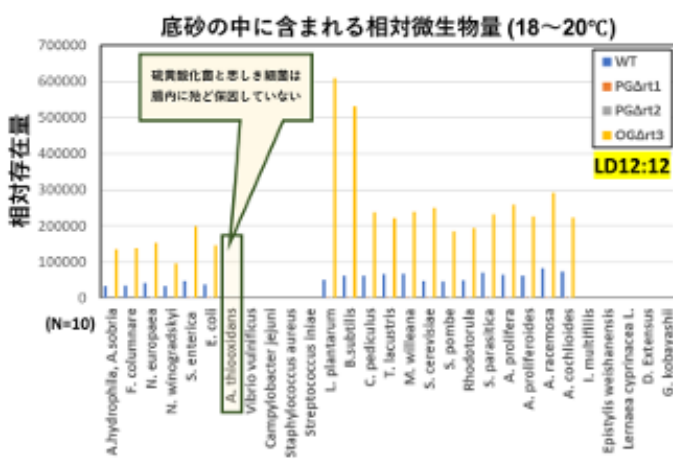
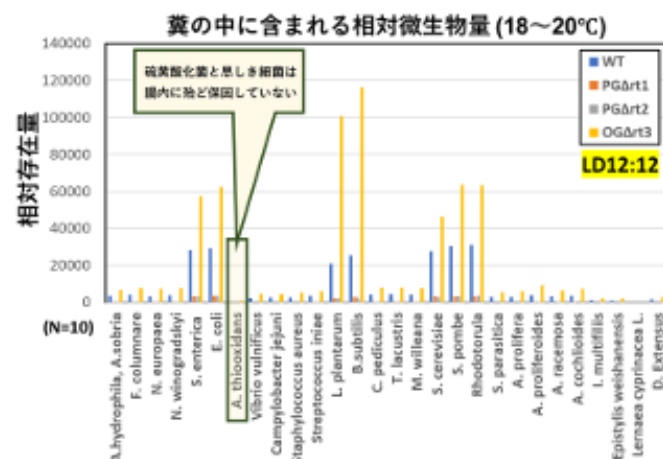


図 3: 内在性ウイルスが崩壊が確認されたアホロートルでは腸内細菌叢も影響を受ける  
(10 の試料を等濃度ずつ混合して分析を実施)

→ 硫酸代謝で成長が促進されている訳ではない。

かつ、肥大成長個体において、腸内乳酸菌が顕著に増大している。

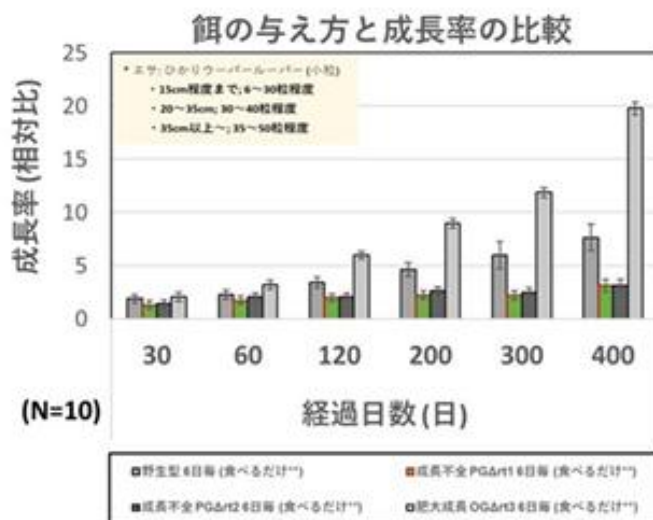
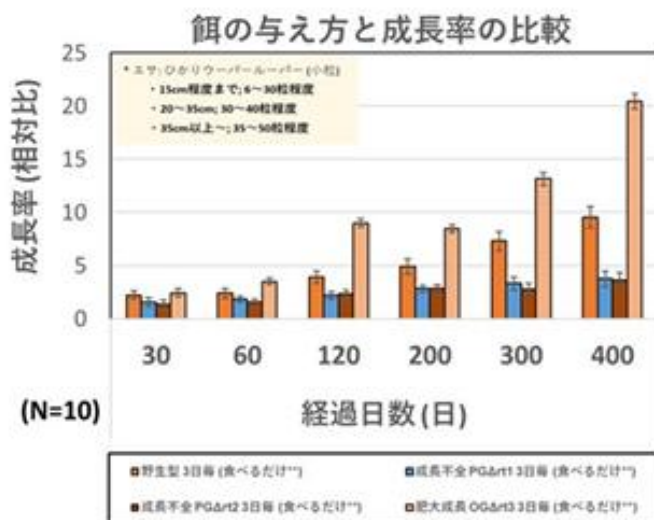
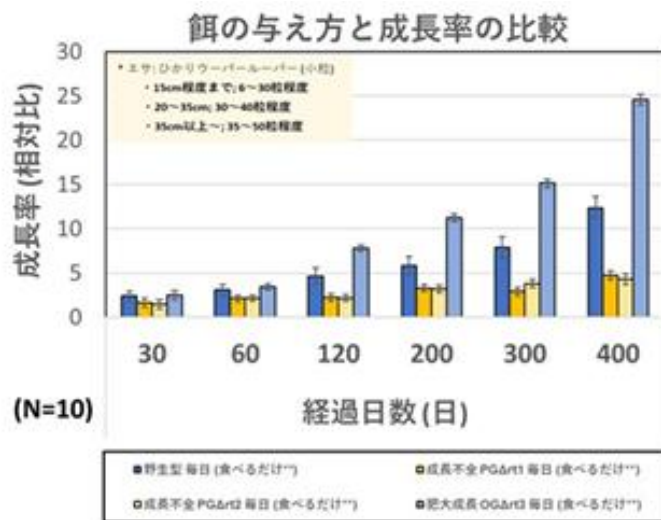
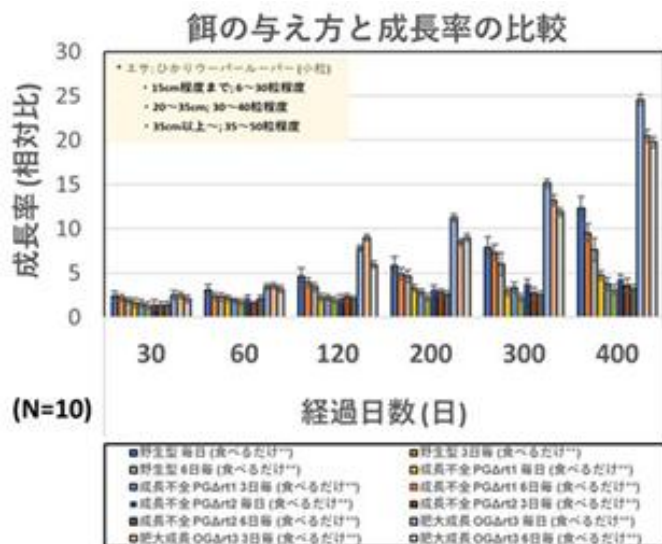


図 4: 内在性ウイルスが崩壊が確認されたアホロートルにおける摂食量

→ 相対的に見て、摂食量には影響しない

## 内在性ウイルスと腸内細菌叢依存的なアホロートルの成長制御

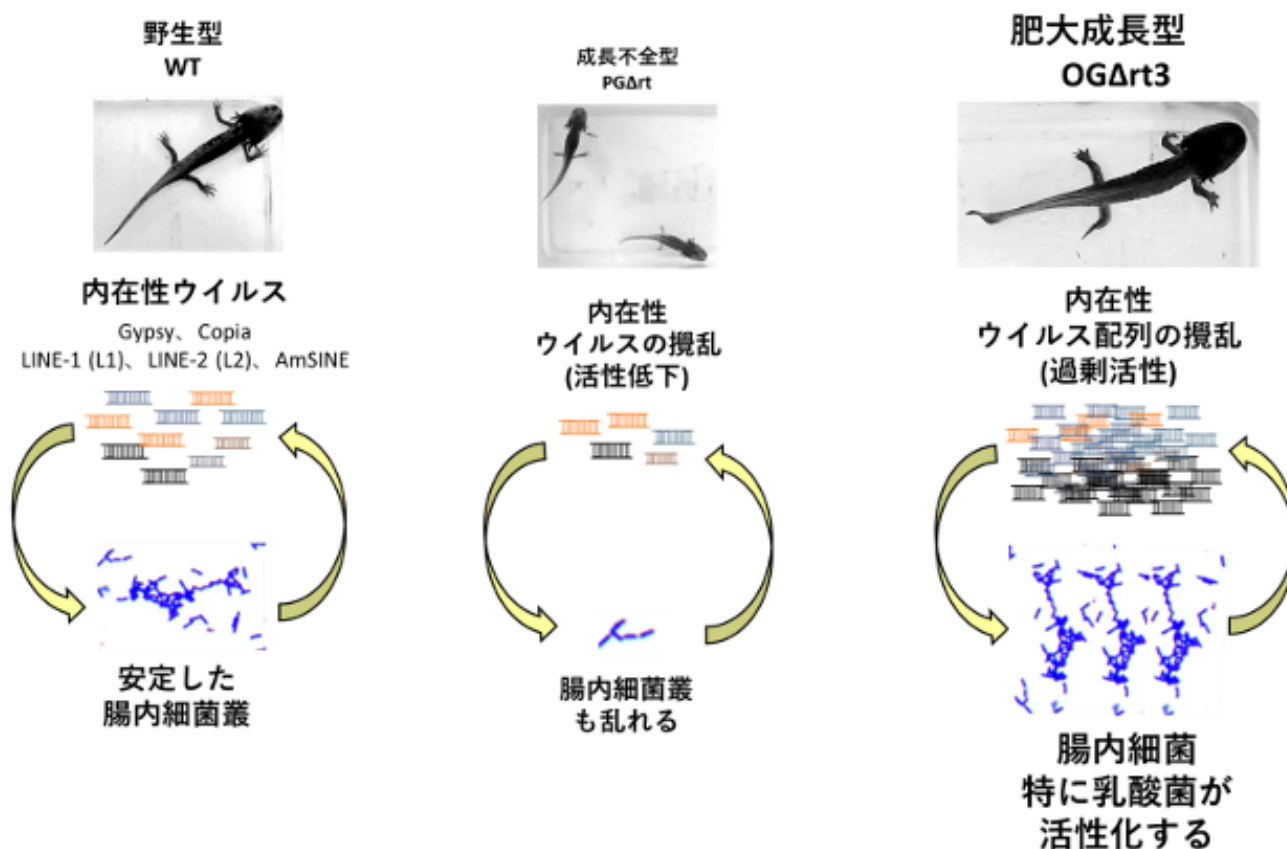


図 5: アホロートルにおける腸内細菌叢-内在性ウイルスによる成長制御機構の予想モデル図



# 底砂・底泥の中には**ヒューミン(腐食酸)**と **分解者(濾過バクテリア・真菌類・藻類など)**が存在する

## フルボ酸は有限資源？

フルボ酸は、自然界では微量にしか生産されない貴重な資源で、通常は腐植土層に多く存在します。

腐植土層とは、森林生態系において地上部の動植物により生産された有機物が堆積し、微生物により分解されて土状になったものです。

自然界では1cm形成するのに100年の時間を要します。尚、厳密には土ではありません。



この腐植土の中で、微量にしか生産されないものが「フルボ酸」です。

### 【フルボ酸とフミン酸の違い】

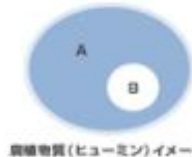
フルボ酸とフミン酸はともに腐植物質(ヒューミン)といわれ、有機物質、特に植物の分解で作られます。どちらもキレート力(つかむ力)がありますが、その能力には違いがあり、フルボ酸はキレート能力でミネラルやアミノ酸を選び、さらに過剰なミネラルを排出する働きがあることに比べ、フミン酸には一過性のキレート能力しかありません。

A: フミン酸

アルカリ水溶液に可溶するアルカリ物質で、色黄が濃く暗褐色物質といわれる。

B: フルボ酸

酸性溶液中に可溶な酸性物質で、土壌では「金にも勝る物質」と言われるほど希少価値が高く、黄金色に輝く黄金物質。キレート力にも優れ、フミン酸に比べ効果が高い。

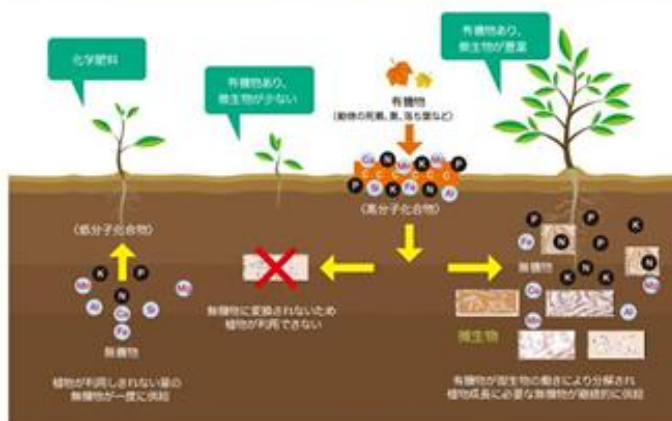


<https://furubo.net/fulvic/>

フミン酸・フルボ酸とは | 株式会社ケーツーコミュニケーションズ [keitwo.co.jp](http://keitwo.co.jp)

土壌においても水中においても、微生物が有機物を分解し、無機イオンや窒素源を生成し、自然界で循環させる働きを持つ。

## 土壌微生物による有機物の分解



立命館大学活動報

<https://www.ritsumei.ac.jp/research/radiant/gastronomy/story5.html/>

## 水中の硝化バクテリアを介した有機物分解後の窒素源の循環



図 湖沼における窒素循環の模式図

## 補足図 1-1: 濾過バクテリアと腐食酸

※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



## 腸内フローラ(フローラ=腸内細菌叢)

私たちの腸の中には数百～千種類、数百兆個以上の細菌がすんでおり、これらの腸内細菌は特に小腸の終わりから大腸にかけて多くすみ着いています。腸内細菌はそれぞれに小さな集合体をつくってお互いのバランスを取っていると考えられ、それを植物が群れている様子になぞらえて「フローラ(植物相)」と呼んでいます。

【腸内細菌の関係】



成人の糞便細菌の電子顕微鏡写真

**POINT!** 腸内細菌叢は善玉菌、悪玉菌および中間菌のせめぎあいです。

森永乳業HP <https://bifidus.jp/relation/>

## 生体の腸内環境および水槽の底材に棲む微生物一覧

性質・種類	学名	属・分類	備考
グラム陰性 細菌	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. sobria</i>	エロモナス属	感染症の原因菌
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス属	感染症の原因菌
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス属	アンモニア硝化菌
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター属	亜硝酸酸化菌
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ属	腸内細菌
	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌
	<i>Vibrio vulnificus</i>	腸炎ビブリオ	吐き戻しの原因 (好塩細菌)
グラム陽性 細菌	<i>Campylobacter jejuni</i>	カンピロバクター属	肉類に付着 (耐塩細菌)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	黄色ブドウ球菌属	皮膚の化膿・嘔吐など (耐塩細菌)
	<i>Streptococcus iniae</i>	レンサ球菌属	眼球突出、腎臓や膀胱の腫れ、心外膜炎など
	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌
藻類(水苔)	<i>B. subtilis</i>	枯草菌属	濾過バクテリア
	<i>C. pediculus</i>	コッコンネイス属	珪藻類
	<i>T. lacustris</i>	テトラスポラ属	緑藻類
真菌(カビ)	<i>M. wileana</i>	ミクロスポラ属	糸状菌類
	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母
	<i>S. parasitica</i>	ミズカビ属	
	<i>A. prolifer</i>	ワタカビ属(卵菌類)	水質浄化、 増えすぎると 水カビ病の原因
	<i>A. proliferoides</i>		
	<i>A. racemosa</i>		
寄生虫	<i>A. cochlioides</i>	アファノマイセス属 (糸状菌類)	
	<i>I. multifiliis</i>	白点虫	白点病の原因(活餌由来)
	<i>Epistylis weishanensis</i>	ツリガネムシ	白点病類似の症状を示す(活餌由来)
	<i>Lernaea cyprinacea</i> L.	イカリムシ	イカリムシ症の原因(活餌由来)
	<i>D. Extensus</i>	ダクテロギルス	鰓などに寄生する(活餌由来)
	<i>G. kobayashii</i>	ギロダクテルス	体表やヒレに寄生する(活餌由来)

市販の刺身から検出される  
有害な雑菌類(塩にも強い)

- ・オキシリン酸→グラム陰性菌 および一部のグラム陽性菌に有効
- ・メチレンブルー→グラム陽性菌に有効
- ・ペニシリン→グラム陰性の球菌 およびグラム陽性菌に有効
- ・イソジン(ポビドンヨード)  
→ グラム陽性菌, グラム陰性菌, 結核菌, 真菌, 一部のウイルス 等  
広範囲の微生物に対して有効

当ラボの飼育環境にて確認できた微生物の一部; 依頼分析で 18SrDNA にて存在を確認

## 補足図 1-3: アホロートル飼育水槽内の雑菌・微生物について



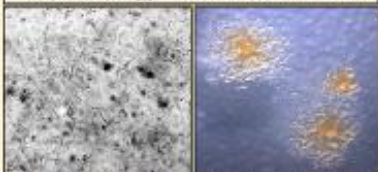
## 細菌 (バクテリア) 類

エロモナス菌 *Aeromonas hydrophila / sobria*



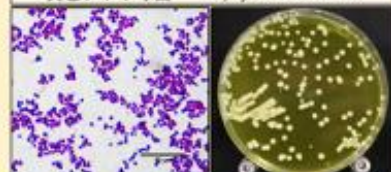
[Aeromonas sobria: Introduction, Morphology, Pathogenesis, Lab. \(https://www.researchgate.net/publication/311111111\)](https://www.researchgate.net/publication/311111111)

カラムナリス菌 *Flavobacterium columnare*



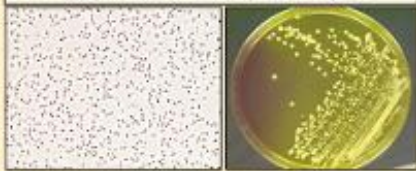
[Flavobacterium columnare: Introduction, Morphology, Pathogenesis, Lab. \(https://www.researchgate.net/publication/311111111\)](https://www.researchgate.net/publication/311111111)

黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus*



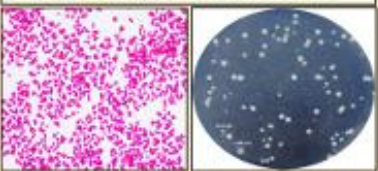
[Staphylococcus aureus: Introduction, Morphology, Pathogenesis, Lab. \(https://www.researchgate.net/publication/311111111\)](https://www.researchgate.net/publication/311111111)

腸炎ビブリオ *Vibrio parahaemolyticus*



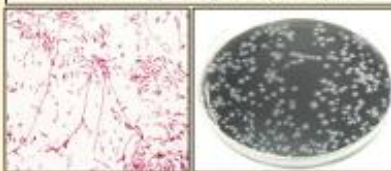
[Vibrio parahaemolyticus: Introduction, Morphology, Pathogenesis, Lab. \(https://www.researchgate.net/publication/311111111\)](https://www.researchgate.net/publication/311111111)

サルモネラ菌 *Salmonella enterica*



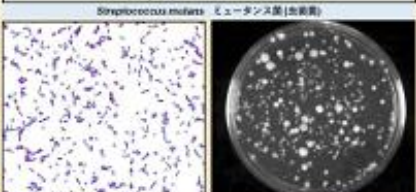
[Salmonella enterica: Introduction, Morphology, Pathogenesis, Lab. \(https://www.researchgate.net/publication/311111111\)](https://www.researchgate.net/publication/311111111)

レジオネラ菌 *Legionella pneumophila*



[Legionella pneumophila: Introduction, Morphology, Pathogenesis, Lab. \(https://www.researchgate.net/publication/311111111\)](https://www.researchgate.net/publication/311111111)

レンサ球菌 *Streptococcus*



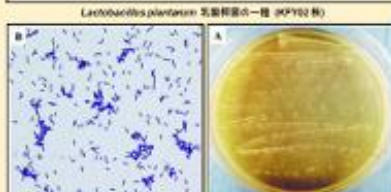
[Streptococcus: Introduction, Morphology, Pathogenesis, Lab. \(https://www.researchgate.net/publication/311111111\)](https://www.researchgate.net/publication/311111111)

大腸菌 *Escherichia coli*



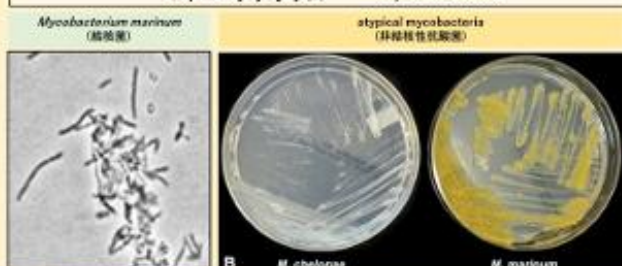
[Escherichia coli: Introduction, Morphology, Pathogenesis, Lab. \(https://www.researchgate.net/publication/311111111\)](https://www.researchgate.net/publication/311111111)

乳酸菌 *Lactobacillus*



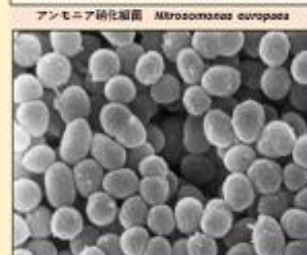
[Lactobacillus: Introduction, Morphology, Pathogenesis, Lab. \(https://www.researchgate.net/publication/311111111\)](https://www.researchgate.net/publication/311111111)

マイコバクテリウム *Mycobacterium*



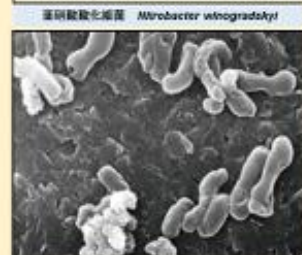
[Mycobacterium: Introduction, Morphology, Pathogenesis, Lab. \(https://www.researchgate.net/publication/311111111\)](https://www.researchgate.net/publication/311111111)

ニトロソモナス *Nitrosomonas*



[Nitrosomonas: Introduction, Morphology, Pathogenesis, Lab. \(https://www.researchgate.net/publication/311111111\)](https://www.researchgate.net/publication/311111111)

ニトロバクター *Nitrobacter*



[Nitrobacter: Introduction, Morphology, Pathogenesis, Lab. \(https://www.researchgate.net/publication/311111111\)](https://www.researchgate.net/publication/311111111)

補足図 2: アホロートル飼育水槽内の雑菌・微生物について 3-1



## 寄生虫1 (白点症状を示すもの)

### 白点虫

*Ichthyophthirius multifiliis*



How to Treat Ich on Freshwater Fish  
(thesourceoflife.com)

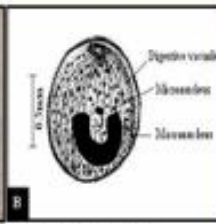


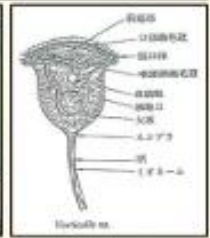
Fig. (4): *Ichthyophthirius multifiliis*.  
A. Photomicrograph (40X). B. Camera lucida drawing  
Ectoparasites of the Asian (researchgate.net)

### ツリガネムシ

*Epistylis weishanensis* sp.



ツリガネムシ(ツリガねむし)とは? 意味や使い方を  
コトバンク (kotobank.jp)



ボルフィネス! 株式会社 環境保健センター (keeo.jp)

## 真菌(カビ)類

### ミズカビ

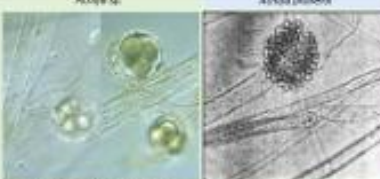
*Saprolegniaceae*



How to Treat Ich on Freshwater Fish  
(thesourceoflife.com)

### ワタカビ

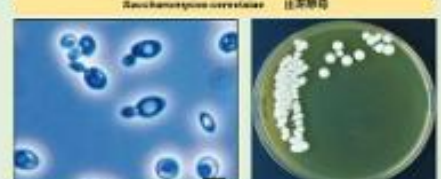
*Achlya*



How to Treat Ich on Freshwater Fish  
(thesourceoflife.com)

### 酵母

*Saccharomyces*



How to Treat Ich on Freshwater Fish  
(thesourceoflife.com)

## 寄生虫2 (線状のもの)

### イカリムシ

*Lernaea cyprinacea* L.



ヘルパゾ治療依拠団体 (杉山, 2022)



ヘルパゾ治療依拠団体 (杉山, 2022)

### 線虫 (Nematoda) の一種

*Heteruris siredonis*



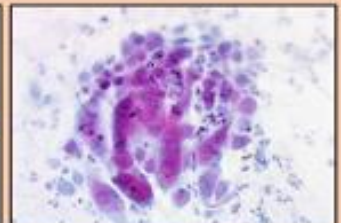
How to Treat Ich on Freshwater Fish  
(thesourceoflife.com)

## その他 ウイルス類

### 単純ヘルペスウイルス1型 Herpes Simplex Virus (HSV) 1



Herpes Simplex Virus: Types, Causes, and Treatment (safefirstaid.com)



Herpes Simplex Virus (HSV) 1  
MyPathologyReport.ca

### ダクトロギルス(変形動物)

*Dactylogyrus*

日本国内・・・*D. Extensus*, *D. minutus* など



写真1. *Dactylogyrus*の多量寄生したツリガね

写真2. *D. extensus*の成体。

東京大学 農学研究所 HP

How to Treat Ich on Freshwater Fish  
(thesourceoflife.com)

### ギロダクトルス(変形動物)

*Gyrodactylus*

コイ: *G. kherulensis* (体表、鰓), *G. sprostonae* (鰓)  
キンギョ: *G. kobayashii* (体表、鰓) エジマス: *G. masu* (体表、鰓、鰓)  
アユ: *G. japonicus* (体表、鰓) トラフグ: *G. rubripedis* (体表、鰓)

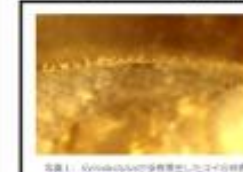


写真1. *Gyrodactylus*の多量寄生したツリガね



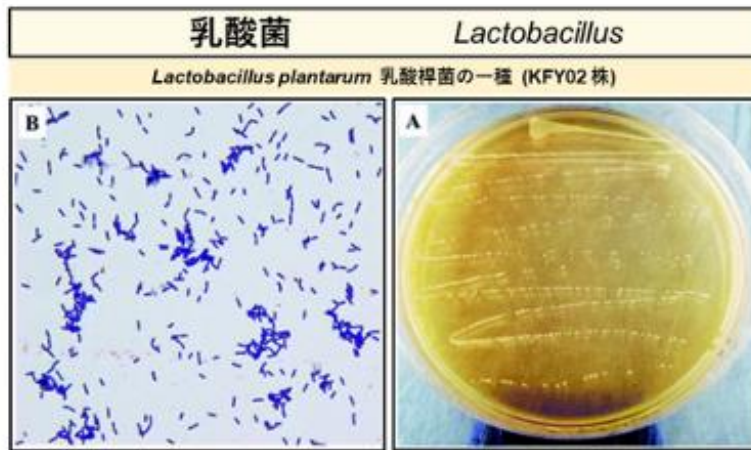
写真2. *G. kherulensis*の成体。鰓の付着部が確認できる。

東京大学 農学研究所 HP

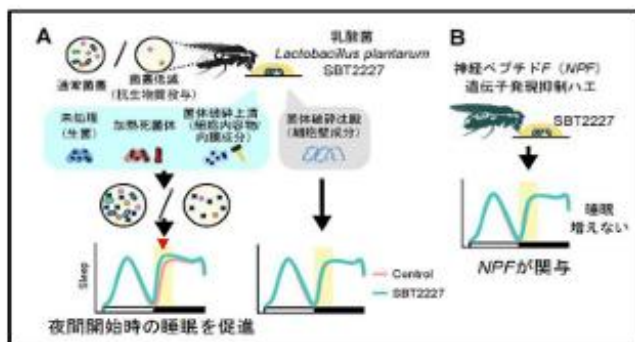
How to Treat Ich on Freshwater Fish  
(thesourceoflife.com)

## 補足図 3: アホロートル飼育水槽内の雑菌・微生物について 3-2





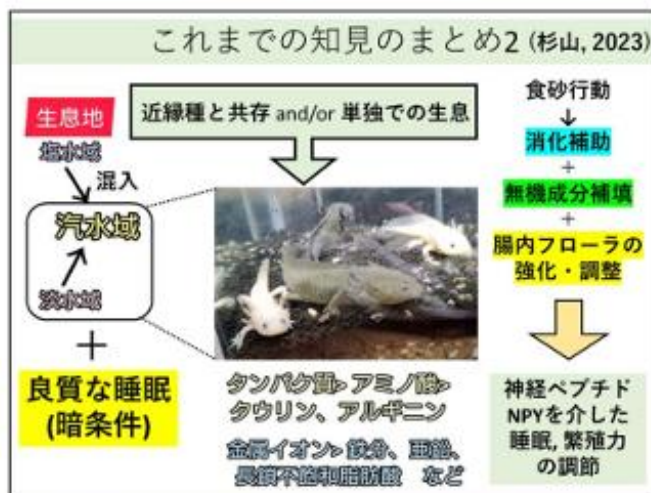
*Lactobacillus plantarum* KFY02 enhances the relieving effect of zearalenone on montmorillonite induced constipation in mice - RSC Advances (RSC Publishing) DOI:10.1039/C9RA10446A



Biogenic action of *Lactobacillus plantarum* SBT2227 promotes sleep in *Drosophila melanogaster*

著者: Taro Ko 雑誌名: iScience DOI: 10.1016/j.isci.2022.104626

Biogenic action of *Lactobacillus plantarum* SBT2227 promotes sleep in *Drosophila melanogaster* - ScienceDirect



#### アポロールの飼育水槽における乳酸菌類:

基本的に、アポロールにおいては、底砂や濾材において乳酸菌の仲間が多く生息する。底砂を食べる行動の中で、無機成分の補給だけでなく、腸内へ乳酸菌を取り込んでいる可能性が示唆されている。腸内を菌に浸した餌を与えることで減菌すると成長が抑制されることから、腸内乳酸菌の摂取と活きた状態で保持される事による効果の長期持続が期待できる (杉山, 2023)。

#### 乳酸菌類をうまく制御するためには:

0.1~0.2% の汽水環境でも十分に乳酸菌は生育可能である。ハルラボでは、汽水環境がアポロールにとって重要であるという報告を行っている (杉山 ほか, 2023) ことから、乳酸菌と汽水・硬水環境は両立可能である点からも、アポロールと乳酸菌は共生関係であった可能性が十分にあると考えられる。

#### 乳酸菌 (にゅうさんきん)

代謝により乳酸を産生するグラム陽性菌の総称。

乳酸発酵によって糖類から多量の乳酸を産生し、かつ、悪臭の原因になるような腐敗物質を作らないものがこれに該当する。適性嫌気性または偏性嫌気性の有機栄養菌である。芽胞なし、運動性なし、消費ブドウ糖に対して50%以上の乳酸を生成。生育の爲には、ビタミンB、糖類、アミノ酸、ミネラル (Mn, Mg, Fe等の金属) が必要な菌類。

体長: 1.0 μm 程度。

ヨーグルト、乳酸菌飲料、漬物など食品の発酵に寄与する。

一部の乳酸菌は腸などの消化管 (腸内細菌) や腔に常在して、他の微生物と共生あるいは拮抗することによって腸内環境の恒常性維持に役立っていると考えられている。

#### ラクトバシラス属 (*Lactobacillus*)

グラム陽性の細菌。

一般に「乳酸桿菌」と呼ぶ場合狭義にはこの属をさす場合が多い。機によって乳酸のみを産生 (ホモ乳酸発酵) するものと、乳酸以外のものを同時に産生 (ヘテロ乳酸発酵) するものがある。

*L. plantarum* は、発酵食品に存在する種類であり、腸内細菌としての研究報告も見られる。

発育温度: 15°C~45°C。

耐塩性を持つため、漬物などのぬか床で生存できる。

SBT2227 株は、キイロショウジョウバエにおいて、神経ペプチドNPFを介した睡眠促進作用を示すという報告がみられた。

細胞が粉砕されていても上記の効果が見られることも分かっている。

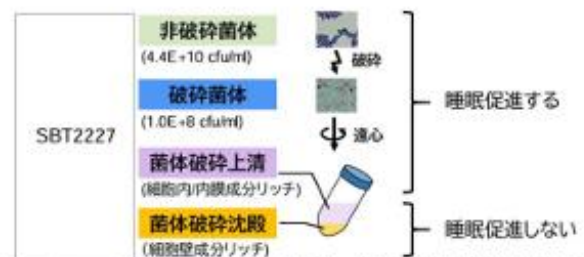
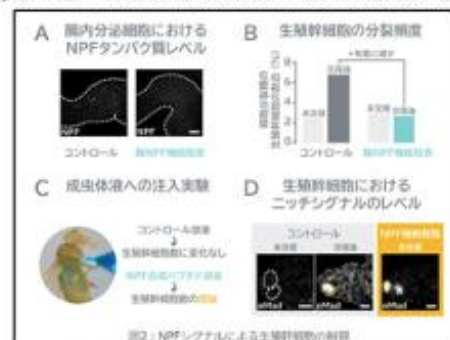


図 3 *L. plantarum* SBT2227 を破砕して回収した、細胞内/内膜成分が豊富な上清成分には睡眠促進作用があるが、細胞壁成分が豊富な沈殿成分に睡眠促進作用はない。

ショウジョウバエにおいて、メス側の産卵促進にオスの交尾刺激 (精液成分の導入) からの NPY (NPF) 放出促進 → 生殖幹細胞の分裂促進 → 最終的に産卵数の増大へと繋がる?



(Ameku et al., PLOS Biol, 2016)

<https://journals.plos.org/plobiology/article?id=10.1371/journal.pbio.2005004>

#### 参考文献

本論文: Wikipedia  
ラクトバシラス・植物性乳酸菌の仲間  
乳酸菌と汽水・硬水環境 (Ameku et al., 2016)  
0100728, ncid: 1199999, ncid: 1199999  
Biogenic Action of *Lactobacillus plantarum* SBT2227 Promotes Sleep in *Drosophila melanogaster* - ScienceDirect

## 補足図 4-1: 乳酸菌について

※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している  
＝腸内細菌



上清や底砂を  
回収し、  
濾し出す。



18SrDNA 等に注目し  
存在する微生物の種類を同定

代表的な乳酸菌



乳酸桿菌

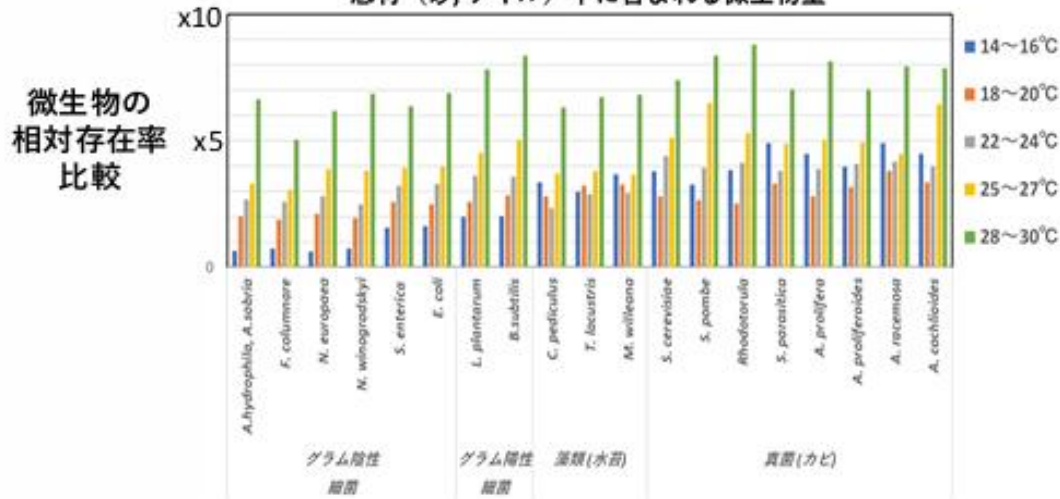


乳酸球菌



ビフィズス菌

底材（砂、ソイル）中に含まれる微生物量



飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している  
＝腸内細菌



上清や底砂を  
回収し、  
濾し出す。



18SrDNA 等に注目し  
存在する微生物の種類を同定

代表的な乳酸菌



乳酸桿菌

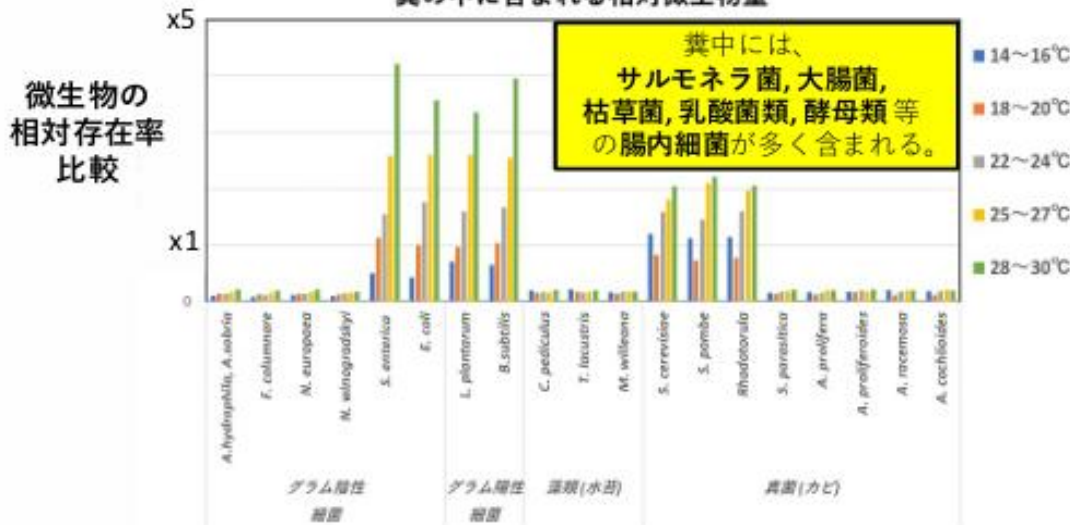


乳酸球菌



ビフィズス菌

糞の中に含まれる相対微生物量



補足図 4-2: アホロートルの水槽内の濾過バクテリア および 腸内細菌の採取と分析方法1

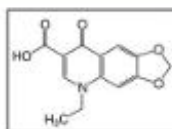


## 治療薬の選定と最適条件の設定



### 塩による治療

- ・塩浴～0.5%程度の塩水で短時間泳がせる
- ・周期的な0.15～0.2%程度の汽水飼育で微生物・カビの増殖を抑制できる。

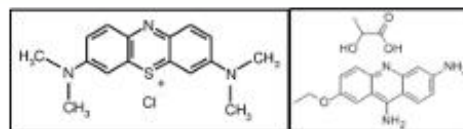


### 抗生物質による治療

- ・オキシリン酸含有品を推奨。

濃度1/5000~1/10000  
で7日程度継続して使用。

**理由:** エロモナス菌などの感染症の原因となるグラム陰性菌に有効であるため。

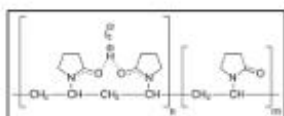


メチレンブルー入り魚病  
治療薬による治療

- ・メチレンブルー+アクリノール

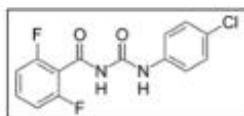
濃度1/6000~1/14000 で  
6~7日程度継続して使用。

- ・カビやウイルスなどの抗生物質が効かない相手に対して有効。



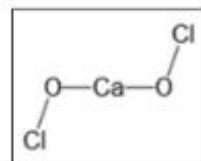
イソジンによる治療  
(ポビドンヨード: PVP)

- ・カビやウイルスなどの抗生物質が効かない相手に対して有効。
- ・Cタイプを1/200程度で2～3日で十分効果があるがリスクもある。



### 甲殻類系の寄生虫の治療

- ・脱皮阻害系の農薬成分が有効。
  - ・デミリンという商品名で購入可能。
- イカリムシやウオジラミに  
1/1000 で非常に有効である。  
2週間は継続した方が安心。



次要塩素酸カルシウム消毒剤 (enrosun.com)

### 水道水による治療

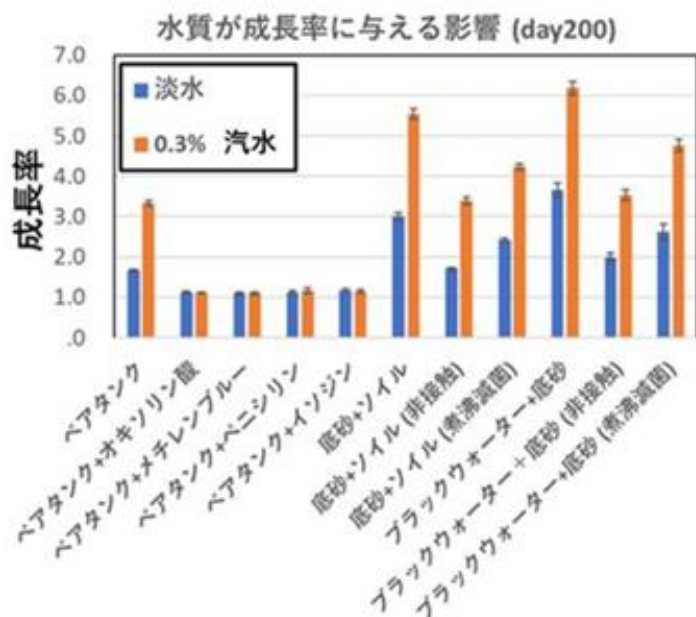
- ・カルキ（次亜塩素酸カルシウム）を抜かない水道水で短時間泳がせる。
- ・含有する塩素の効果で、ある程度の雑菌やカビを滅菌することが可能。

※ 現在は、次亜塩素酸ナトリウム

が主に用いられている。

補足図 5: アホロートルの治療に用いる薬品一覧

## 腸内細菌を抗生剤等で殺菌すると生育率が低下する



### グリーンFゴールド・リキッド

主成分: オキシリン酸

多くのグラム陰性菌と大半のグラム陽性菌に対して殺菌効果を示す。



【第3類医薬品】

イソジンうがい薬C

組成

- ・ポビドンヨード 0.35 %
- ・エタノール
- ・グリセリン
- ・メントール 他

図2: 飼育水槽の水質が成長率に与える影響

飼育水槽にバクテリアが不在であると成長が著しく阻害される。同様に、底砂と直接接していないと成長率が低下する。

### PVPI (ポビドンヨード)

ウイルスや細菌・真菌に対して殺ウイルス効果・殺菌効果がある。

## 腸内活動の活性化によって成長率が向上する

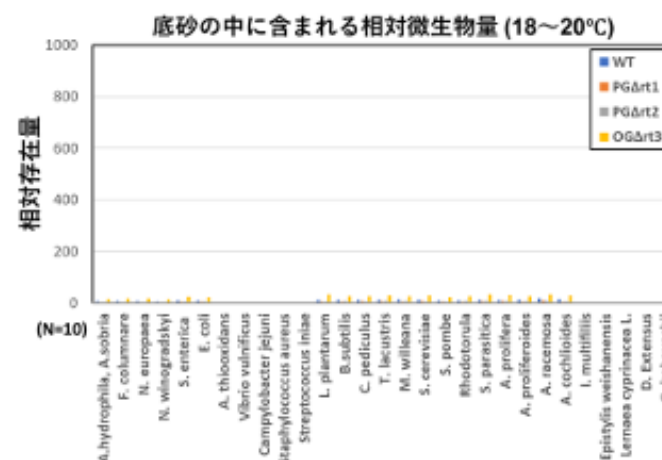
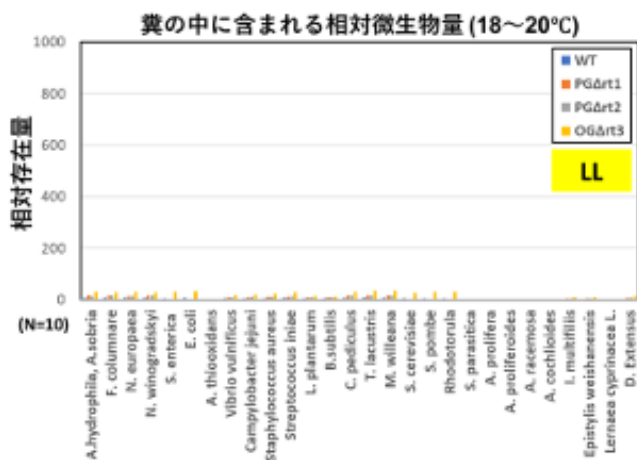
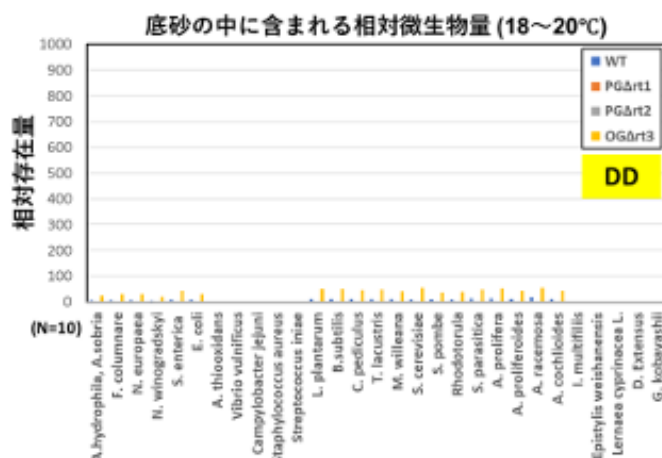
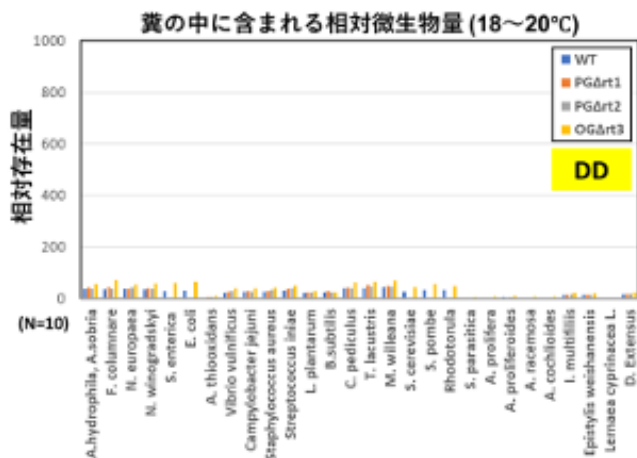
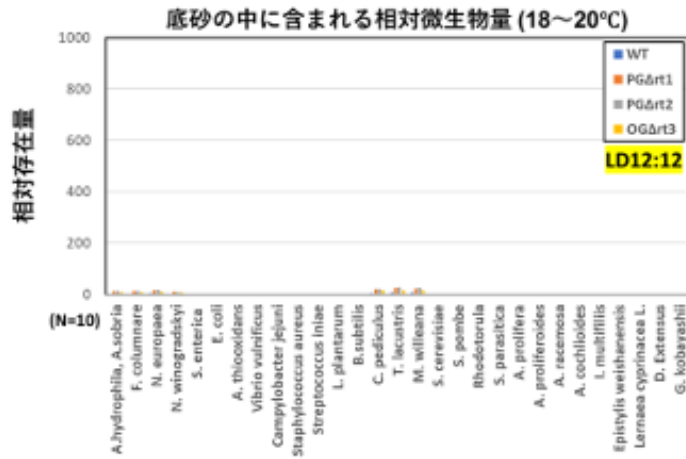
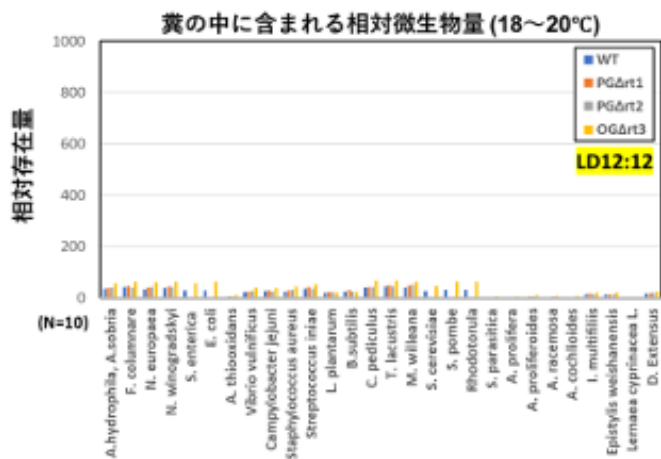


(杉山, 2023)

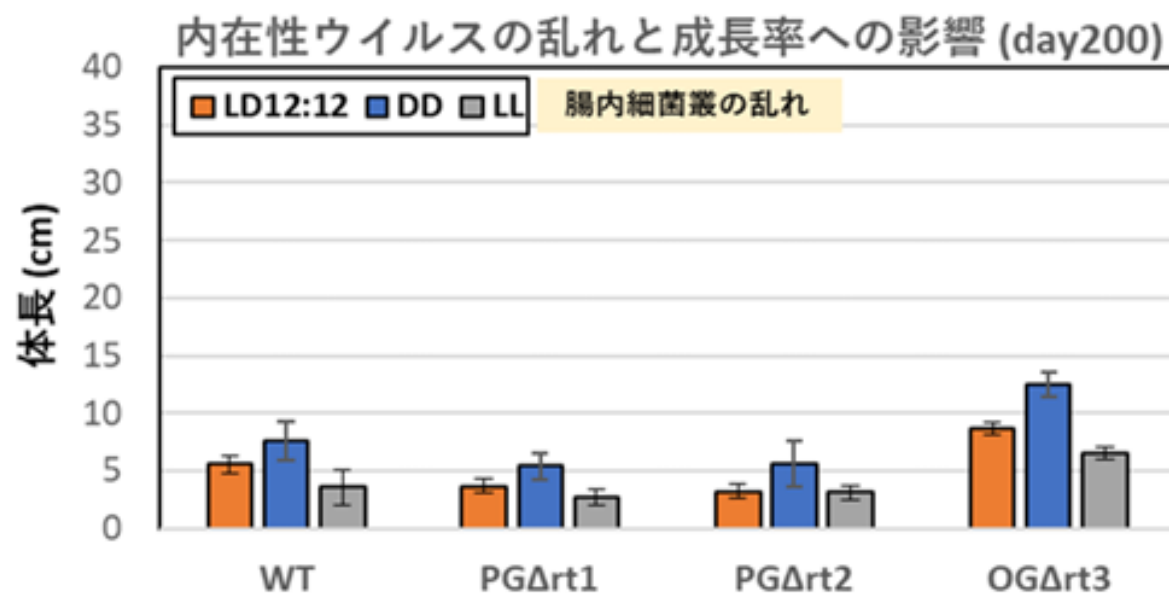
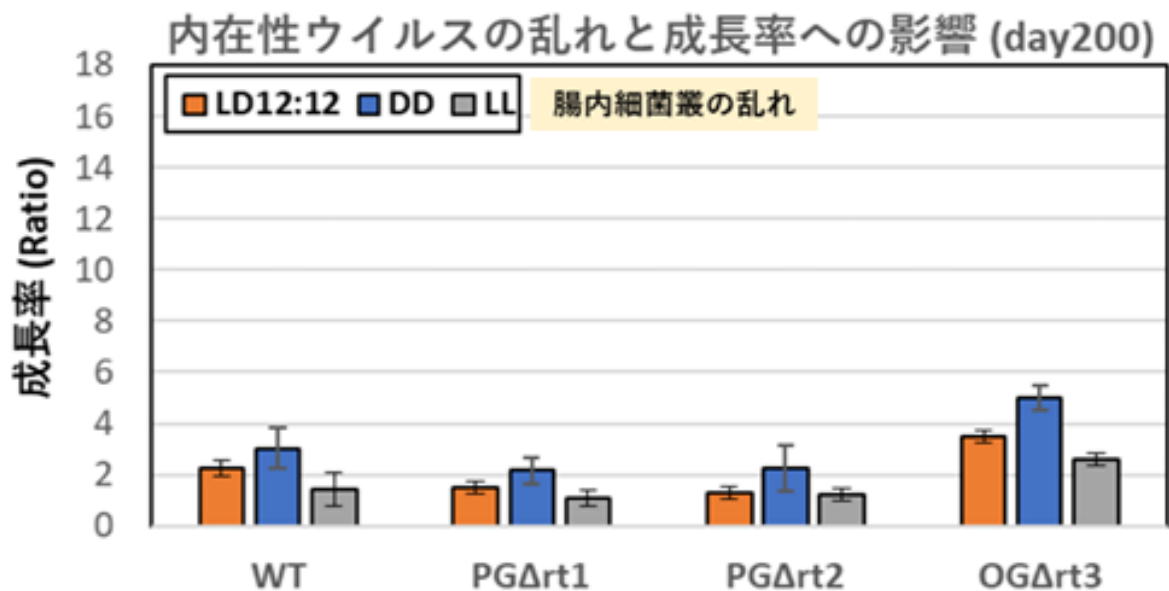
補足図 6: アホロートルの腸内細菌叢 (フローラ) の攪乱は成長率が顕著に低下する 1

※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
 ※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。

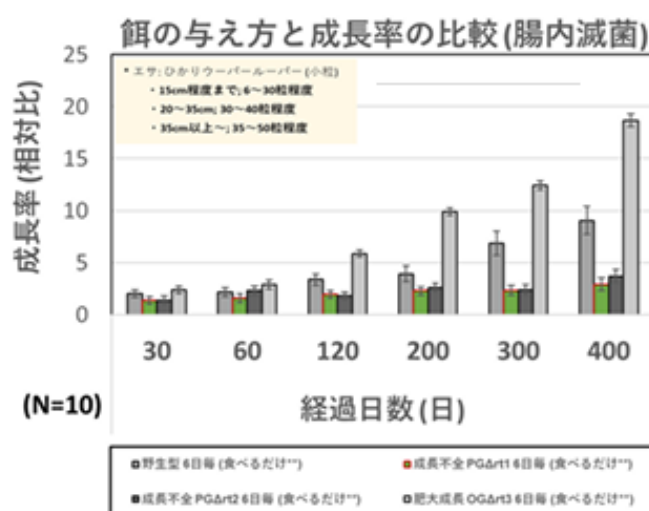
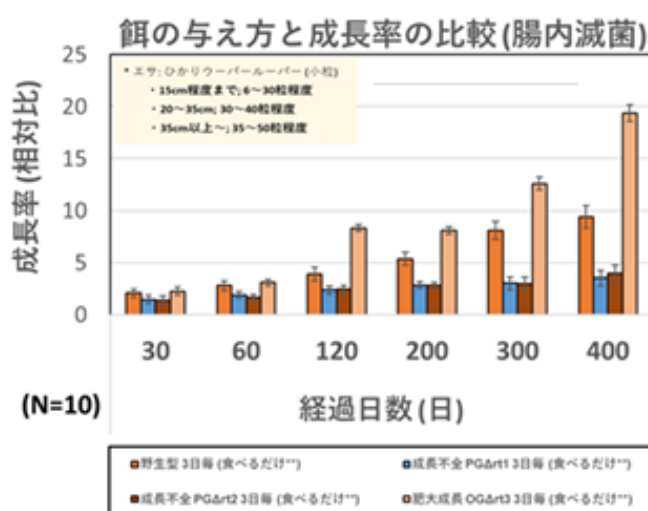
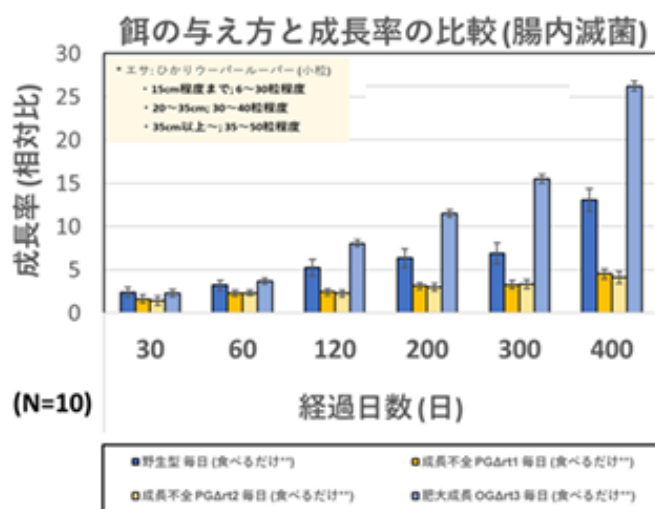
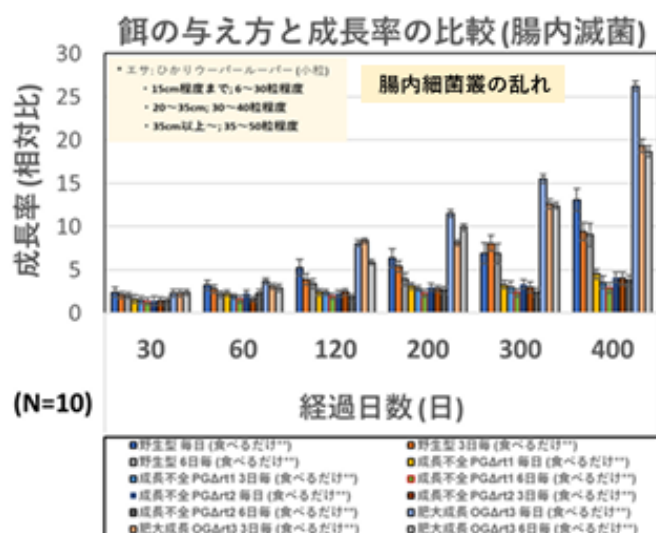




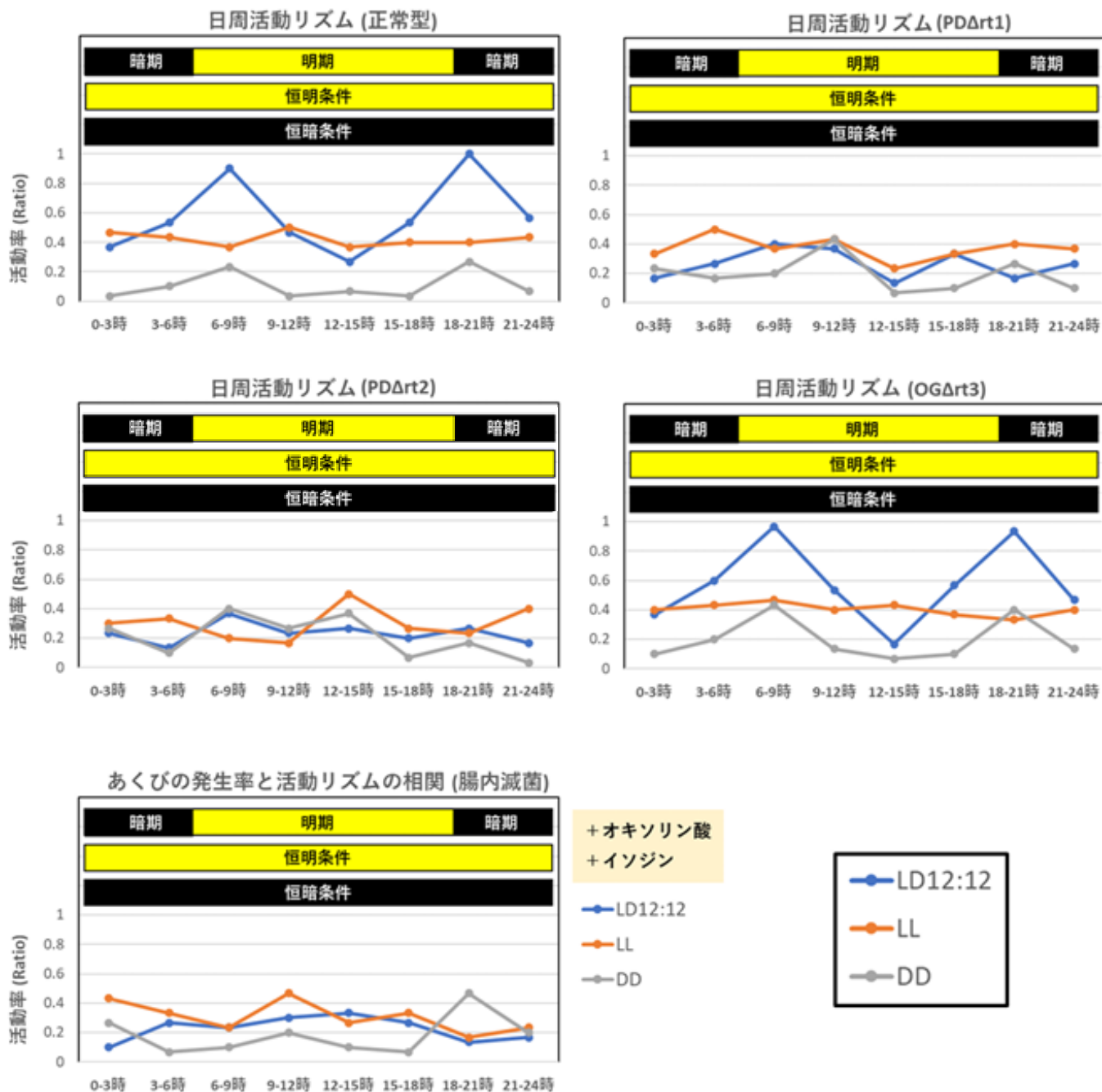
補足図 7-2: 滅菌後のアホロートルの腸内細菌叢 (フロラ)



補足図 8: アホロートルの腸内細菌叢 (フロラ) の攪乱は成長率が顕著に低下する 1

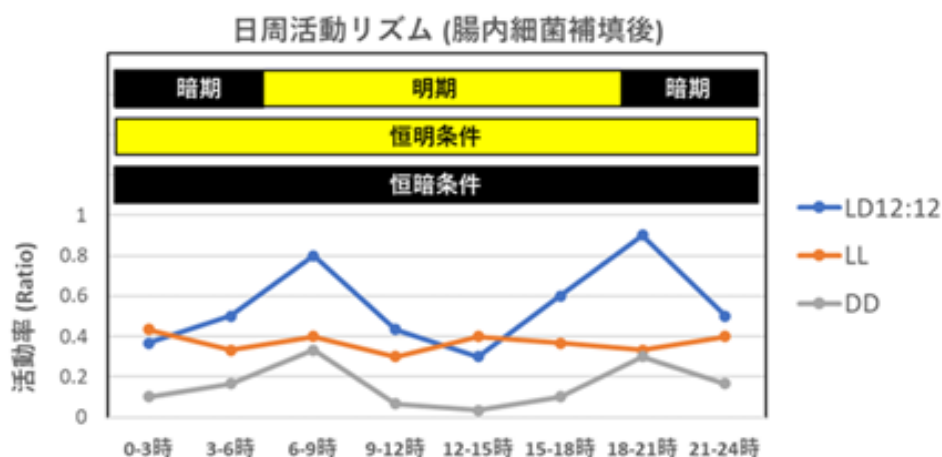
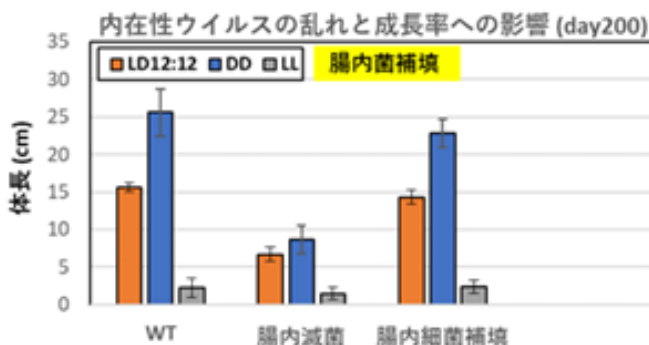
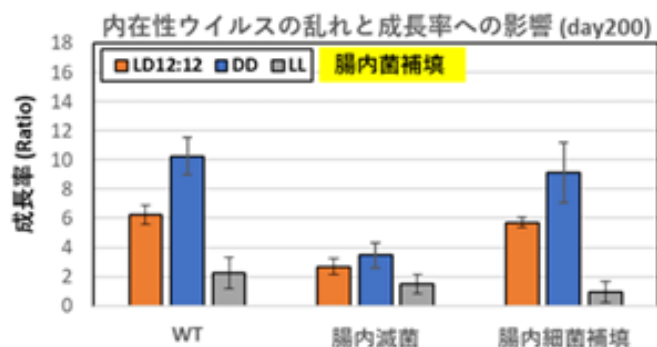
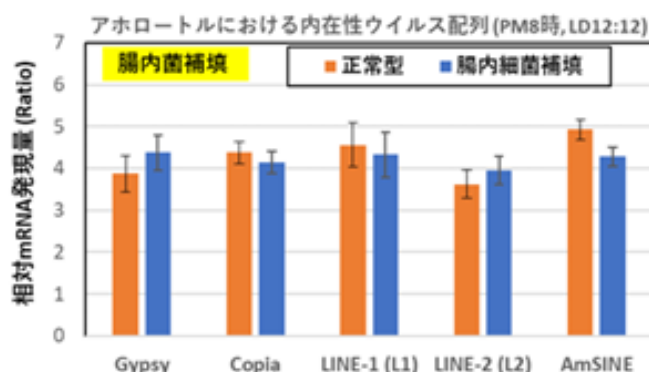
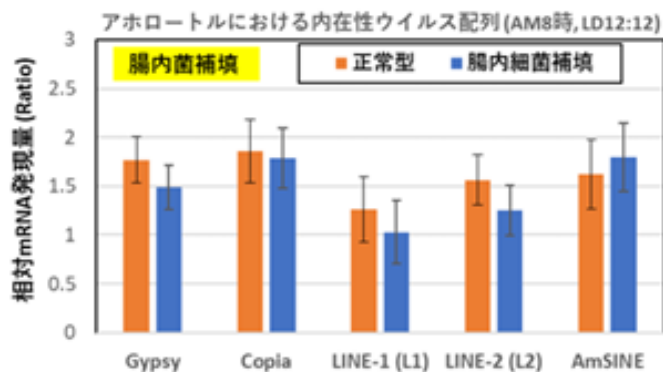


補足図 9: アホロートルにおける腸内細菌叢を崩壊させた個体における  
摂食量と成長率の相関



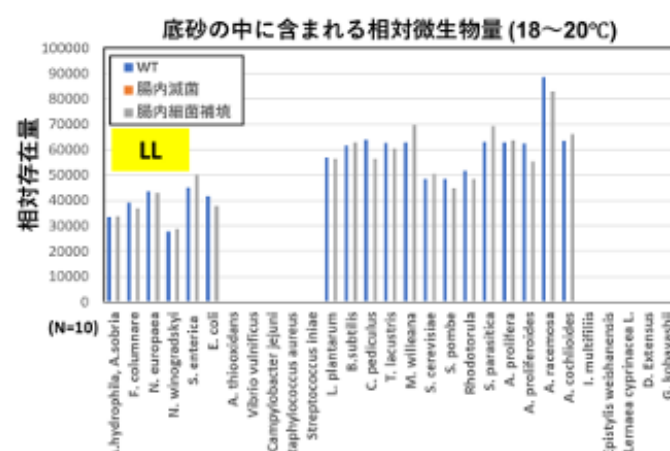
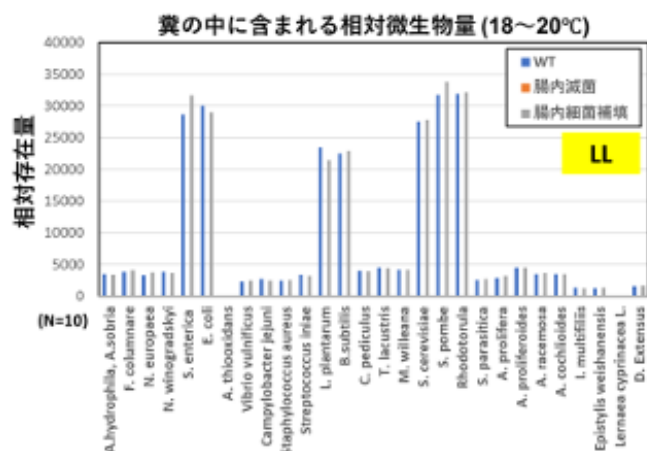
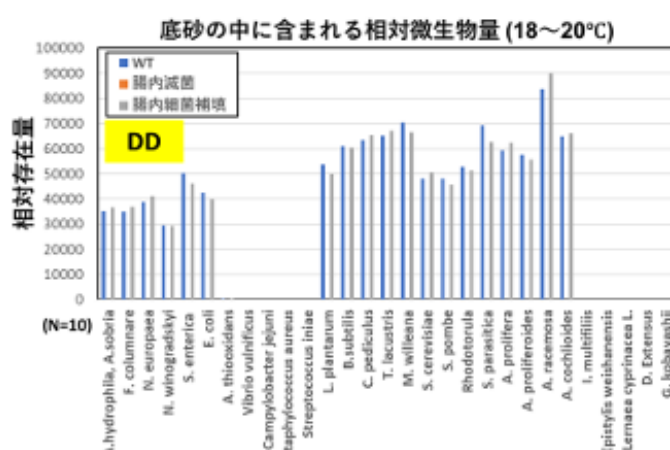
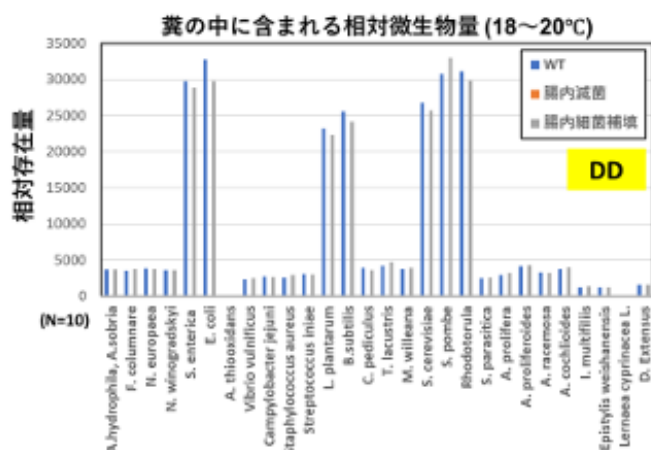
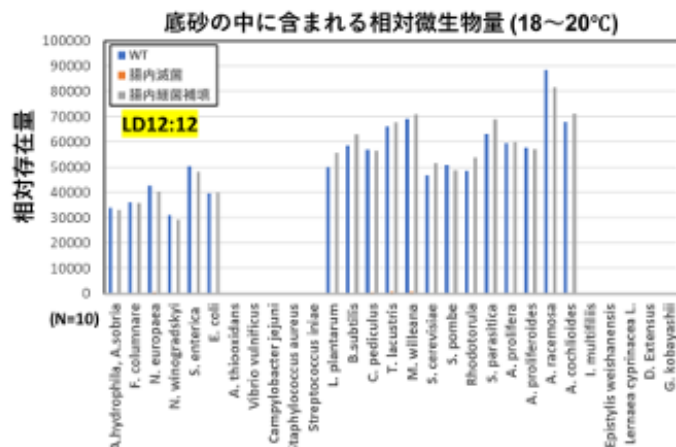
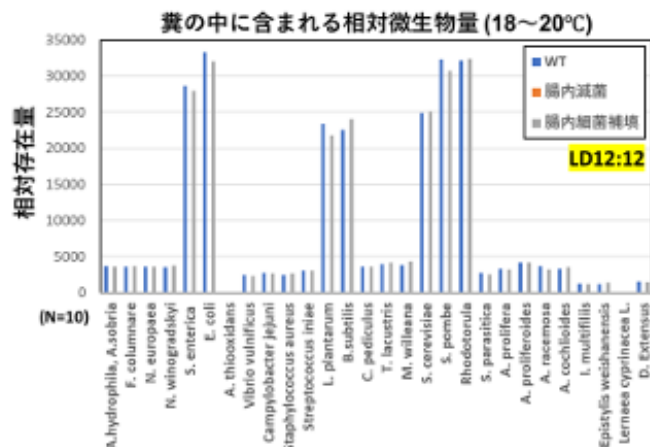
補足図 10: アホロートルにおける日周活動リズム





補足図 11-1: 腸内細菌補填 (開始: day50~) による表現型の回復 1 (day200 にて解析)

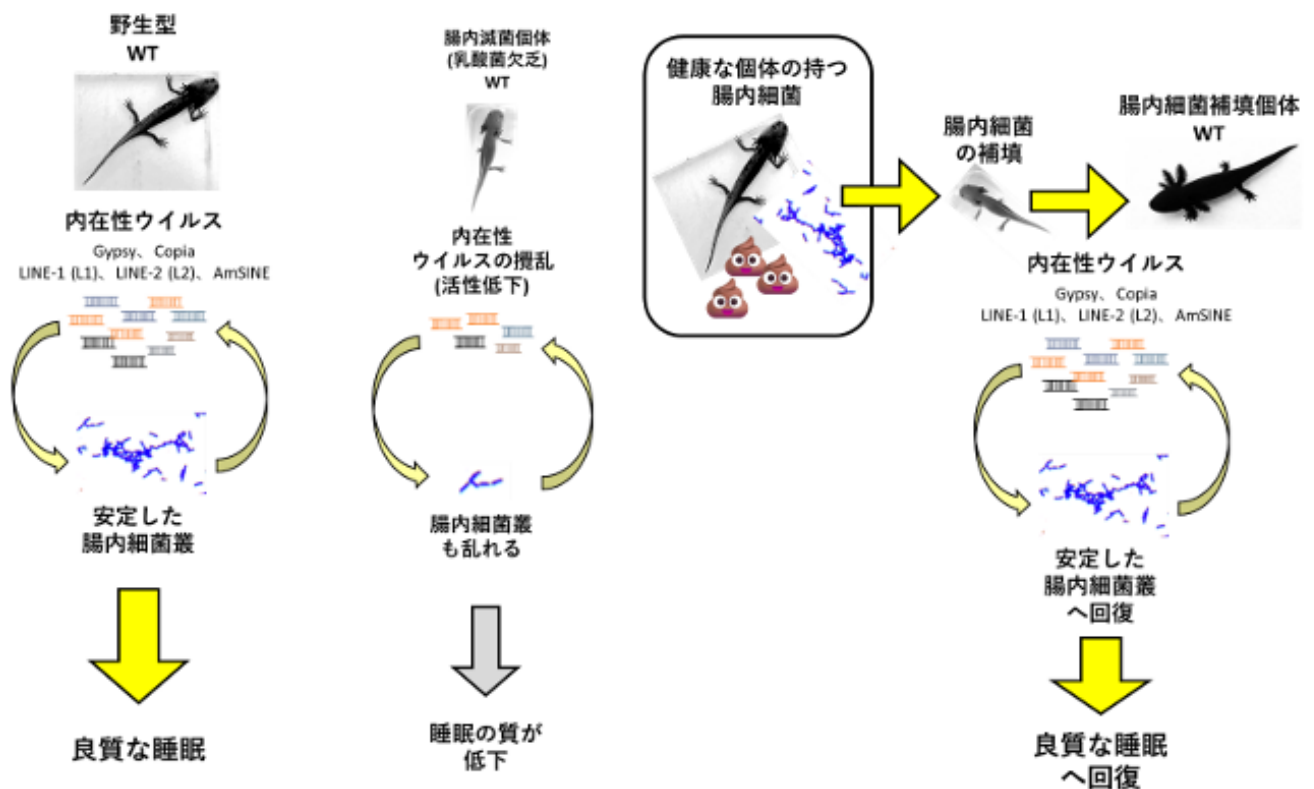
※ 摂食時に健康な個体由来の糞を併せて与えて補填.



補足図 11-2: 腸内細菌補填 (開始: day50~) による表現型の回復 2 (day200 にて解析)

※ 摂食時に健康な個体由来の糞を併せて与えて補填。

## 内在性ウイルスと腸内細菌叢依存的なアホロートルの成長制御



補足図 12: 良質な睡眠と腸内細菌叢と内在性ウイルス叢の関係性まとめ図

## 参考文献 References

### 1. Author Correction: The axolotl genome and the evolution of key tissue formation regulators.

Nowoshilow, S. et al., 2018. Nature 559, E2.

### 2. 【ショート】魚類・両生類が痩せる症状を示すバクテリア類と対策について

杉山 遥. 2025年8月25日

### 3. 【発表資料】異分野研究交流会 (知己の研究者の集い\_開催日: 25年7月13日)

横江 誼衡, 杉山 遥, 萩原 和晃, F.N. 三太子, 竜岡 龍騎, 枝豆 やみん, あすみ悠, 阿保朗 太郎

2025年5月9日

### 5. 【総説】アホロートルにおける睡眠と成長制御

杉山 遥, 横江 誼衡, 萩原 和晃, 高橋 慶, F.N. 三太子, 竜岡 龍騎, 枝豆 やみん, あすみ 悠, 阿保朗 太郎

2025 年 5 月 9 日

### 6. 【研究報告】糖と硫黄で沢山育つウーパールーパー

杉山 遥, 竜岡 龍騎, 高橋 慶, 阿保朗(郎) 太郎

はるらぼ会報誌\_ウーパールーパーだより vol 7.0. 2025 年 1 月 4

### 7. 【研究報告】育たないウーパールーパーの秘密を解明！

杉山 遥, 竜岡 龍騎, あすみ 悠, 阿保朗 太郎

はるらぼ会報誌\_ウーパールーパーだより vol 6.0. 2024 年 6 月 27 日

### 8. 【総説】メキシコサラマンダー および トラフサンショウウオ科の近縁種における生態・生息環境に関する調査報告

杉山 遥, 枝豆 やみん, 竜岡 龍騎, 阿保朗 太郎, 萩原 和晃, FN 三太子, あすみ 悠

はるらぼ会報誌\_ウーパールーパーだより vol 3.0. 2023 年 12 月 31 日

### 9. 腸内乳酸菌と神経ペプチド NPY と睡眠・成長\_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥. 2023 年 2 月 4 日.

## SNS and Mail Address

Researchmap: [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl)

X: [https://x.com/lab\\_new2](https://x.com/lab_new2)

ResearchGate: <https://www.researchgate.net/profile/Sugiyama-Haruka>

Contact: [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com)



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





# 【総説】 両生類における炎症再生 (Part.1)

## Review: Inflammation and Regeneration in Amphibians

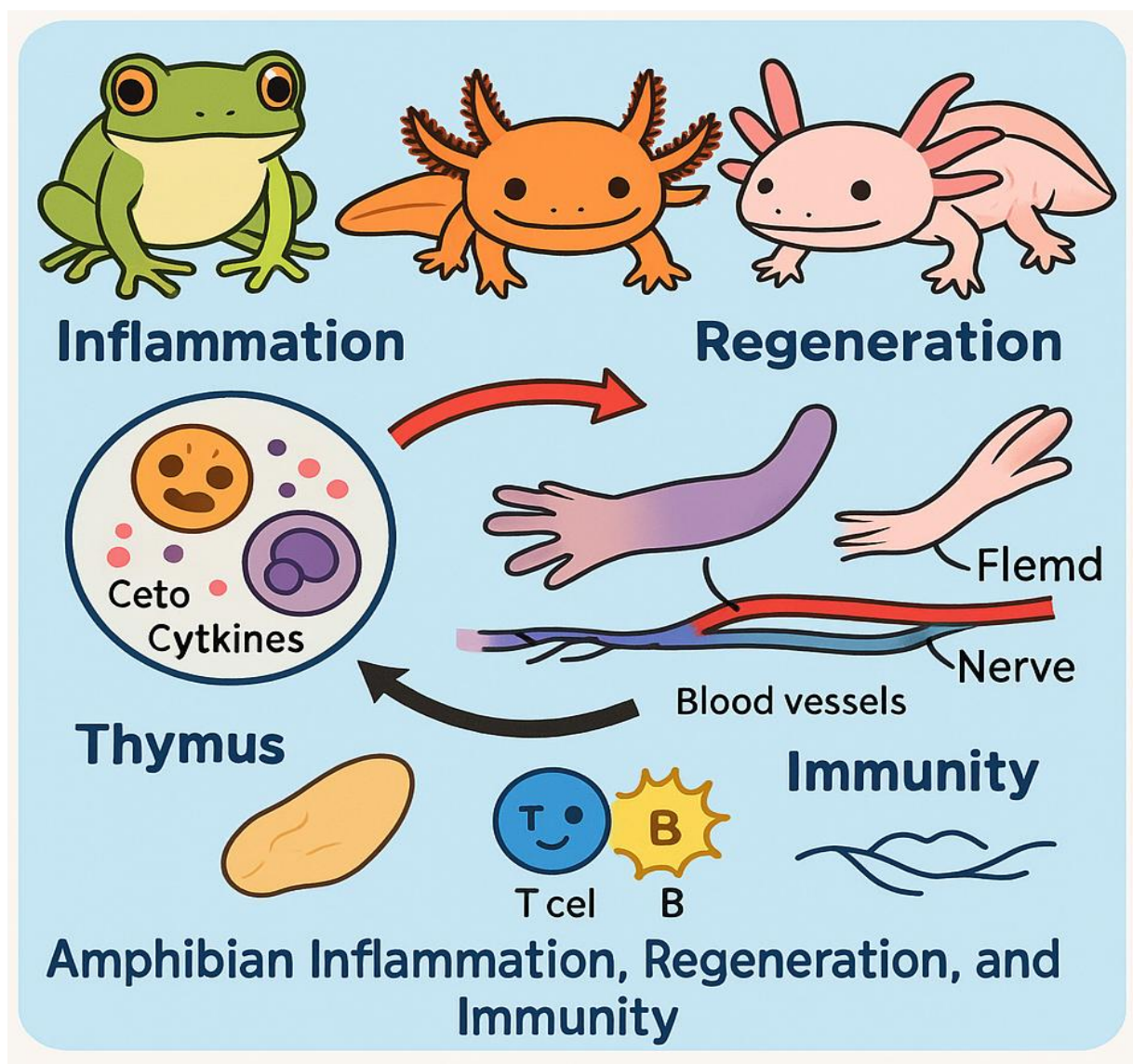
著: F.N. 三太子<sup>1</sup>; 杉山 遥<sup>1</sup>; 横江 誼衡<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO 研究グループ\_ハルラボ (ウーパールーパー研究室), <sup>2</sup> 東京大学, <sup>3</sup> 秀明大学, <sup>4</sup> サイモン・テクノロジー

**Authors:** F.N. Santako<sup>1</sup>; Sugiyama Axolotl Haruka<sup>1</sup>; Yoshichika Yokoe<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO Research Group\_HARU-Lab (Axolotl Research Laboratory), <sup>2</sup> The University of Tokyo, <sup>3</sup> Shumei Univ,

<sup>4</sup> SciMountechnology



## SNS and Mail Address

**Researchmap:** [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl/](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/)

**X:** [https://x.com/lab\\_new2](https://x.com/lab_new2)

**ResearchGate:** <https://www.researchgate.net/profile/Sugiyama-Haruka>

**Contact:** [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com)



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



# 要旨

両生類は、四肢や尾、心臓、脊髄など多様な組織を再生できる稀有な脊椎動物群であり、その再生過程における炎症応答の役割は近年大きな注目を集めている。特にアホロートル (*Ambystoma mexicanum*) やイモリにおける研究から、損傷後の初期炎症が再生誘導に必須であることが明らかになってきた。

マクロファージを除去すると再生が阻害され瘢痕化に至ることが報告されており、炎症細胞が単なる病原防御にとどまらず、**再生を促進するシグナル源**として機能することが示唆される (Godwin et al., 2013; Simkin et al., 2017)。炎症期にはマクロファージや好中球が損傷部位に集積し、サイトカインやケモカインを分泌して細胞遊走や細胞外マトリックスのリモデリングを誘導する。その後、炎症反応は速やかに収束し、線維芽細胞様細胞や脱分化した細胞が集合して**\*\*ブラステマ（再生芽）\*\***を形成する。この一連の過程は、哺乳類で観察される持続的炎症や過剰な線維化とは対照的である (Mescher & Neff, 2006; Fukazawa et al., 2009)。さらに、獲得免疫系の構造的・機能的特性も再生能力の維持に寄与している。胸腺由来の T 細胞は免疫寛容を担い、過剰な炎症や拒絶反応を防ぐことが知られているが、両生類ではこの制御が再生環境に適合的に作用する可能性がある (Robert & Ohta, 2009; Mescher et al., 2017)。近年のレビューでは、自然免疫と獲得免疫のクロストークが、組織修復と再生のバランスを決定する重要因子であることが強調されている (Ferreira & Cravo, 2022; Miller & Smith, 2020)。加えて、佐藤伸先生らが提唱する**血管・神経の並走モデル**は、再生組織において血管新生と神経再構築が協調して進行することを示しており、炎症の収束と再生微小環境の維持を支える重要な概念といえる (Sato et al., 2016; Sato & Nishino, 2018)。このモデルは、免疫応答や栄養供給、シグナル伝達の観点からも再生の理解を一層深める鍵となっている。

本総説では、両生類における炎症と再生のダイナミクスに加え、血管・神経並走モデルや免疫制御の仕組みに注目し、包括的に理解することで、**ヒトにおける再生医療の基盤的知見の創出**を目指したく思う。

# Abstract

Amphibians are a rare group of vertebrates capable of regenerating a wide range of tissues, including limbs, tails, hearts, and spinal cords, and the role of inflammatory responses in these regenerative processes has recently attracted considerable attention. Studies in axolotls (*Ambystoma mexicanum*) and newts have revealed that early inflammation after injury is essential for initiating regeneration. It has been reported that depletion of macrophages leads to regeneration failure and scar formation, suggesting that inflammatory cells function not merely as agents of pathogen defense but also as **sources of signals that promote regeneration** (Godwin et al., 2013; Simkin et al., 2017). During the inflammatory phase, macrophages and neutrophils accumulate at the injury site and secrete cytokines and chemokines, which induce cell migration and remodeling of the extracellular matrix. The inflammatory response then subsides rapidly, and fibroblast-like cells together with dedifferentiated cells aggregate to form a **blastema**. This sequence of events contrasts with that observed in mammals, where persistent inflammation and excessive fibrosis are common (Mescher & Neff, 2006; Fukazawa et al., 2009). Furthermore, the structural and functional characteristics of the adaptive immune system contribute to maintaining regenerative capacity. Thymus-derived T cells are known to mediate immune tolerance and prevent excessive inflammation and rejection, and in amphibians this regulation may function in a manner favorable to regeneration (Robert & Ohta, 2009; Mescher et al., 2017). Recent reviews have also emphasized that the crosstalk between innate and adaptive immunity is a key determinant in balancing tissue repair and regeneration (Ferreira & Cravo, 2022; Miller & Smith, 2020).

In addition, the **vascular–neural parallel alignment model** proposed by Dr. Shin Sato and colleagues demonstrates that angiogenesis and neural reconstruction proceed in coordination within regenerating tissues, providing an important framework for understanding how resolution of inflammation and maintenance of the regenerative microenvironment are achieved (Sato et al., 2016; Sato & Nishino, 2018). This model is considered a crucial concept for deepening our understanding of regeneration from the perspectives of immune response, nutrient supply, and signal transduction.

In this review, we focus on the dynamics of inflammation and regeneration in amphibians, as well as on the vascular–neural parallel alignment model and mechanisms of immune regulation, with the aim of achieving a **comprehensive understanding that can serve as a foundation for regenerative medicine in humans**.

## 1. 炎症と再生

両生類（特にアホロートルやイモリ）は、手足・尾・脊髄・心臓などの器官を驚異的に再生する能力を持っています。

再生の初期過程では必ず炎症反応が起こり、マクロファージなどの免疫細胞が損傷部位に集積します。

- マクロファージの役割

再生に不可欠であり、マクロファージを除去するとアホロートルの四肢は癒痕化して再生が失敗します。

これは炎症が単なる防御反応ではなく、**組織修復と再生のシグナル源**となっていることを示します。

- サイトカイン・ケモカイン

TNF- $\alpha$ 、IL-6 などの炎症性サイトカインが一時的に上昇し、細胞遊走や細胞外マトリックスのリモデリングを誘導します。

炎症が過剰に長引くと再生が阻害されるため、**速やかな収束**が重要です。

## 2. 胸腺と免疫系の特徴

両生類の胸腺は、哺乳類と同様に T 細胞の分化・成熟に必須の臓器です。

しかし、両生類にはいくつかの独特な特徴があります。

- 胸腺の発達と加齢変化

幼生期に胸腺がよく発達し、多様な T 細胞を供給します。

成長や環境変化（変態やネオテニー）により胸腺機能が変化し、免疫応答や再生能力に影響します。

- 免疫寛容と再生

両生類の胸腺で形成される T 細胞レパートリーは、**再生部位を排除せずに受け入れる寛容性**を示すことが多いとされます。

これが、哺乳類に比べて**癒痕化より再生が優先されやすい免疫環境**の背景のひとつと考えられています。

## 3. 再生と免疫系のクロストーク

- 自然免疫（マクロファージ、好中球など）

損傷応答を開始し、幹細胞や前駆細胞を呼び込む。

炎症が抑え込まれず慢性化すると、再生は阻害される。

- 獲得免疫（T 細胞・B 細胞）

哺乳類では過剰な T 細胞応答が癒痕化を誘導するが、両生類では相対的に弱い応答や寛容が再生を助ける。

特に **制御性 T 細胞（Treg）** が再生組織の維持に寄与している可能性が報告されています。

## 4. 研究的意義

両生類の炎症・再生・胸腺・免疫の研究は次の応用につながります。

- 再生医療**：炎症と免疫の調節でヒト組織再生を促進する可能性。
- 移植免疫学**：胸腺依存的な免疫寛容の仕組みの解明。
- 進化的比較**：哺乳類と両生類の免疫差が再生能力の違いを生む背景理解。



# 1. Inflammation and Regeneration

Amphibians (especially axolotls and newts) possess the remarkable ability to regenerate organs such as limbs, tails, spinal cords, and hearts. In the early stages of regeneration, inflammatory responses invariably occur, and immune cells such as macrophages accumulate at the injury site.

- **Role of macrophages**

Macrophages are indispensable for regeneration, and when they are depleted, axolotl limbs undergo scarring and regeneration fails. This demonstrates that inflammation is not merely a defensive response but also serves as a **source of signals for tissue repair and regeneration**.

- **Cytokines and chemokines**

Inflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$  and IL-6 are transiently elevated, inducing cell migration and remodeling of the extracellular matrix. If inflammation persists excessively, regeneration is impaired, highlighting the importance of its rapid resolution.

---

# 2. Characteristics of the Thymus and the Immune System

The thymus in amphibians, as in mammals, is an essential organ for the differentiation and maturation of T cells. However, amphibians display several unique features.

- **Thymic development and age-related changes**

The thymus is well developed in the larval stage and supplies a diverse repertoire of T cells.

As the animal grows or undergoes environmental changes (metamorphosis or neoteny), thymic function changes, affecting both immune responses and regenerative capacity.

- **Immune tolerance and regeneration**

The T cell repertoire formed in the amphibian thymus often exhibits tolerance, allowing the acceptance of regenerating tissues without rejection. This is considered one of the reasons why regeneration is prioritized over scarring in amphibians compared to mammals.

---

# 3. Crosstalk Between Regeneration and the Immune System

- **Innate immunity (macrophages, neutrophils, etc.)**

Initiates the damage response and recruits stem cells and progenitor cells.

If inflammation is not properly suppressed and becomes chronic, regeneration is hindered.

- **Adaptive immunity (T cells, B cells):** In mammals, excessive T cell responses induce scarring, whereas in amphibians, relatively weak responses and immune tolerance help regeneration.

In particular, regulatory T cells (Tregs) have been reported to contribute to the maintenance of regenerating tissues.

---

# 4. Research Significance

Research on inflammation, regeneration, the thymus, and immunity in amphibians has potential applications such as:

- **Regenerative medicine:** Possibility of promoting human tissue regeneration through the modulation of inflammation and immunity.
- **Transplantation immunology:** Elucidation of thymus-dependent mechanisms of immune tolerance.
- **Evolutionary comparison:** Understanding the immunological differences between mammals and amphibians that underlie disparities in regenerative capacity.



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



## 参考文献 References

- Godwin, J. W., Pinto, A. R., & Rosenthal, N. A. (2013). Macrophages are required for adult salamander limb regeneration. *PNAS*, 110(23), 9415–9420.
- Simkin, J., Sammarco, M. C., Dawson, L. A., Schanes, P. P., Yu, L., & Muneoka, K. (2017). The mammalian blastema: regeneration at our fingertips. *Regeneration*, 4(3), 93–105.
- Mescher, A. L., & Neff, A. W. (2006). Limb regeneration in amphibians: Immunological considerations. *ScientificWorldJournal*, 6, 1–11.
- Fukazawa, T., Naora, Y., Kunieda, T., & Kubo, T. (2009). Suppression of the immune response potentiates tadpole tail regeneration during the refractory period. *Development*, 136(14), 2323–2327.
- Robert, J., & Ohta, Y. (2009). Comparative and developmental study of the immune system in *Xenopus*. *Developmental Dynamics*, 238(6), 1249–1270.
- Mescher, A. L., Neff, A. W., & King, M. W. (2017). Inflammation and immunity in organ regeneration. *Dev Comp Immunol*, 66, 98–110.
- Ferreira, F., & Cravo, R. (2022). The amphibian immune system and regeneration: A balancing act between defense and repair. *Developmental Dynamics*, 251(6), 934–947.
- Miller, C. V., & Smith, J. J. (2020). Amphibian models of regeneration and immunity. *Dev Biol*, 461(1), 67–78.
- Sato, N., Ueda, Y., & Nishino, A. (2016). Vascular–neural parallel alignment during axolotl limb regeneration. *Regeneration*, 3(4), 225–234.
- Sato, N., & Nishino, A. (2018). Coordinated patterning of blood vessels and nerves in limb regeneration. *Dev Growth Differ*, 60(5), 307–315.

# 両生類における抗菌ペプチド：疾患防御から創傷治癒・再生まで

## 1. 概観

両生類の皮膚には顆粒腺が発達し、多様な抗菌ペプチド（AMP: antimicrobial peptide）が合成・貯蔵されます。代表例には **magainins, dermaseptins, temporins, brevinins, esculentins, caerins, bombinins, pseudins** があり、細菌・真菌・ウイルスに対する広域な抗菌作用を示すと同時に、自然免疫の第一線として働いています。

## 2. 作用機序

AMP は多くが **両親媒性の陽電荷ヘリックス構造** を持ち、細胞膜に結合して孔形成や膜崩壊を誘導します。一部は DNA やタンパク質など細胞内標的も阻害します。さらに、近年は **\*\*ホスト防御ペプチド（HDP）\*\*** としての免疫調節作用（ケモタキシス誘導、サイトカイン調整、血管新生促進）も注目されています。

## 3. 疾患防御

両生類の世界的な個体数減少の原因の一つである **カエルツボカビ症（Chytridiomycosis, Bd 感染）** に対し、AMP は強い抗真菌作用を示すことが報告されています。皮膚 AMP の合成能力が高い種や個体ほど感染耐性が強く、両生類の生存戦略に直結しています。

## 4. 創傷治癒・再生

AMP は単なる抗菌因子にとどまらず、**創傷治癒と再生を促進する分子**として研究が進んでいます。

- **Esculentin-1a(1-21)NH<sub>2</sub>**：EGFR を活性化し角化細胞の遊走を促進。
- **Temporin A/B**：角化細胞遊走促進と MRSA 殺菌を両立。
- **Brevinin-2 系**：線維芽細胞遊走を誘導し、ラット皮膚創傷で治癒促進。
- **Odorrana 属由来ペプチド（OA-RD17, OA-GP11d, CW49, AH90 など）**：血管新生促進や TGF-β1 誘導を介して治癒を加速。

AMP は炎症期の制御、増殖期での細胞遊走・増殖、リモデリング期の組織成熟といった**創傷治癒の全段階**に寄与することが示されています。

## 5. 今後の展開

1. **薬理学的改良**：D 体化やシクロ化による安定性向上。
2. **ドラッグデリバリー**：ナノ粒子やハイドロゲルとの複合化。
3. **臨床応用**：耐性菌感染や慢性創傷治療薬への展開。
4. **生態学的応用**：Bd 感染対策や飼育下両生類の健康管理。

## 6. 発生・分化、炎症-再生への関与

AMP が**\*\*発生そのもの（胚の器官形成）\*\***を直接制御する証拠はまだ限定的ですが、

- 皮膚細胞の分化後における **EGFR シグナル**を介した遊走促進、
  - **TGF-β 経路**や血管新生の調整による組織リモデリング、
  - 制御性マクロファージや T 細胞との相互作用による炎症収束、
- などを通じて **炎症-再生過程**に深く関与していることが明らかになっています。

# Amphibian Antimicrobial Peptides: From Pathogen Defense to Wound Healing and Regeneration

---

## 1. Overview

The skin of amphibians contains well-developed granular glands that synthesize and store a wide variety of antimicrobial peptides (AMPs). Representative examples include **magainins**, **dermaseptins**, **temporins**, **brevinins**, **esculentins**, **caerins**, **bombinins**, and **pseudins**, which exhibit broad-spectrum antimicrobial activity against bacteria, fungi, and viruses, while also functioning as a frontline component of innate immunity.

---

## 2. Mechanisms of Action

Most AMPs possess **cationic, amphipathic helical structures**, allowing them to bind to microbial membranes and induce pore formation or membrane disruption. Some also inhibit intracellular targets such as DNA and proteins. In recent years, attention has been drawn to their role as **host defense peptides (HDPs)**, with immunomodulatory effects such as **chemoattraction**, **cytokine regulation**, and **angiogenesis promotion**.

---

## 3. Pathogen Defense

One of the major causes of global amphibian population decline is **chytridiomycosis (Bd infection)**. Amphibian AMPs have been reported to exhibit potent antifungal activity against Bd. Species and individuals with a greater capacity to produce skin AMPs show stronger resistance to infection, linking AMP production directly to amphibian survival strategies.

---

## 4. Wound Healing and Regeneration

AMPs are not merely antimicrobial agents but have also been studied as **molecules that promote wound healing and regeneration**.

- **Esculentin-1a(1-21)NH<sub>2</sub>**: Activates EGFR and promotes keratinocyte migration.
- **Temporin A/B**: Stimulates keratinocyte migration while simultaneously killing MRSA.
- **Brevinin-2 family**: Induces fibroblast migration and accelerates wound healing in rat skin.
- **Odorrana-derived peptides** (OA-RD17, OA-GP11d, CW49, AH90, etc.): Promote angiogenesis and TGF-β1 induction, thereby accelerating healing.

AMPs contribute to **all stages of wound healing**: regulation of inflammation, promotion of cell migration and proliferation during the proliferative phase, and tissue maturation during the remodeling phase.

---

## 5. Future Perspectives

1. **Pharmacological optimization**: Enhanced stability through D-amino acid substitution or cyclization.
  2. **Drug delivery**: Combination with nanoparticles or hydrogels.
  3. **Clinical applications**: Development of therapies for resistant bacterial infections and chronic wounds.
  4. **Ecological applications**: Countermeasures against Bd infection and maintenance of amphibian health in captivity.
- 

## 6. Roles in Development, Differentiation, and Inflammation-Regeneration

Although direct evidence that AMPs regulate **embryonic development or organogenesis** is still limited, accumulating findings indicate their involvement in inflammation-regeneration processes through:



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





- **EGFR-mediated promotion of keratinocyte migration** after skin differentiation,
- **TGF- $\beta$  signaling and angiogenesis regulation** for tissue remodeling,
- **Interactions with regulatory macrophages and T cells** that promote resolution of inflammation.

Together, these findings highlight AMPs as important mediators bridging inflammation and regeneration.

## 参考文献 References

1. Rollins-Smith LA. Amphibian immune defenses against chytridiomycosis: impacts of changing environments. *Dev Comp Immunol*. 2023;141:104609.
2. Zasloff M. Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987;84(15):5449–5453.
3. Bartels EJH, Dekker D, Amiche M, Simmaco M. Dermaseptins, multifunctional antimicrobial peptides from amphibian skin secretions. *Molecules*. 2019;24(23):4360.
4. Demori I, Rashed Z, Corradino V, Catalano A, Rovegno L, Queirolo L, Salvidio S, Biggi E, Zanotti-Russo M, Canesi L. Peptides for skin wound healing from amphibians. *Molecules*. 2019;24(20):3470.
5. Yin S, Huang X, Huang S, Xu X, Xu W. Amphibian skin-derived wound-healing peptides: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Front Pharmacol*. 2023;14:1198774.
6. Wang X, Sun Z, Shao K, Chen J. Amphibian-derived antimicrobial peptides in skin wound healing: molecular targets and clinical potential. *Front Cell Dev Biol*. 2023;11:1165483.
7. Di Grazia A, Cappiello F, Casciaro B, Luca V, Pini A, Pini R, Mangoni ML. The frog skin-derived peptide Esculentin-1a(1-21)NH<sub>2</sub> promotes re-epithelialization of wounds by acting on human keratinocytes. *PLoS One*. 2015;10(6):e0131994.
8. Di Grazia A, Cappiello F, Imanishi A, Mastrofrancesco A, Picardo M, Mangoni ML. Temporin A and B stimulate keratinocyte migration and counteract intracellular bacterial infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(5):2520–2527.
9. Liu S, Chen Y, Li H, Zhang J, Guo L, Zhang Y, Yu H, Zhang Y. Brevinin-2Ta promotes cutaneous wound healing in rats. *Oncotarget*. 2017;8(61):103725–103739.
10. Li C, Wang S, Chen Y, Xu Y, Luo X, Chen Y, Wu J. Frog-derived peptide OA-RD17 accelerates cutaneous wound healing by modulating keratinocyte and fibroblast responses. *Cell Biosci*. 2023;13(1):47.
11. Robert J, Ohta Y. Comparative and developmental study of the immune system in *Xenopus*. *Dev Dyn*. 2009;238(6):1249–1270.
12. Grogan LF, Robert J, Berger L, Skerratt LF, Scheele BC, Castley JG, Newell DA, McCallum HI. Review of the amphibian immune response to chytridiomycosis, and future directions. *Biol Rev*. 2018;93(1):113–130.
13. Benítez-Prián M, García FA, Taboada AG, Aráoz R, Durán S, Faivovich J. Diversity of antimicrobial peptides in caecilian amphibians (*Gymnophiona*). *Toxins*. 2024;16(3):147.
14. García FA, et al. Patents on amphibian antimicrobial peptides: trends and perspectives. *J Nat Prod*. 2024;87(5):1012–1025.



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
 ※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



# カエル由来抗菌ペプチドと CCR/CCL 経路

## 1. 背景

両生類の皮膚は外界に直接さらされるため、微生物感染に対する強力な一次防御システムを備えています。特にカエルでは、顆粒腺から分泌される抗菌ペプチド（AMP）が重要な役割を果たし、**magainins, dermaseptins, esculentins, temporins** など多様なファミリーが報告されています。これらは従来、膜透過性の抗菌作用を中心に研究されてきましたが、近年は **宿主免疫の調節因子（Host Defense Peptides, HDP）** としての側面が注目されつつあります。

## 2. CCR/CCL 系との関連

哺乳類において、\*\*CCL（ケモカインリガンド）は免疫細胞の走化性を誘導し、その受容体である CCR（ケモカイン受容体）\*\*を介してシグナルを伝えます。カエル由来の一部 AMP は、このケモカイン系と類似した作用を示すことが分かってきました。

- **Dermaseptins**（Phyllomedusa 属由来）：抗菌作用に加え、ヒト免疫細胞を遊走させる効果が報告されており、**CCL 様の化学誘引因子**として機能する可能性が示されています。
- **Esculentin-1a(1-21)**（Rana 属由来）：角化細胞や好中球を刺激し、EGFR 経路とあわせて免疫細胞遊走を強化する。これらの作用は CCR 受容体を介するケモカイン経路と重なります。

このように、AMP が直接または間接的に **CCR を介した免疫細胞のリクルート**を調整する点が注目されています。

## 3. 生理的意義

カエルの AMP が CCR/CCL 系と結びつくことには以下のような意義があります：

### 1. 感染防御の強化

抗菌作用に加えて、免疫細胞を損傷部位や病原体侵入部位へ呼び寄せることで、早期の免疫応答を確立する。

### 2. 炎症と再生の橋渡し

適度な免疫細胞リクルートは炎症収束と組織修復に寄与する。AMP が CCR/CCL 経路を通じて再生期への移行を助けている可能性がある。

### 3. 進化的視点

AMP が単なる「抗菌分子」から「ケモカイン様免疫調節因子」へと多機能化していることは、両生類の高い再生能力や病原体抵抗性の背景を理解する手がかりとなる。

## 4. 今後の展開

- **創薬応用**：カエル由来 AMP をモデルにした「ケモカイン様合成ペプチド」が、創傷治癒や免疫調整薬の候補となりうる。
- **再生医療**：CCR/CCL 経路を介した免疫制御が、哺乳類における組織再生促進に応用可能か検証する必要がある。
- **比較免疫学**：両生類と哺乳類の CCR/CCL 系の機能比較は、免疫と再生の進化的関係を理解する上で重要である。

## 5. 結論

カエル由来抗菌ペプチドは、従来の「病原体を殺す分子」という理解を超えて、**CCR/CCL 系を介した免疫細胞動員と炎症制御**に関与することが示唆されています。これは、両生類に特徴的な高い再生能力とも結びつき、今後の再生医療や免疫療法の基盤知見を提供する可能性を秘めています。

# Amphibian Antimicrobial Peptides: From Pathogen Defense to Wound Healing and Regeneration

---

## 1. Overview

The skin of amphibians contains well-developed granular glands that synthesize and store a wide variety of antimicrobial peptides (AMPs). Representative families include **magainins, dermaseptins, temporins, brevinins, esculentins, caerins, bombinins, and pseudins**. These AMPs not only exhibit broad-spectrum antimicrobial activity against bacteria, fungi, and viruses but also function as a frontline component of innate immunity.

---

## 2. Mechanisms of Action

Most AMPs adopt **cationic, amphipathic helical structures**, enabling them to bind to microbial membranes and induce pore formation or membrane disruption. Some AMPs also target intracellular molecules such as DNA and proteins. More recently, attention has focused on their roles as **host defense peptides (HDPs)**, highlighting immunomodulatory functions such as **chemoattraction, cytokine regulation, and angiogenesis promotion**.

---

## 3. Pathogen Defense

One of the major causes of global amphibian population declines is **chytridiomycosis (caused by *Batrachochytrium dendrobatidis*, Bd infection)**. Amphibian AMPs have been reported to possess potent antifungal activity against Bd. Importantly, species and individuals with higher capacity to produce skin AMPs display stronger resistance to infection, directly linking AMP activity to amphibian survival strategies.

---

## 4. Wound Healing and Regeneration

AMPs are not merely antimicrobial agents; they also act as **molecules that promote wound healing and tissue regeneration**.

- **Esculentin-1a(1-21)NH<sub>2</sub>**: Activates EGFR signaling and promotes keratinocyte migration.
- **Temporin A/B**: Stimulates keratinocyte migration while simultaneously killing MRSA.
- **Brevinin-2 family**: Induces fibroblast migration and accelerates wound healing in rat skin.
- **Odorrana-derived peptides** (OA-RD17, OA-GP11d, CW49, AH90, etc.): Accelerate healing by enhancing angiogenesis and inducing TGF-β1.

Collectively, AMPs contribute to **all phases of wound healing**—regulation of inflammation, stimulation of cell migration and proliferation in the proliferative phase, and tissue remodeling in the maturation phase.

---

## 5. Future Perspectives

- **Pharmacological optimization**: Improving stability through D-amino acid substitution, cyclization, or terminal modifications.
  - **Drug delivery**: Developing formulations with nanoparticles or hydrogels to enhance local concentration and stability.
  - **Clinical applications**: Potential use in treating resistant bacterial infections and chronic wounds.
  - **Ecological applications**: Counteracting Bd infections and supporting amphibian health in captive populations.
-

## 6. Roles in Development, Differentiation, and Inflammation-Regeneration

Direct evidence that AMPs regulate **embryonic development or organogenesis** remains limited. However, growing evidence supports their involvement in **post-differentiation and regenerative contexts**, such as:

- **EGFR-mediated stimulation of keratinocyte migration** after skin differentiation.
- **TGF- $\beta$  signaling modulation and angiogenesis**, facilitating tissue remodeling.
- **Interactions with regulatory macrophages and T cells**, promoting resolution of inflammation.

Through these mechanisms, AMPs are increasingly recognized as **key regulators bridging inflammation and regeneration** in amphibians.

## 参考文献 References

1. Zasloff M. Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987;84(15):5449–5453.
2. Nicolas P, El Amri C. The dermaseptin superfamily: a gene-based combinatorial library of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1788(8):1537–1550.
3. Mangoni ML, Di Grazia A, Cappiello F, Casciaro B, Luca V. Naturally occurring peptides from *Rana temporaria*: antimicrobial properties and more. *Curr Top Med Chem*. 2016;16(1):54–64.
4. Di Grazia A, Cappiello F, Casciaro B, Luca V, Pini A, Pini R, Mangoni ML. The frog skin-derived peptide Esculentin-1a(1-21)NH<sub>2</sub> promotes re-epithelialization of wounds by acting on human keratinocytes. *PLoS One*. 2015;10(6):e0131994.
5. Rollins-Smith LA, Ramsey JP, Pask JD, Reinert LK, Woodhams DC. Amphibian immune defenses against chytridiomycosis: impacts of changing environments. *Integr Comp Biol*. 2011;51(4):552–562.
6. Grogan LF, Robert J, Berger L, Skerratt LF, Scheele BC, Castley JG, Newell DA, McCallum HI. Review of the amphibian immune response to chytridiomycosis, and future directions. *Biol Rev*. 2018;93(1):113–130.
7. Demori I, Rashed Z, Corradino V, Catalano A, Rovegno L, Queirolo L, Salvadio S, Biggi E, Zanotti-Russo M, Canesi L. Peptides for skin wound healing from amphibians. *Molecules*. 2019;24(20):3470.
8. Yin S, Huang X, Huang S, Xu X, Xu W. Amphibian skin-derived wound-healing peptides: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Front Pharmacol*. 2023;14:1198774.



# 両生類における抗菌ペプチドと免疫・再生

## 1. 抗菌ペプチドによるバリア機構

両生類の皮膚には顆粒腺が発達し、\*\*抗菌ペプチド(AMP)\*\*が豊富に分泌される。Magainin, Dermaseptin, Esculentin, Brevinin, Catesbeianalactin (CBL) などが代表的であり、細菌・真菌・ウイルスに対する広域な抗菌作用を示す。

AMP は単なる「天然抗生物質」ではなく、\*\*膜破壊モデル(樽型孔形成、カーペットモデルなど)\*\*に基づく殺菌作用を持つと同時に、免疫細胞のシグナル調節因子としても機能する。

## 2. Defensin と Cathelicidin

AMP の代表的ファミリーである **Defensin** と **Cathelicidin** は進化的に保存されており、両生類でも発現が確認されている。これらは **システイン結合による安定構造**を有し、直接的な殺菌作用に加え、**TLR(Toll-like receptor)**や **CCR/CCL系ケモカイン経路**とクロストークし、自然免疫と獲得免疫の架け橋として働く。

## 3. CCR/CCL/TLR の関連

両生類のゲノムには、AMP 応答と連動する免疫関連遺伝子が同定されている。

- **CCR(C-C chemokine receptor)**: Ccr1, 4, 5, 6, 7, 9 など
- **CCL(C-C chemokine ligand)**: Ccl3, 5, 19, 25, 28 など
- **TLR(Toll-like receptor)**: Tlr1, 2, 5, 7, 8, 13, 21

AMP の作用は、単に病原体の破壊にとどまらず、CCR/CCL を介して免疫細胞の遊走を制御し、TLR 経路と連動して炎症応答を調節することが示唆される。

## 4. 免疫マーカーと血球分化

両生類では B 細胞・T 細胞・NK 細胞・マクロファージなどの表面分子が解析され、**CCR5, CXCR3, GZMB, ICAM-5, CD44, Integrin, C5aR** などが確認されている。これらは AMP 応答や炎症期の細胞浸潤に関与する。

さらに、**再生過程での血球遺伝子発現解析**では、AMP 関連遺伝子と炎症・粘膜因子が損傷後に上昇することが示されており、再生環境において免疫応答が積極的に関与している。

## 5. アホロートルの感染防御と再生

アホロートルは Bd 感染や細菌感染に対して比較的高い抵抗性を示し、その要因として **抗菌ペプチドの発現亢進**、**CCR/CCL/TLR の誘導**が挙げられる。スライド資料では、尾切断や汚染環境下で AMP と免疫遺伝子が強く誘導されることが示されていた。

また、粘膜(ムチン)による物理的バリアと AMP が協働し、感染防御と再生環境を整えている。

## 6. 胸腺移植と免疫制御

胸腺は T 細胞分化の場であり、両生類における免疫・再生能力に影響を与える。実験的にアホロートルに**アフリカツメガエル**や**イベリアトゲイモリ**の胸腺を移植すると、炎症応答が低下し、AMP の発現上昇が観察された。

このことは、**胸腺の由来によって炎症応答や免疫寛容の度合いが変化し、AMP 発現が調整される**ことを示している。再生医療や移植免疫の観点から重要な知見である。

## 7. 今後の展望

- **AMP を利用した再生医療:** AMP の免疫調整作用を応用し、ヒトにおける炎症制御や創傷治癒促進を目指す。
  - **胸腺移植と免疫再構築:** 両生類モデルを用いた胸腺移植研究は、移植免疫学や免疫寛容の理解に貢献する。
  - **進化的比較研究:** 両生類特有の AMP-免疫クロストーク機構を、哺乳類と比較することで「なぜ両生類は高い再生能を保持するのか」を解明できる。
-

# Amphibian Antimicrobial Peptides in Immunity and Regeneration

---

## 1. Barrier Mechanisms of Antimicrobial Peptides

The skin of amphibians possesses well-developed granular glands that secrete abundant **antimicrobial peptides (AMPs)**. Representative examples include **magainins, dermaseptins, esculentins, brevinins, and catesbeianalactin (CBL)**, which exhibit broad-spectrum antimicrobial activity against bacteria, fungi, and viruses. AMPs are not merely “natural antibiotics.” They exert bactericidal effects based on **membrane disruption models** (such as the barrel-stave model and the carpet model), while also functioning as regulators of immune cell signaling.

---

## 2. Defensins and Cathelicidins

Defensins and cathelicidins, representative AMP families, are evolutionarily conserved and are also expressed in amphibians. These peptides possess **stable structures formed by disulfide bonds** and, in addition to direct antimicrobial activity, engage in crosstalk with **TLRs (Toll-like receptors)** and the **CCR/CCL chemokine pathways**, thereby acting as a bridge between innate and adaptive immunity.

---

## 3. CCR/CCL/TLR Pathways

Amphibian genomes harbor immune-related genes associated with AMP responses:

- **CCR (C-C chemokine receptors):** Ccr1, 4, 5, 6, 7, 9
- **CCL (C-C chemokine ligands):** Ccl3, 5, 19, 25, 28
- **TLR (Toll-like receptors):** Tlr1, 2, 5, 7, 8, 13, 21

The effects of AMPs extend beyond direct pathogen destruction; they are suggested to regulate immune cell migration through CCR/CCL signaling and to coordinate inflammatory responses via TLR pathways.

---

## 4. Immune Markers and Hematopoietic Differentiation

In amphibians, surface molecules of B cells, T cells, NK cells, and macrophages have been identified, including **CCR5, CXCR3, GZMB, ICAM-5, CD44, integrins, and C5aR**. These molecules participate in AMP-mediated responses and cell infiltration during inflammation.

Furthermore, gene expression analyses during regeneration have shown that AMP-related genes, along with inflammatory and mucosal factors, are upregulated following tissue injury, indicating that immune responses actively contribute to the regenerative microenvironment.

---

## 5. Infection Defense and Regeneration in Axolotls

Axolotls exhibit relatively high resistance to Bd infection and bacterial challenges. This resistance is attributed to **upregulated AMP expression** and the **induction of CCR/CCL/TLR pathways**. Slide data indicated that AMP and immune gene expression are strongly induced after tail amputation or exposure to polluted environments.

In addition, AMPs act in cooperation with mucins, which provide a physical barrier, to maintain infection defense and support regeneration.

---

## 6. Thymus Transplantation and Immune Regulation

The thymus is the site of T cell differentiation and strongly influences immune and regenerative capacity in amphibians. Experimental transplantation of thymuses from **African clawed frogs (Xenopus)** or **Iberian newts** into axolotls resulted in reduced inflammatory responses and increased AMP expression.



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



These findings suggest that the origin of the thymus modulates the degree of inflammatory response and immune tolerance, thereby regulating AMP expression. This represents an important insight for regenerative medicine and transplant immunology.

---

## 7. Future Perspectives

- **Regenerative medicine using AMPs:** Applying the immunomodulatory functions of AMPs to promote inflammation control and wound healing in humans.
- **Thymus transplantation and immune reconstruction:** Using amphibian models of thymus transplantation to advance understanding of transplant immunology and immune tolerance.
- **Evolutionary comparative studies:** Elucidating why amphibians retain high regenerative capacity by comparing their unique AMP–immune crosstalk mechanisms with those in mammals.

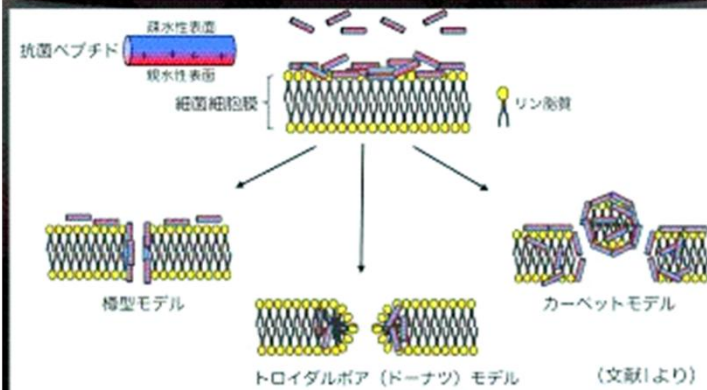


## 抗菌ペプチド：魔弾の正体

- 種々の細菌・真菌類に対して広範囲に作用し、殺菌もしくは増殖抑制（静菌）効果を示す。
- 微生物から昆虫、魚類や哺乳類まで、広く、多くの生物種に存在する。
- 遺伝子発現は全身的に検出できるが、両生類では特に皮膚で強く発現し、またペプチドレベルでも大量に存在する。
- “抗菌ペプチド特有”のコンセンサス配列はないが、十～数十アミノ酸残基から構成され、疎水性のLeuやIleを含み両親媒性であるとともに、LysやArgを含み正電荷を帯びている。

06

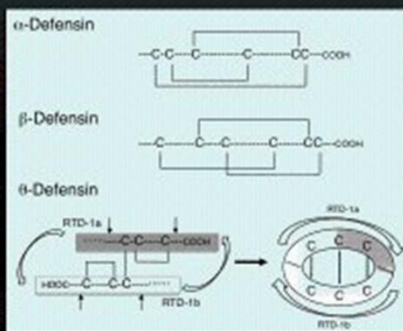
## 抗菌ペプチドによる細菌細胞膜の破壊作用機序



08

## DefensinとCathelicidin

- ともに代表的な抗菌ペプチド。Defensinは植物にも存在する。
- SS結合をもつDefensin、直鎖状であるCathelicidin。
- しかし、両生類ではともにほぼ出番なし。独自の路線をいく。

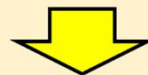


（文献1より）

11

## 抗菌ペプチド“Defensin”関連因子

DEFB, DEFB, **Ccr**, **TLR**



CCR: C-C Motif Chemokine

[CCR related genes - GeneCards Search Results](#)

[Axolotl Ccr: Ccr1, 4, 5, 6, 7, 9](#)

CCL: C-C Motif Chemokine Ligand

[CCL related genes - GeneCards Search Results](#)

[Axolotl Ccl: Ccl3, 5, 19, 25, 28](#)

TLR: Toll Like Receptor

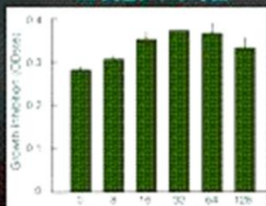
[TLR related genes - GeneCards Search Results](#)

[Axolotl TLR: TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21](#)

## ウシガエル抗菌ペプチドの例: catesbeianalctin (CBL)

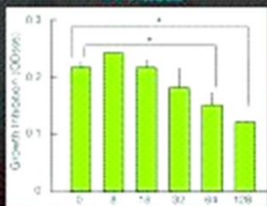
### CBLの抗菌活性

vs 黄色ブドウ球菌

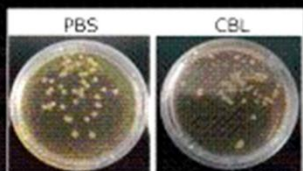


（文献6より）

vs 大腸菌



\* p < 0.05

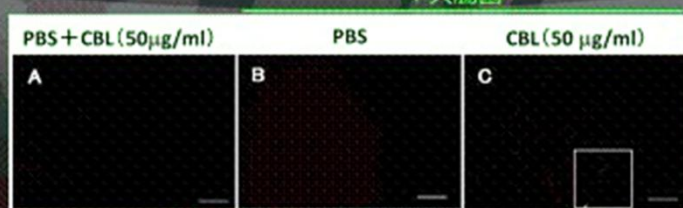


ペプチド処理後に菌が生える  
↓  
菌は生きているので  
静菌的に作用

22

### CBLによる大腸菌凝集作用

+ 大腸菌



CTCで生きた大腸菌を赤い色に標識。

黄色ブドウ球菌でも確認

（文献7より）

CBLは細菌を1箇所に集め、他の抗菌ペプチドとともに、攻撃する！

24

両生類は魔弾の射手 | 生物学科 | 東邦大学 (toho-u.ac.jp)

図 1: 両生類における抗菌ペプチドによるバリア

Fig.1: Barrier by antimicrobial peptides in amphibians



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。

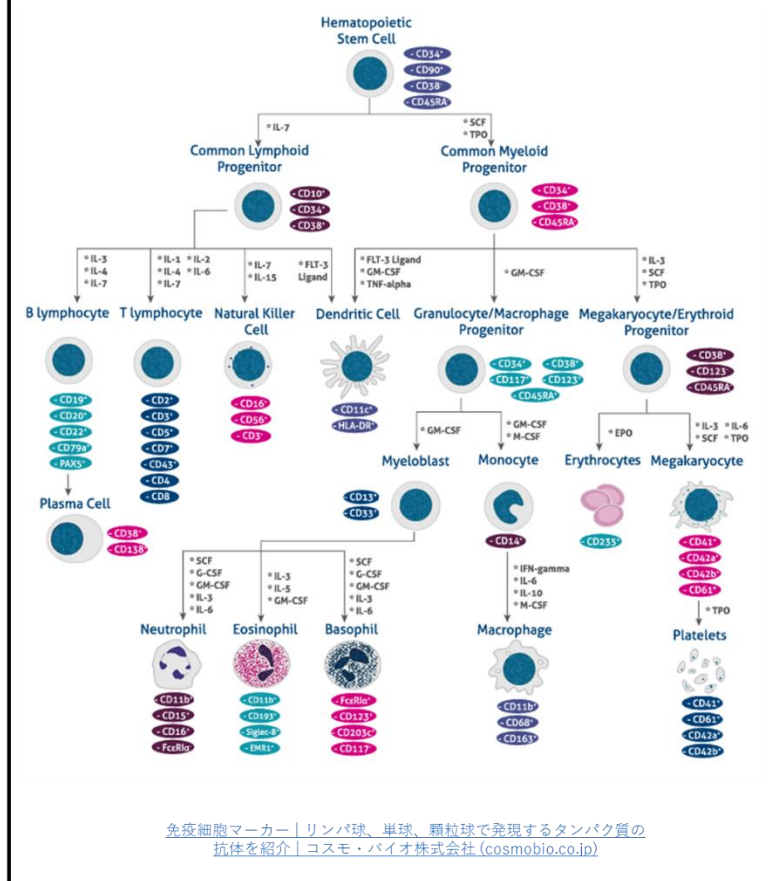


## 【免疫細胞の関連因子一覧】

※ ヒトとアホロートル間の比較

B細胞表面分子		MS4A12, MS4A15	
T細胞 マーカー	■ ヘルパーT細胞	MME	
		CCR5	
		CXCR3	
	■ NK細胞	Integrin	
		GZMB	
		NCAM1	
Tia1			
白血球   単球マーカー	■ マクロファージ	Integrin	
	■ 樹状細胞	CLEC4 (g/e/f/m/g)	
		TRPM2	
白血球   顆粒球マーカー	■ 好塩基球	ICAM-5	
		CD44	
	TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21		
		■ 好酸球	C5aR
			CXCR3
		■ 好中球	C5aR
MME			
その他	■ マスト細胞	Singlec 1, 9, 11, 15	
		Integrin	
		Tfrc	
	■ 巨核球	Gp1ba	
		Integrin	
	■ 赤血球	HBA1	
		Integrin	
	■ 骨髄由来免疫抑制細胞	Singlec 1, 9, 11, 15	
FLT-1			
		ortholog (相同因子)	
		related genes (関連因子)	

## 参考: ヒトの免疫細胞とそのマーカー





## 炎症・ストレス関連因子

TNF $\alpha$ , HIF1 $\alpha$ , NF $\kappa$ B, MAPK, Caspaase, IL (1, 6), HSP90, GATA1

## 抗菌ペプチド

Ccr (Ccr1, 4, 5, 6, 7, 9), Ccl (Ccl3, 5, 19, 25, 28), TLR (TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21)

## 粘膜 (ムチン) 関連因子

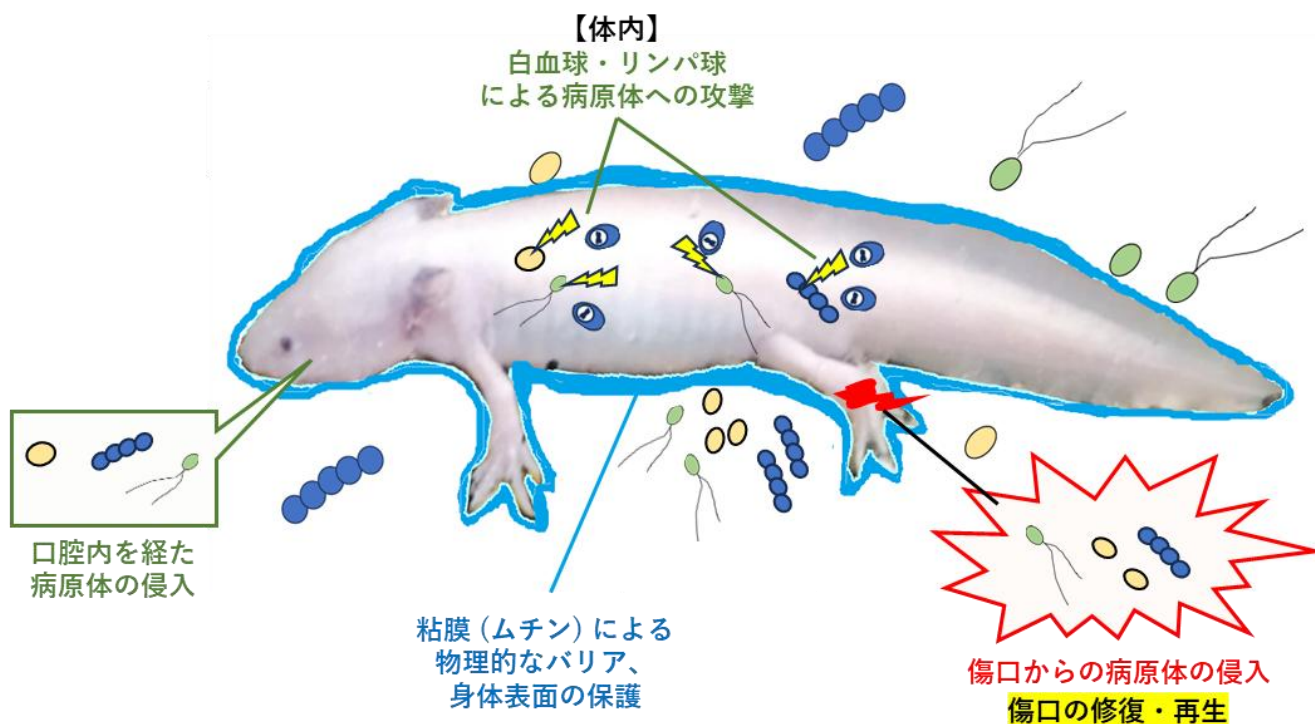
Integrin, HSPG, GALNS, Sulf, collagen, THBS, PECAM1, CXCR4, ECM, ArsB, ArsG, Ids

## 血球 (および 免疫細胞) マーカー

MS4A12, MS4A15, MME, CCR5, CXCR3, Integrin, GZMB, NCAM1, Tia1, CXCR3, CLEC4, (g/e/f/m/g), TRPM2, ICAM-5, CD44, TLR (TLR1, 2, 5, 7, 8, 13, 21), C5aR, CD44, Singlec (Singlec 1, 9, 11, 15), Tfr, Gp1ba, HBA1, Integrin, FLT-1

## 再生・発生 関連因子

KDR, PDGFR- $\alpha$ , VEGF-A, Yap, GATA4, FGF-8, GDF5, FGF (FGF2, 21, 23), FGFR, EGF, EGFR, TGF- $\beta$ 2, HGF (Hepatocyte Growth Factor), AKT1, AKT2, CDK4, CDK6

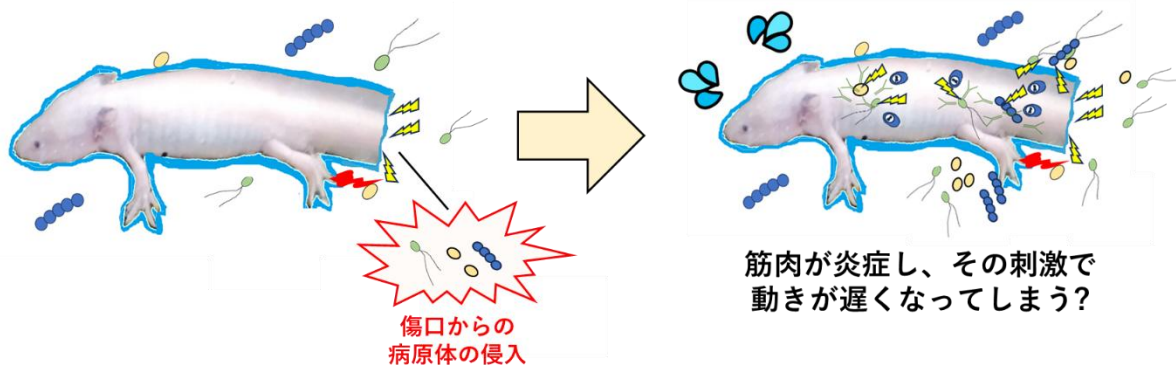


健康な状態の生体の場合、その周囲に雑菌や濾過バクテリアは存在しているものの、生体の粘膜や免疫応答で十分対応可能な範疇であり、この状態を安定して保持ができれば長期間安定的に生体を維持することが可能となる。

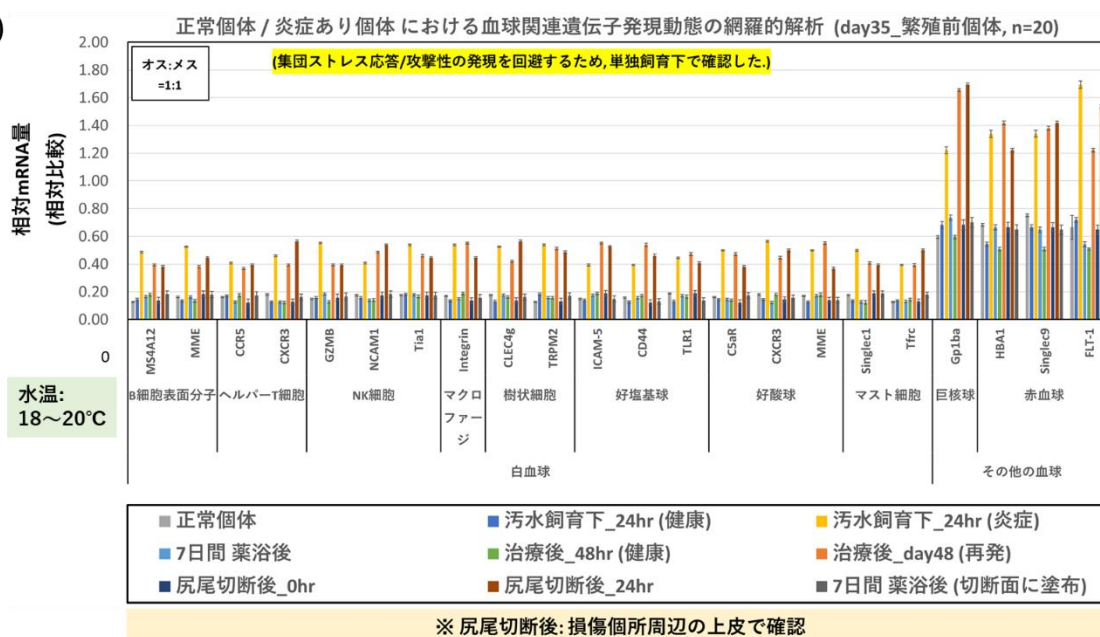
Fig.3: アホロートルの感染源への抵抗性と関連因子まとめ

Fig.3: Summary of axolotl resistance to infection sources and related factors

## (A) 尾部の損傷が機械的な運動性以外に影響を与えている可能性



## (B)



## (C)

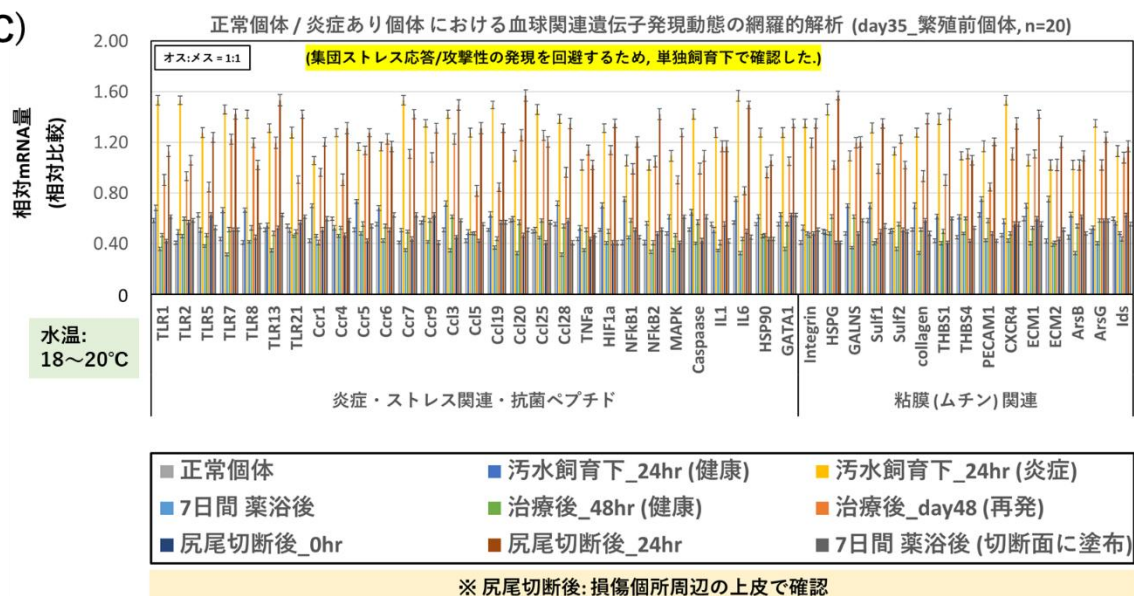
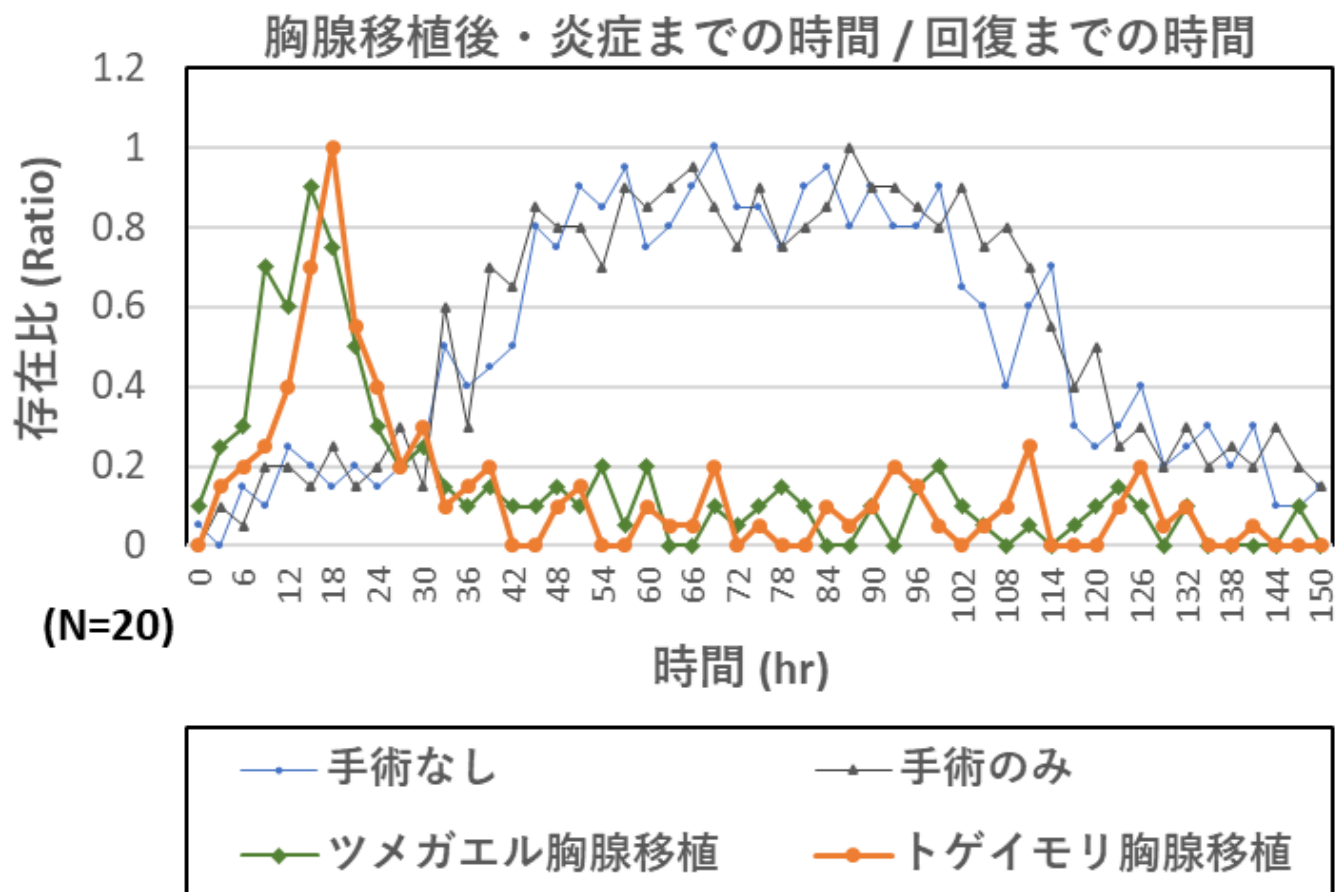


図 4: 両性類における抗菌ペプチドによるバリア

Fig.4: Barrier by antimicrobial peptides in amphibians





※専門家に依頼。ドナー・レシピエントいずれもすぐに再生し、健康的。

※ Commissioned to specialists. Both donor and recipient regenerated quickly and remained healthy.

**図 5 (Fig.5)**

アホートル胸腺移植個体 vs イベリアトゲイモリの胸腺移植個体 (炎症条件での炎症性低下)

vs アフリカツメガエルの胸腺移植個体 (炎症条件での炎症性低下)

vs 移植操作はしたが胸腺自体は入れ替えていない個体

→ 炎症性は低下したが、運動性には大きな違いは見られない (炎症は運動性への影響はあまりない)

免疫力は胸腺の移植で UP するが、それ自体は運動性には寄与しない。

抗菌ペプチドの発現は上昇する。免疫応答は強まる (発現上昇までの速さが変わる。)

**Axolotl thymus-transplanted individuals vs Iberian ribbed newt thymus-transplanted individuals (reduced inflammation under inflammatory conditions) vs African clawed frog thymus-transplanted individuals (reduced inflammation under inflammatory conditions) vs individuals subjected to the transplantation procedure without actual thymus replacement**

→ Inflammation was reduced, but no major differences in locomotor activity were observed

(suggesting that inflammation itself has little effect on locomotion).

→ Immunity is enhanced by thymus transplantation, but this alone does not contribute to locomotor activity.

→ Expression of antimicrobial peptides increases. Immune responses are strengthened (the speed at which expression is induced changes).

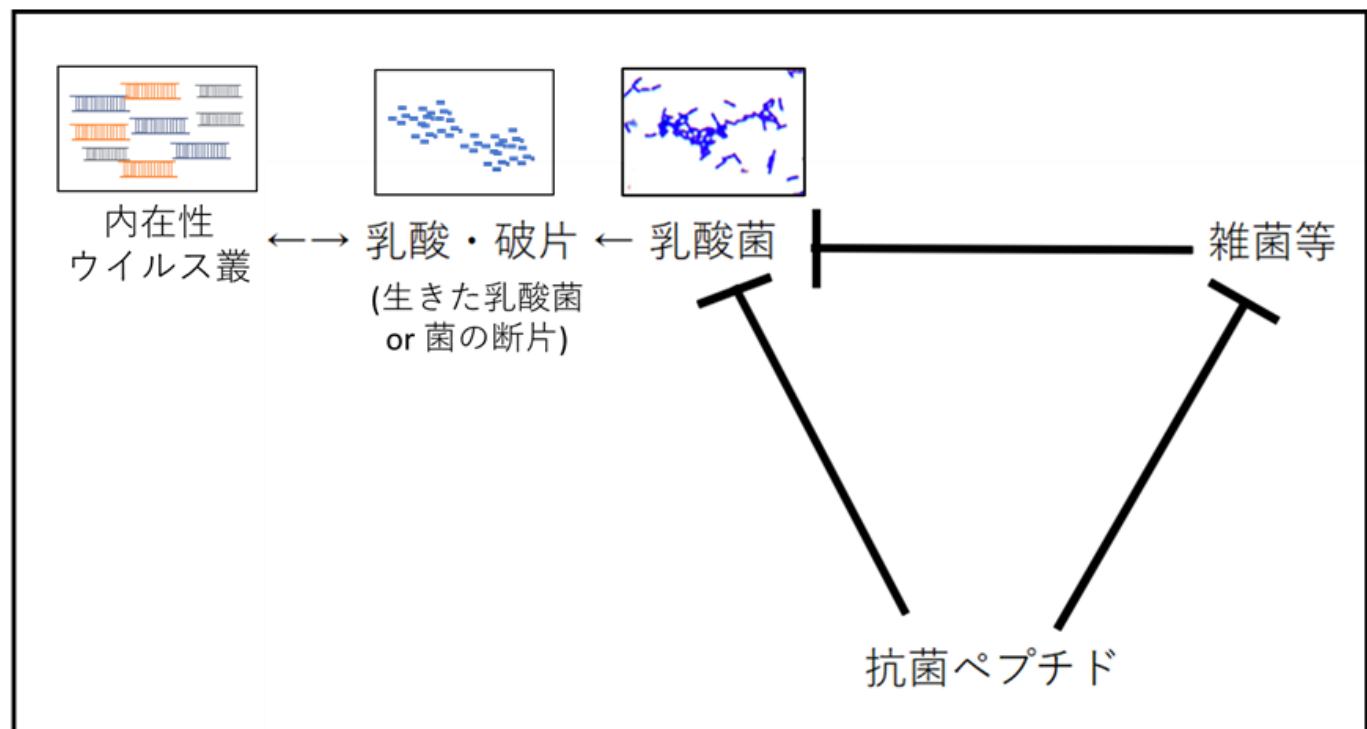
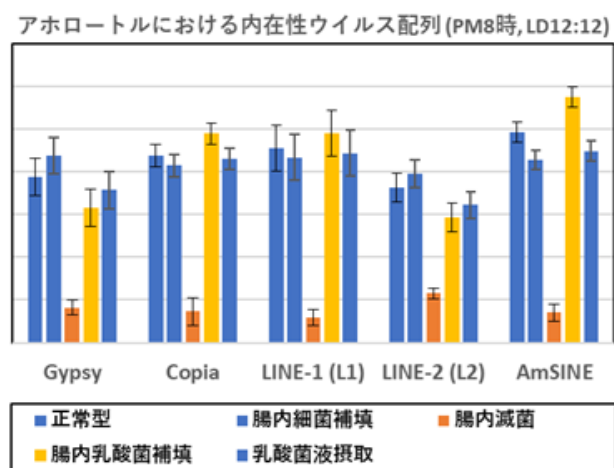
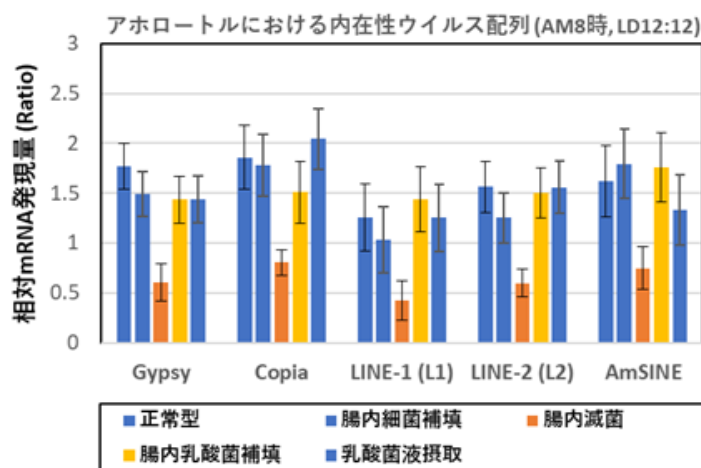
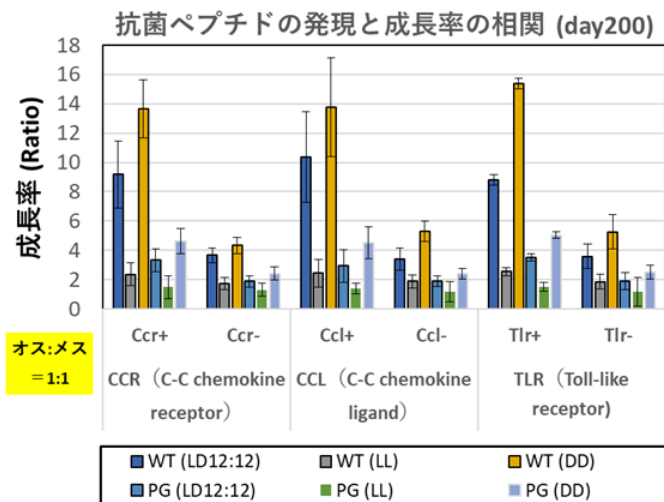
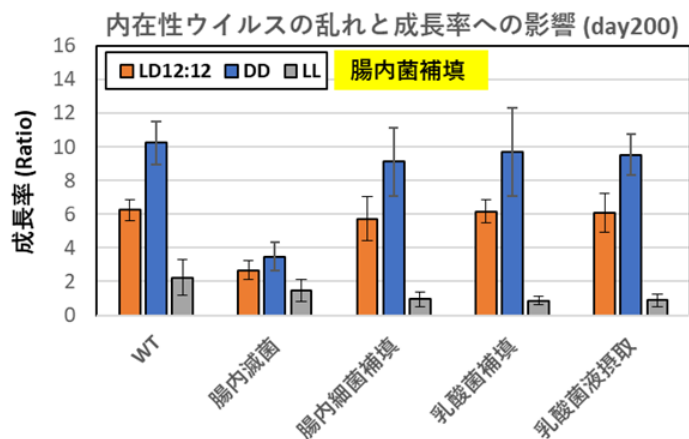


図 6: 腸内乳酸菌を補填した際の抗菌ペプチドの成長制御への関与

Fig. 6: Involvement of Antimicrobial Peptides in Growth Regulation upon Supplementation with Intestinal Lactic Acid Bacteria.

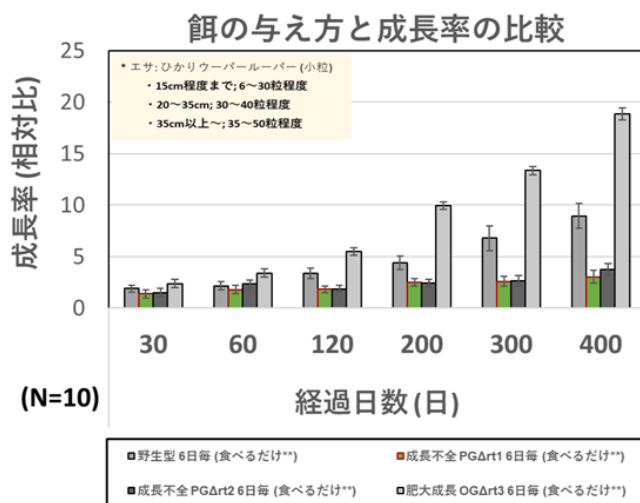
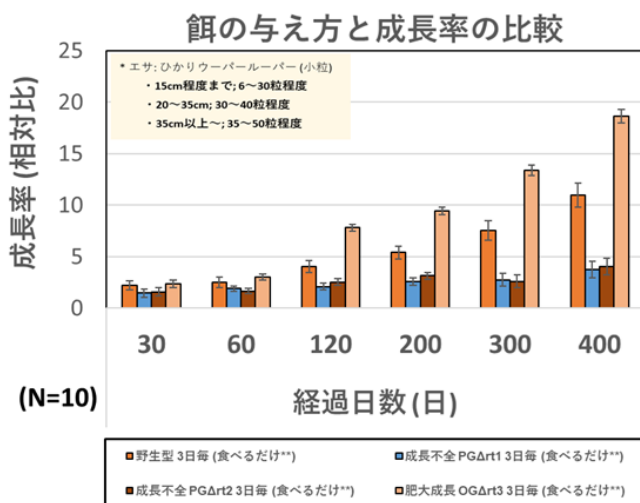
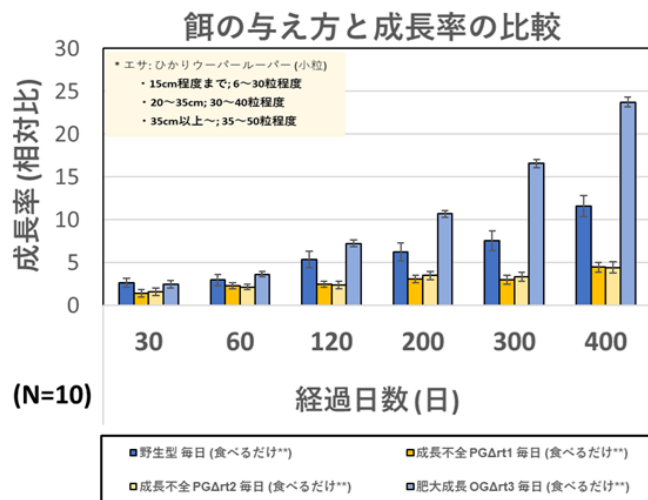
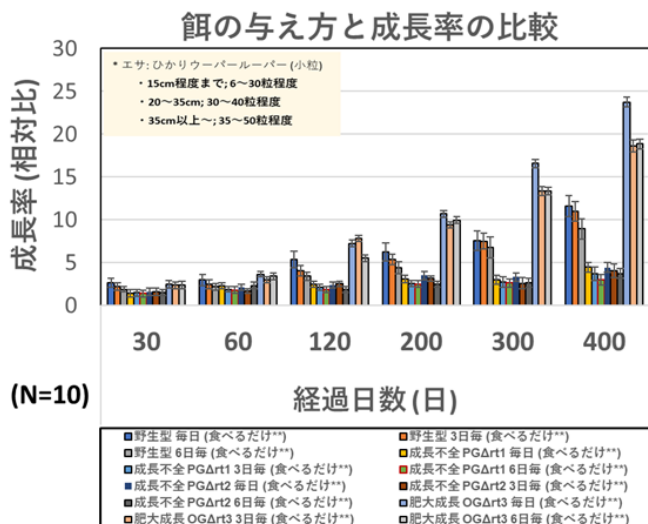


図 7: 餌の摂取量と成長率比較 1

Fig. 7: Comparison of Feed Intake and Growth Rate 1

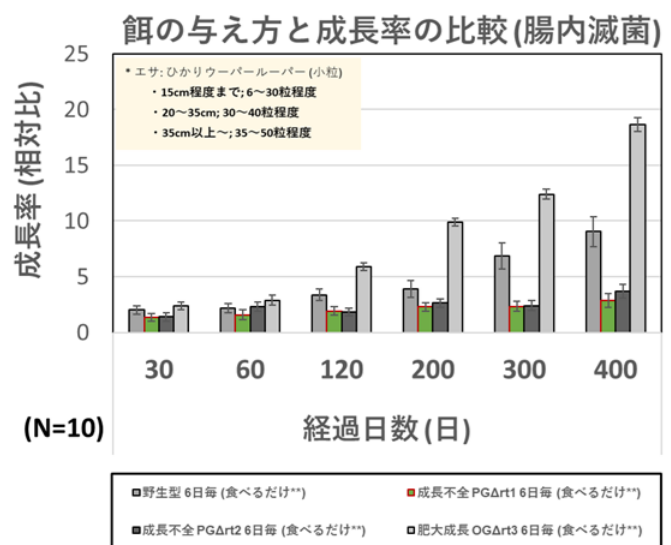
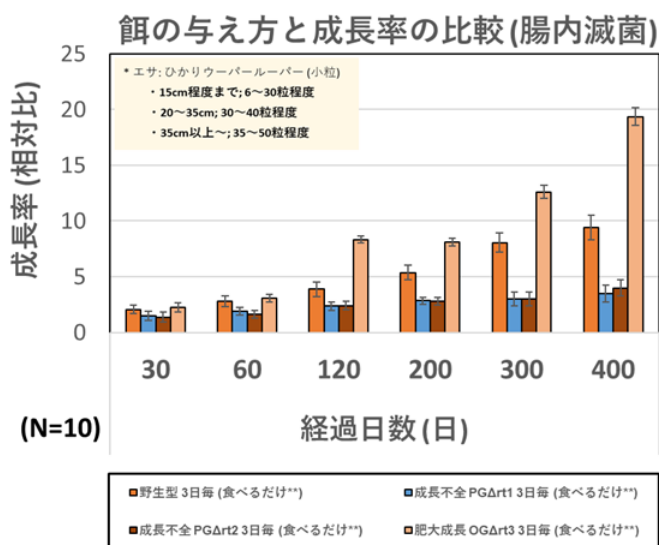
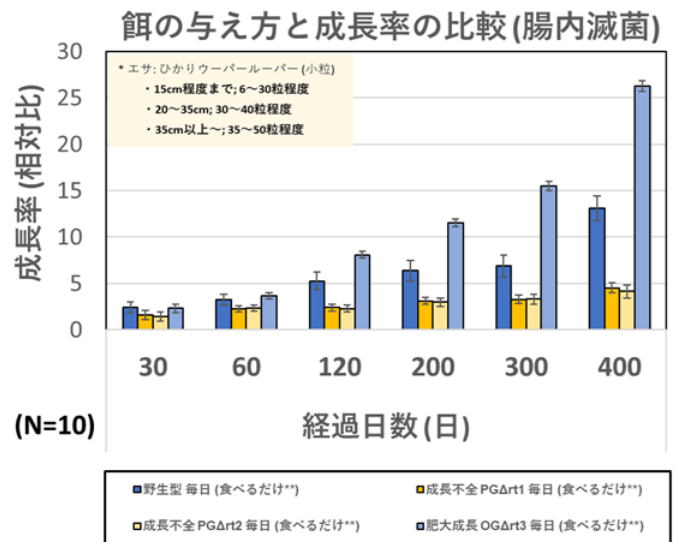
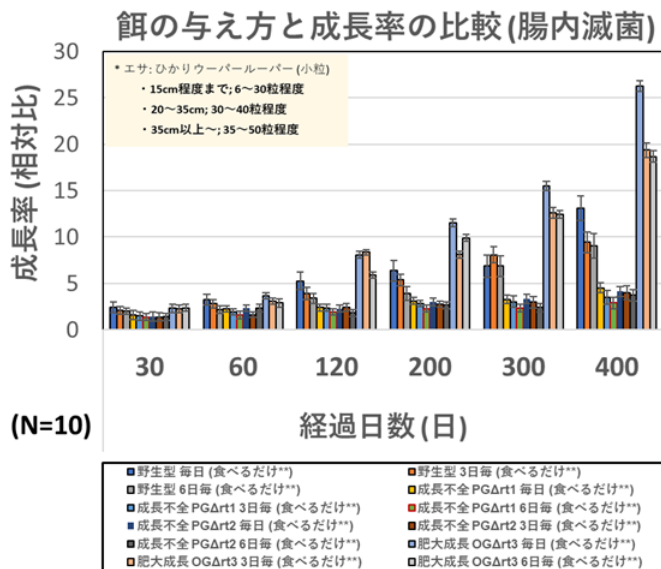


図 8: 餌の摂取量と成長率比較 2

Fig. 8: Comparison of Feed Intake and Growth Rate 2



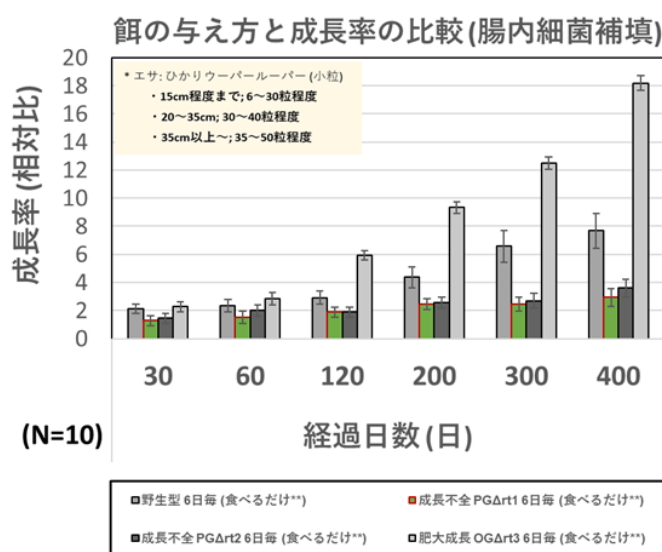
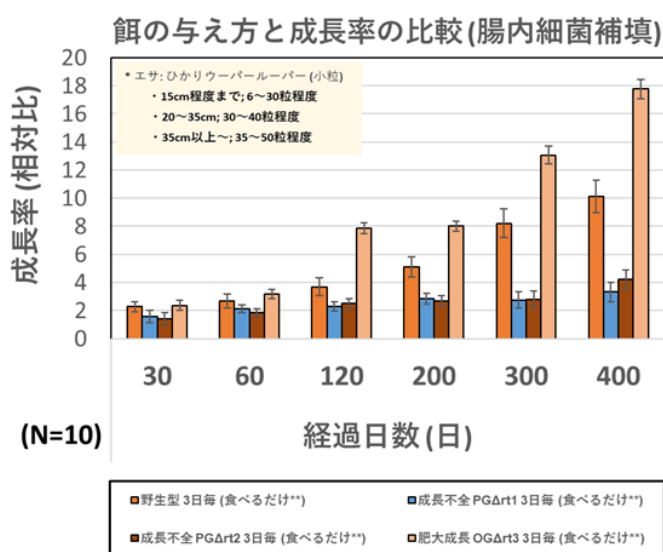
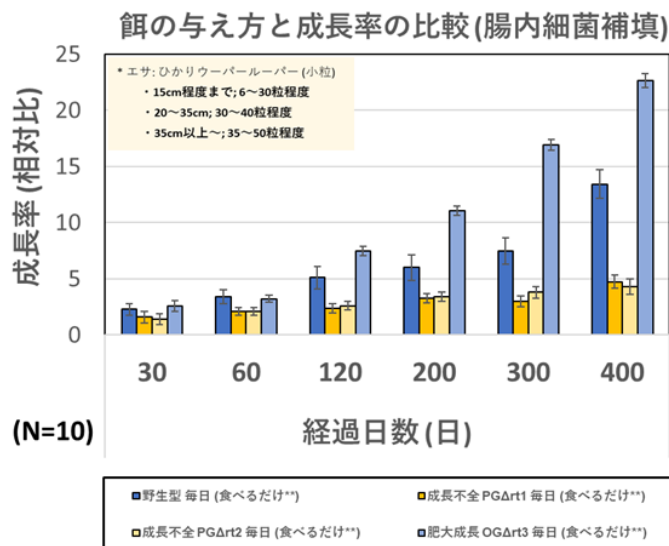
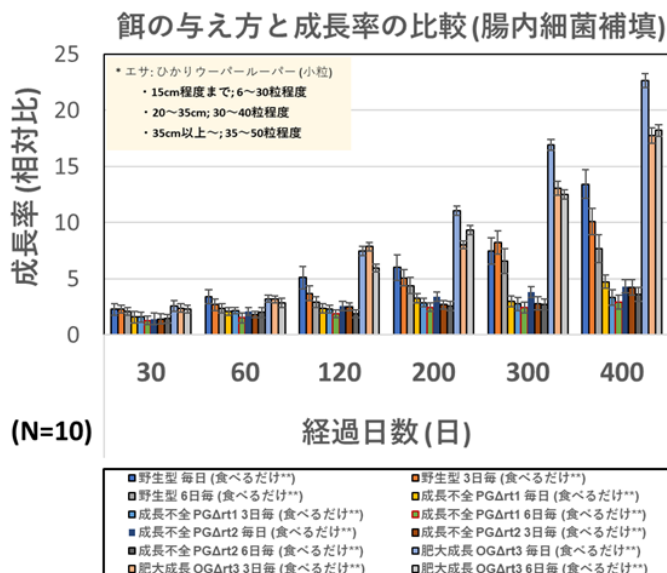


図 9: 餌の摂取量と成長率比較 3

Fig. 9: Comparison of Feed Intake and Growth Rate 3

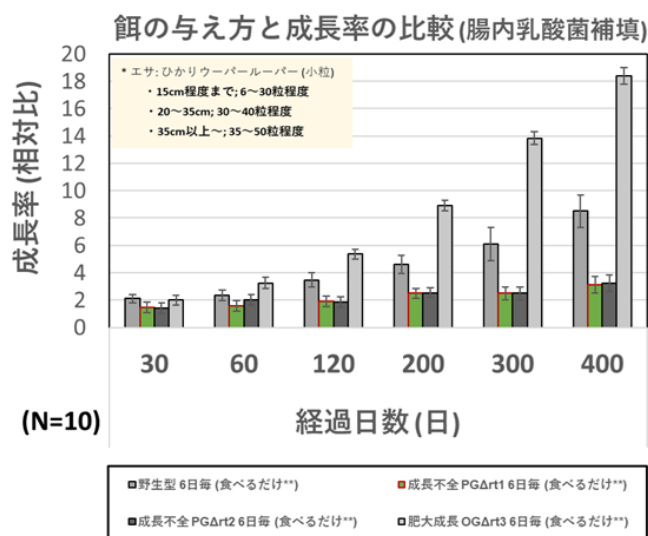
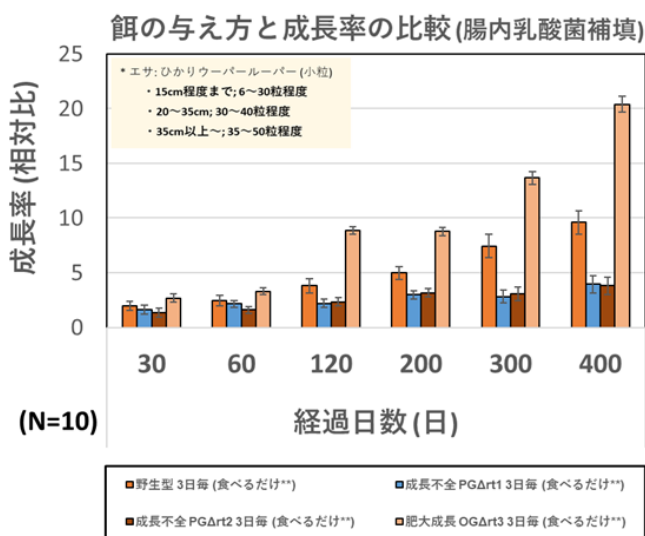
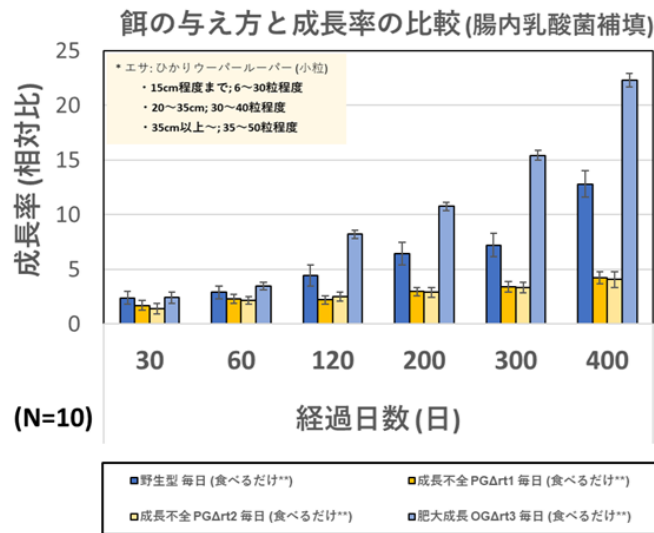
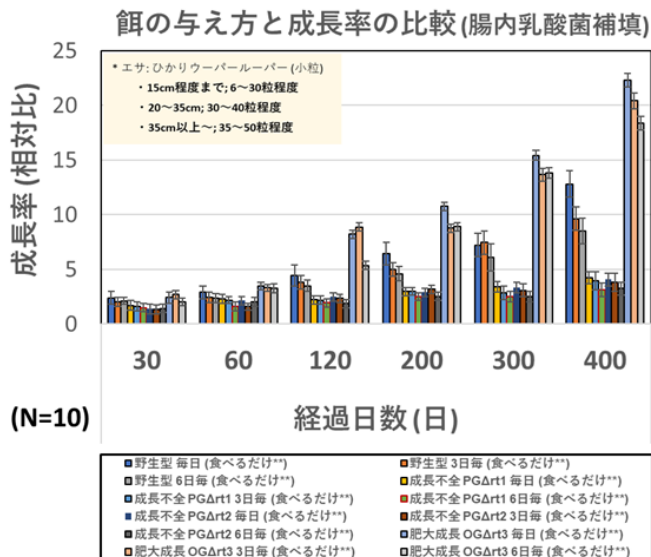


図 10: 餌の摂取量と成長率比較 4

Fig. 10: Comparison of Feed Intake and Growth Rate 5

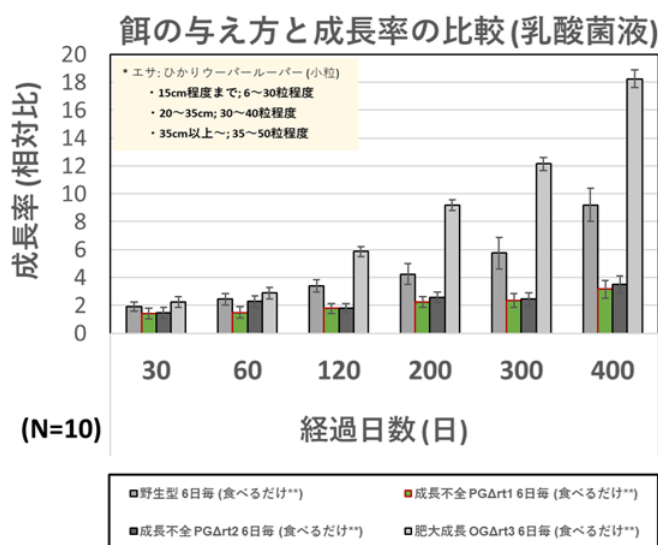
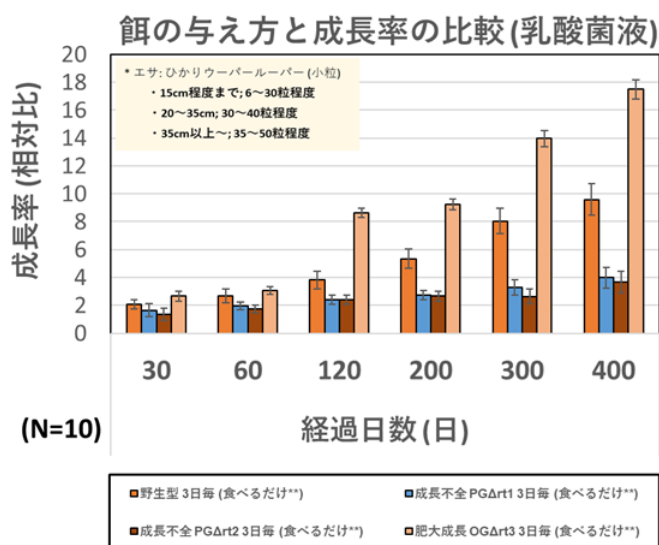
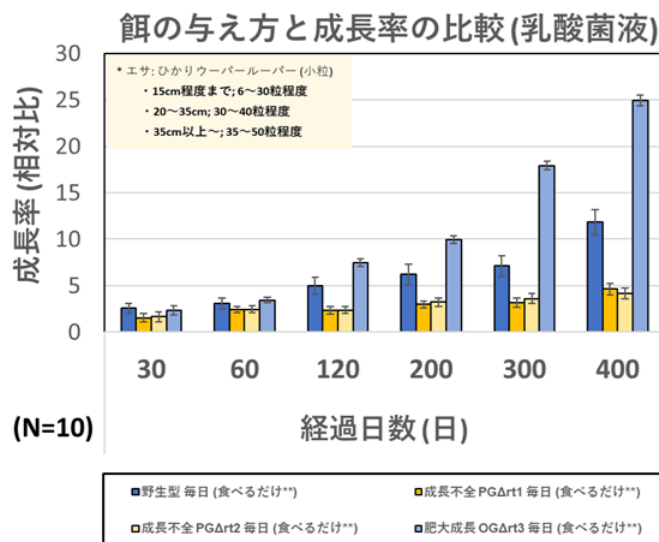
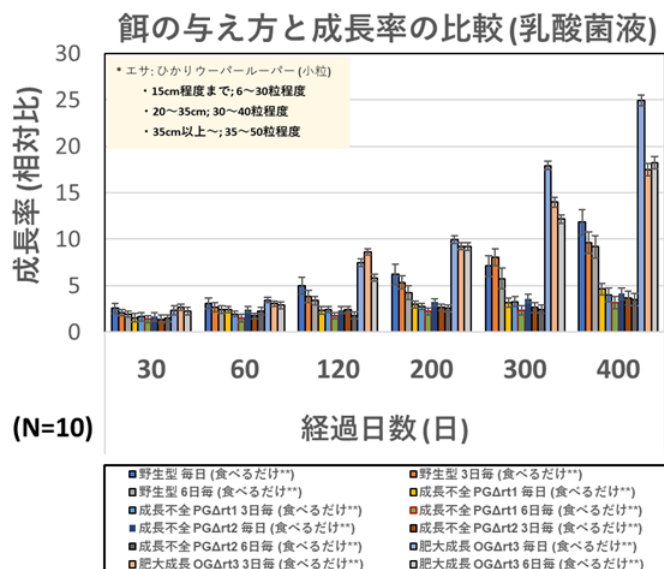


図 11: 餌の摂取量と成長率比較 5

Fig. 11: Comparison of Feed Intake and Growth Rate 5

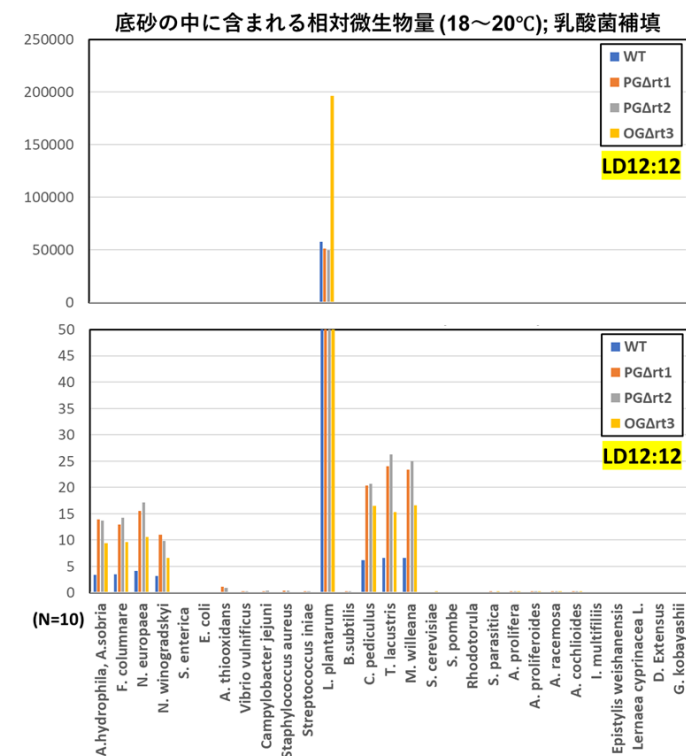
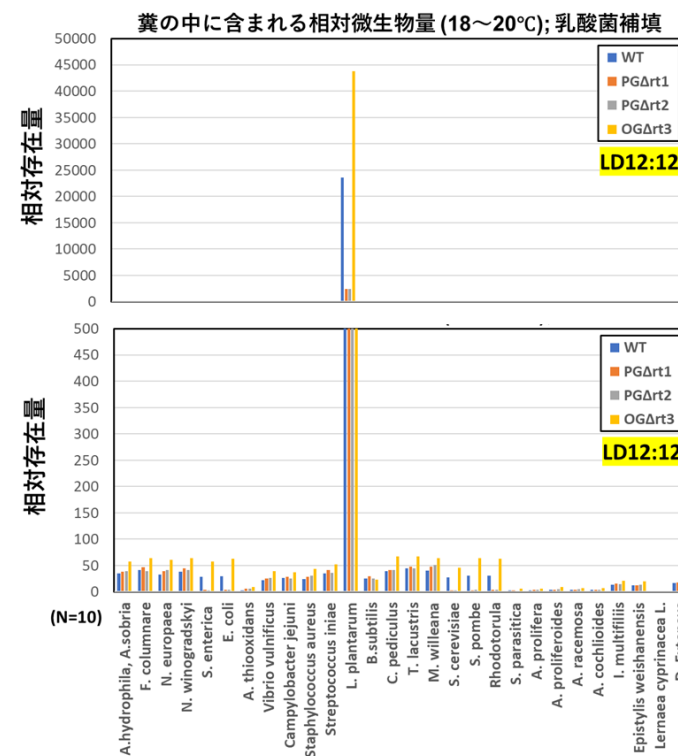
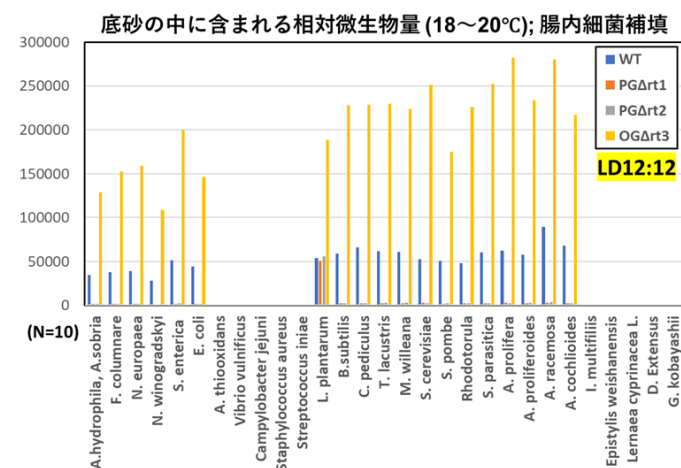
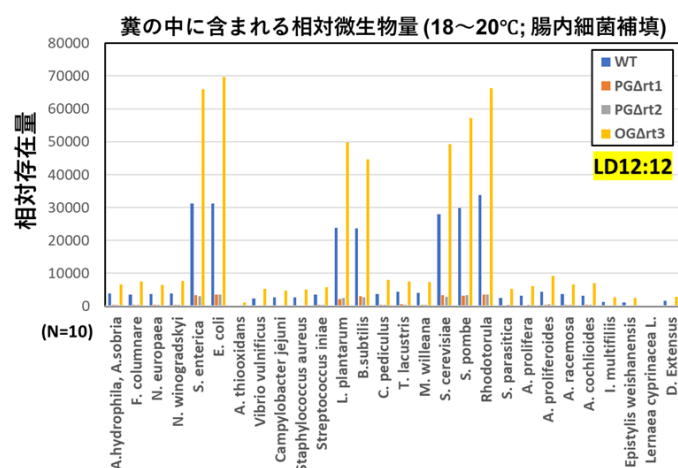
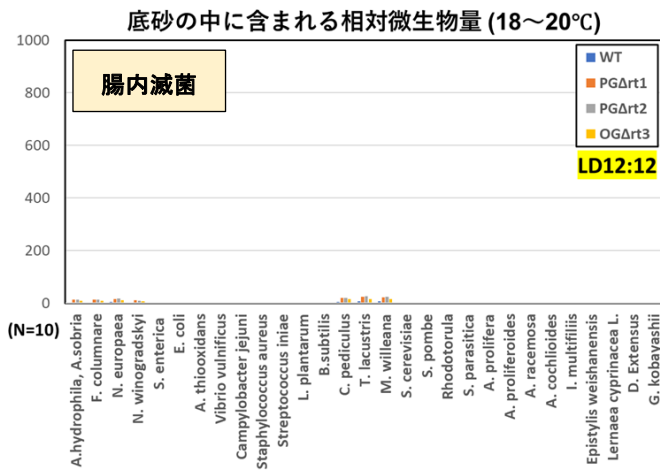
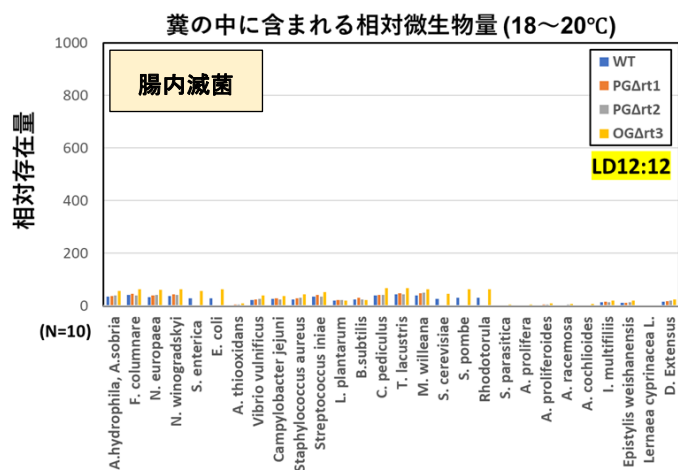


図 12: 腸内細菌叢 および 水槽内濾過細菌叢

Fig. 12: Gut Microbiota and Filter-associated Microbiota in the Aquarium



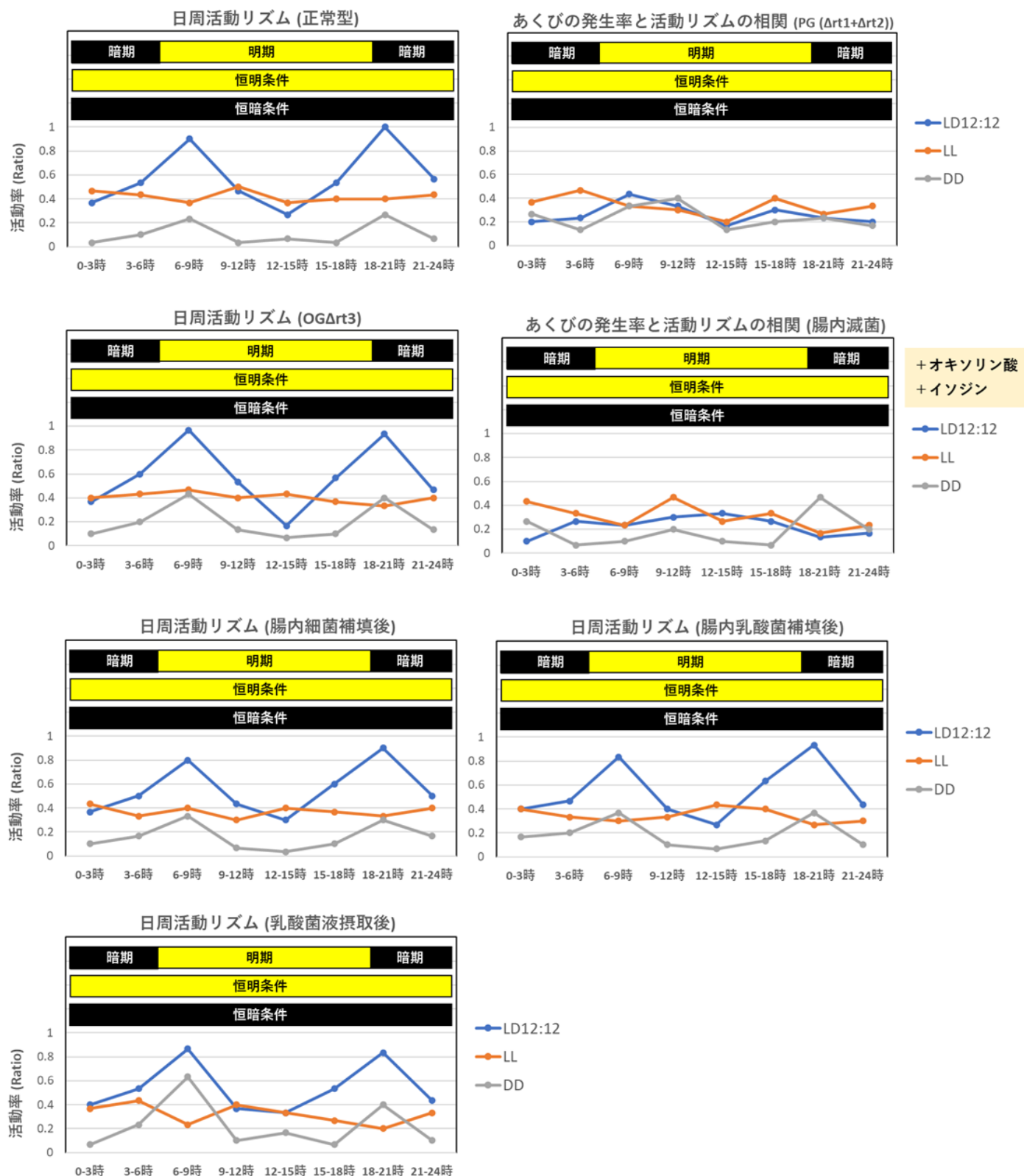


図 13: アホロートルの日周活動リズムは腸内環境の影響を受ける  
 Fig. 13: Gut Environment Influences the Diurnal Activity Rhythm in Axolotls.

## 内在性ウイルスと腸内細菌叢依存的なアホロートルの成長制御

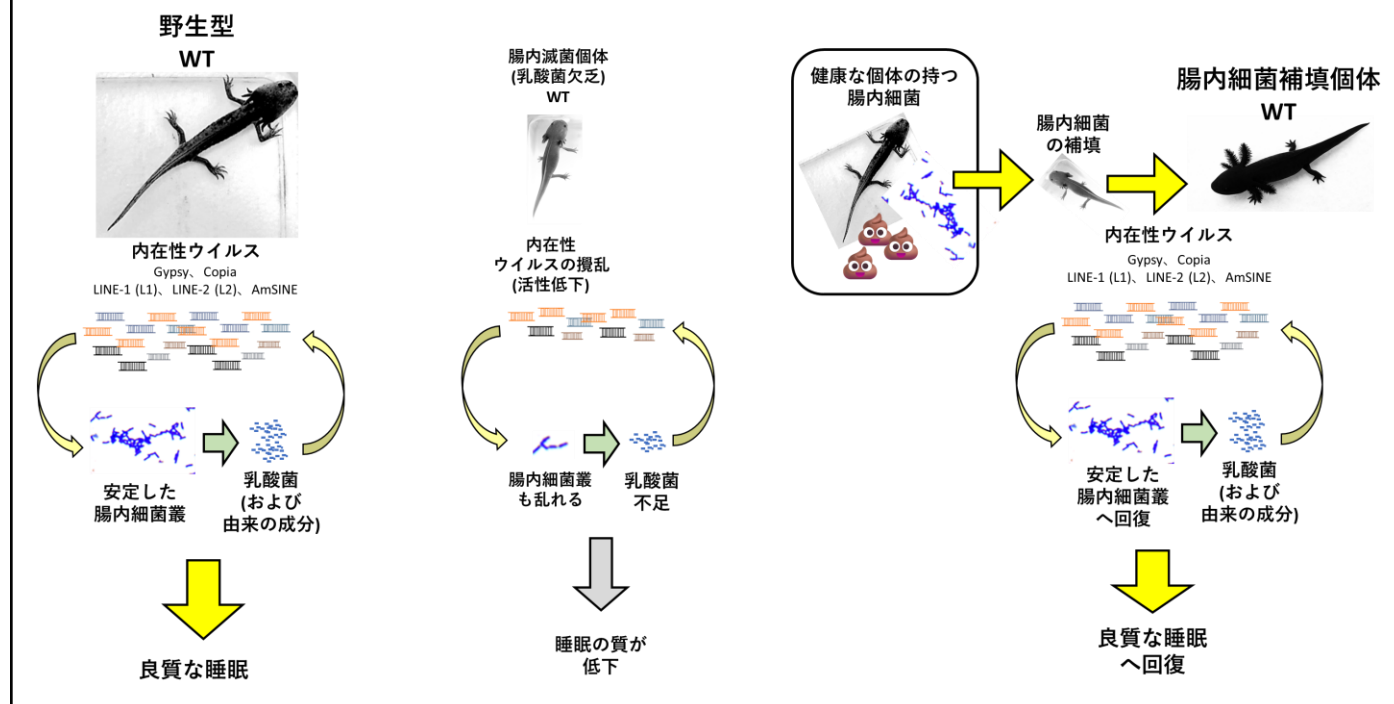


図 14: アホロートル腸内細菌叢-内在性ウイルス叢のモデル図更新

Fig. 14: Updated Model of the Axolotl Gut Microbiota-Endogenous Virome.

## 参考文献 References

1. Zasloff M. Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987;84(15):5449–5453.
2. Nicolas P, El Amri C. The dermaseptin superfamily: a gene-based combinatorial library of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1788(8):1537–1550.
3. Rollins-Smith LA, Ramsey JP, Pask JD, Reinert LK, Woodhams DC. Amphibian immune defenses against chytridiomycosis. *Integr Comp Biol*. 2011;51(4):552–562.
4. Demori I, Rashed Z, Corradino V, Catalano A, et al. Peptides for skin wound healing from amphibians. *Molecules*. 2019;24(20):3470.
5. Yin S, Huang X, Xu W. Amphibian skin-derived wound-healing peptides: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Front Pharmacol*. 2023;14:1198774.
6. Grogan LF, Robert J, Berger L, et al. Review of the amphibian immune response to chytridiomycosis. *Biol Rev*. 2018;93(1):113–130.
7. Mescher AL, Neff AW. Limb regeneration in amphibians: immunological considerations. *Sci World J*. 2006;6:1–11.
8. Sato N, Nishino A. Coordinated patterning of blood vessels and nerves in limb regeneration. *Dev Growth Differ*. 2018;60(5):307–315.

## Axolotl genome database

[Ccr7|AMEX60DD301010137.1 at chr13q:308540534-308823095](#)  
[Ccr6 \[nr\]|Cep43 \[hs\]|AMEX60DD301034186.3 at chr4p:981422201-982198977](#)  
[Ccr6 \[nr\]|Cep43 \[hs\]|AMEX60DD301034186.17 at chr4p:981422328-982001298](#)  
[Ccr6 \[nr\]|Cep43 \[hs\]|AMEX60DD301034186.19 at chr4p:981422337-982001298](#)  
[Loc112118705 \[nr\]|Ccr4 \[hs\]|AMEX60DD301037920.1 at chr5p:687756940-687763675](#)  
[Loc112117868 \[nr\]|Ccr5 \[hs\]|AMEX60DD301037922.1 at chr5p:688230747-688282346](#)  
[Loc112117868 \[nr\]|Ccr5 \[hs\]|AMEX60DD201037922.2 at chr5p:688230750-688361182](#)  
[Loc112117868 \[nr\]|Ccr5 \[hs\]|AMEX60DD201037922.3 at chr5p:688230750-688361182](#)  
[Loc112117868 \[nr\]|Ccr5 \[hs\]|AMEX60DD201037922.4 at chr5p:688230774-688550151](#)  
[Loc112117868 \[nr\]|Ccr5 \[hs\]|AMEX60DD201037922.5 at chr5p:688230777-688598761](#)  
[Loc112117868 \[nr\]|Ccr5 \[hs\]|AMEX60DD301037922.6 at chr5p:688230779-688576997](#)  
[Loc112117868 \[nr\]|Ccr5 \[hs\]|AMEX60DD301037922.7 at chr5p:688231207-688576997](#)  
[Loc112117868 \[nr\]|Ccr5 \[hs\]|AMEX60DD301037922.8 at chr5p:688232990-688361182](#)  
[Loc115084591 \[nr\]|Ccr1 \[hs\]|AMEX60DD201037937.1 at chr5p:689508344-689513383](#)  
[Loc115086115 \[nr\]|Ccr4 \[hs\]|AMEX60DD201037939.1 at chr5p:690329239-690353902](#)  
  
[Ccr9|AMEX60DD201038188.1 at chr5p:856038845-856128028](#)  
[Loc115096367 \[nr\]|Ccl25 \[hs\]|AMEX60DD301014707.1 at chr1p:610747139-610795984](#)  
[Loc115097956 \[nr\]|Ccl31 \[hs\]|AMEX60DD201054221.2 at chr9p:314512015-314548982](#)  
[Loc100735187 \[nr\]|Ccl31 \[hs\]|AMEX60DD301054219.2 at chr9p:314354716-314500594](#)  
[Ccl20|AMEX60DD201002411.1 at chr10q:104391738-104416282](#)  
[H355\\_016656 \[nr\]|Ccl20 \[hs\]|AMEX60DD201002413.1 at chr10q:104543531-104557558](#)  
[Ccl19 \[nr\]|AMEX60DD301041527.1 at chr6p:86273501-86324691](#)  
[Loc102358238 \[nr\]|Ccl19 \[hs\]|AMEX60DD201041528.1 at chr6p:86795201-86848561](#)



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



[Ccl28|AMEX60DD301042003.1 at chr6p:378973103-379001920](#)  
[Ccl28|AMEX60DD301042005.1 at chr6p:379097491-379125526](#)  
[Loc112989614 \[nr\]|Ccl31 \[hs\]|AMEX60DD201054218.1 at chr9p:314253918-314256393](#)  
[Loc115456478 \[nr\]|Ccl31 \[hs\]|AMEX60DD301054218.2 at chr9p:314253919-314301079](#)  
[Loc115456478 \[nr\]|Ccl31 \[hs\]|AMEX60DD301054218.3 at chr9p:314293826-314301079](#)  
[Loc115456478 \[nr\]|Ccl31 \[hs\]|AMEX60DD301054219.1 at chr9p:314354716-314359679](#)  
[Loc115097956 \[nr\]|Ccl31 \[hs\]|AMEX60DD301054221.1 at chr9p:314511844-314517916](#)  
[Loc115098155 \[nr\]|Ccl5 \[hs\]|AMEX60DD301054222.1 at chr9p:314588995-314606382](#)  
  
[Tlr1|AMEX60DD201045674.1 at chr6q:1147998074-1148093871](#)  
[Tlr1|AMEX60DD201045674.3 at chr6q:1148029716-1148093871](#)  
[Loc115461470 \[nr\]|Tlr1 \[hs\]|AMEX60DD201045677.1 at chr6q:1148568303-1148809468](#)  
[Loc115461470 \[nr\]|Tlr1 \[hs\]|AMEX60DD201045677.2 at chr6q:1148568572-1148809468](#)  
[Loc115461470 \[nr\]|Tlr1 \[hs\]|AMEX60DD301045677.3 at chr6q:1148568605-1148729229](#)  
[Loc115461470 \[nr\]|Tlr1 \[hs\]|AMEX60DD201045677.4 at chr6q:1148568605-1148922563](#)  
[Loc115461470 \[nr\]|Tlr1 \[hs\]|AMEX60DD201045677.5 at chr6q:1148568612-1148809468](#)  
[Loc115461470 \[nr\]|Tlr1 \[hs\]|AMEX60DD301045677.6 at chr6q:1148568630-1148809468](#)  
[Loc115461470 \[nr\]|Tlr1 \[hs\]|AMEX60DD301045677.7 at chr6q:1148568791-1148922563](#)  
[Loc115461470 \[nr\]|Tlr1 \[hs\]|AMEX60DD301045677.8 at chr6q:1148569171-1148724574](#)  
[Tlr2 \[hs\]|AMEX60DD301045076.2 at chr6q:747124426-747153116](#)  
[Tlr2|AMEX60DD201045076.3 at chr6q:747124435-747184326](#)  
[Tlr2 \[hs\]|AMEX60DD301045076.1 at chr6q:747124236-747184326](#)  
[Loc106886850 \[nr\]|Tlr2 \[hs\]|AMEX60DD301026420.1 at chr3p:28982421-29009492](#)  
[Loc106886850 \[nr\]|Tlr2 \[hs\]|AMEX60DD301026420.2 at chr3p:28982640-29009492](#)  
[Loc115476667 \[nr\]|Tlr2 \[hs\]|AMEX60DD301030278.1 at chr3q:742286941-742329805](#)  
[Tlr3 \[hs\]|AMEX60DDU001000716.3 at C0006316:56909-222443](#)  
[Tlr3 \[hs\]|AMEX60DD301045416.1 at chr6q:967547774-967651249](#)  
[Tlr3 \[hs\]|AMEX60DDU001000716.1 at C0006316:32689-370232](#)  
[Tlr3 \[hs\]|AMEX60DDU001000716.2 at C0006316:33852-316702](#)  
[Tlr3 \[hs\]|AMEX60DDU001000716.4 at C0006316:66351-222443](#)  
[Tlr4|AMEX60DD301050805.1 at chr8p:239432451-239432669](#)  
[Tlr5l \[nr\]|Tlr5 \[hs\]|AMEX60DD201025164.1 at chr2q:995763253-995985209](#)  
[Tlr5l \[nr\]|Tlr5 \[hs\]|AMEX60DD201025164.2 at chr2q:995763329-995983810](#)  
[Tlr5l \[nr\]|Tlr5 \[hs\]|AMEX60DD201025164.3 at chr2q:995949180-995985209](#)  
[Tlr5|AMEX60DD201036174.1 at chr4q:986525803-986555686](#)  
[Tlr5|AMEX60DD301036174.2 at chr4q:986525811-986741509](#)  
[Tlr7 \[hs\]|AMEX60DD301048520.1 at chr7q:51146898-51323607](#)  
[Tlr8 \[hs\]|AMEX60DD201048519.1 at chr7q:50967209-51058258](#)  
[Tlr13 \[nr\]|Tlr3 \[hs\]|AMEX60DD201017324.1 at chr1q:173489916-173761154](#)  
[Tlr13 \[nr\]|Tlr3 \[hs\]|AMEX60DD201017325.1 at chr1q:173807128-174128126](#)  
[Tlr21 \[nr\]|Tlr3 \[hs\]|AMEX60DD301018080.1 at chr1q:513449262-513475491](#)  
[Tlr22a \[nr\]|Tlr8 \[hs\]|AMEX60DD201027746.1 at chr3p:560941761-560949908](#)



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
 ※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





# 【総説】 両生類における炎症再生 (Part.2)

## Review: Inflammation and Regeneration in Amphibians

著: F.N. 三太子<sup>1</sup>; 杉山 遥<sup>1</sup>; 横江 誼衡<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO 研究グループ\_ハルラボ (ウーパールーパー研究室), <sup>2</sup> 東京大学, <sup>3</sup> 秀明大学, <sup>4</sup> サイモン・テクノロジー

**Authors:** F.N. Santako<sup>1</sup>; Sugiyama Axolotl Haruka<sup>1</sup>; Yoshichika Yokoe<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> NPO Research Group\_HARU-Lab (Axolotl Research Laboratory), <sup>2</sup> The University of Tokyo, <sup>3</sup> Shumei Univ,

<sup>4</sup> SciMountechnology

### Types of Stem Cells in Amphibian Regeneration

**Limb: Muscle Stem Cells**

Markers	References
Pax7 Myf5, MyoD M-cadherin Sandoval-Guzman et al., 2014	Dedifferentiation of myofibers also contributes to muscle regeneration.

**Limb: Epidermal Stem Cells**

Markers	References
Keratin 5 Keratin 14 p63 Satoh et al., 2008	Wound epidermis provide crucial signaling during regeneration.

**Limb: Hematopoietic Stem Cells**

Markers	References
c-Kit, Sca-1 Runx1, Gata2 Godwin et al., 2018	Macrophages are required for blastema formation. Godwin et al., 2013

**Limb: Neural Crest Stem Cells**

Markers	References
Sox10 AP-2q McCusker and Gardiner, 2011	Contribute to peripheral nerves and craniofacial cartilage. McCusker & Gardiner, 2011

**Lens: Lentoid Stem Cells**

Pax6, Sox2  
Six3, Prox1  
PECs reprogram to lens cells.  
Eguchi & Kodama, 1993

**Spinal Cord: Neural Stem Cells**

Sox2, Sox3.  
Nestin, GFAP, Msi1  
Ependymoglia serve as multipotent neural progenitors.  
Albors et al., 2015

**Retina: Retinal Stem Cells**

Pax6, Sox2, Ascl1  
Otx2  
Both RPE cells and Müller glia contribute to regeneration.  
Maki et al., 2009

**Retina: Retinal Stem Cells**

Pax6, Sox2, Ascl1, Otx2  
Both RPE cells and Müller glia contribute to regeneration.  
Maki et al., 2009

FactsFacts

### Stem Cells in Amphibians

Type	Markers
Multipotent stem cells (MPSCs)	Prrr-1, Integrin $\alpha 4 \beta 1$ Msx1 Sall4
Skeletal muscle precursors (SMPs) a.k.a. muscle satellites	Pax7, Pax3, Myf5
Central nervous system (CNS) stem cells	KmO, Sox2, Nestin, Musashi
Melanocyte stem cells	Sox9, Mitf
Intestinal stem cells	Sox9, Lgr5, Smoc2

Germ layer: mesoderm (blue), ectoderm (orange), Pleurodeles (purple)  
Model: Ambystoma (green), Xenopus (red)



## SNS and Mail Address

**Researchmap:** [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl/](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/)

**X:** [https://x.com/lab\\_new2](https://x.com/lab_new2)

**ResearchGate:** <https://www.researchgate.net/profile/Sugiyama-Haruka>

**Contact:** [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com)



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



# 要旨

イベリアトゲイモリ (*Pleurodeles waltl*)、アホロートル (*Ambystoma mexicanum*)、アメリカアカイモリ属 (*Notophthalmus viridescens*, *Taricha* spp.) は、四肢、レンズ、網膜、脊髄、心臓など多様な組織を完全に再生できる稀有な脊椎動物モデルである。両生類の再生過程は、迅速な創傷閉鎖、特殊な創傷上皮の形成、脱分化によるブラステマ形成、そして正確なパターンニングと再分化による形態の復元に特徴づけられる。神経依存性、Shh・FGF・RA・Prod1 による位置情報システム、細胞外マトリクスの「再生仕様」への改変が再生成功の鍵を握っている。

後半では、両生類の損傷応答や再生を支える幹細胞集団をより詳細に概観する。切断後の免疫応答は短期的かつ必須であり、マクロファージや CCR/CCL ケモカインを介したリンパ球の段階的誘導によって、線維化を伴わない再生ニッチが形成される。創傷上皮 (AEC) は FGF、Wnt、nAG などの増殖因子を供給すると同時に、過剰炎症を抑制する。ブラステマでは、脱分化した筋線維、Pax7 陽性の筋サテライト細胞、線維芽細胞、骨膜細胞などが系譜制限を持った前駆細胞群を構成する。脊髄では Sox2/Notch 依存的に増殖する神経上衣様グリア (ependymoglia) が幹細胞様に振る舞い、レンズは背側虹彩 PEC が Pax6 や FGF/ERK により再プログラムされて水晶体へ転換する。網膜は RPE やミュラーグリアから再形成され、表皮幹細胞 (K5, K14, p63) は AEC の維持に寄与する。さらに、造血系前駆細胞 (Runx1, Gata2, c-Kit) は炎症と再生環境の調整に関与する。

特に注目されるのが**神経血管並走モデル**である。神経線維と血管が空間的に並走し、双方向のシグナル交換によって再生を支える。修復型シュワン細胞は VEGF、BDNF、NRG1 を分泌し、内皮細胞は Netrin、Semaphorin、Ephrin などの神経ガイダンス分子を提示する。マクロファージは炎症の制御とマトリクス再編を担い、免疫トーンを整える。去神経化や VEGF 阻害で並走は破綻し、逆にトロフィック因子の補給は成長を部分的に救済することが実証されている。

内分泌や発生ステージも再生能を規定する。胸腺依存的な免疫寛容は瘢痕を防ぎ、再生寄りの環境を形成する。カエルでは変態期の甲状腺ホルモンにより再生能が低下する一方、イモリは成体でも高い再生能を保持する。加齢に伴い再生速度は低下するが、能力自体は維持される。近年は単一細胞トランスクリプトーム解析、*Pleurodeles* での CRISPR 編集、透明幼生を用いたライブイメージングなどにより、系譜可塑性、シグナル階層、ニッチ構造の理解が急速に進展している。

総じて、両生類の再生は**限定的可塑性を持つ脱分化、専用幹細胞集団の寄与、短期的かつ許容的な免疫応答、神経と血管の協調的パターンニング**の相乗効果によって成り立っている。これらの原理は、ヒトにおける再生医療への応用に直結する戦略を示唆する。すなわち、炎症期の短縮、神経依存性シグナルの薬理的代替、ECM 環境の再生仕様化、マクロファージの表現型転換などである。両生類の再生を細胞・分子スケールで解読することにより、組織工学、移植免疫、瘢痕のない臓器修復への道が開かれるだろう。

# Abstract

Amphibians such as *Pleurodeles waltl*, *Ambystoma mexicanum*, and *Notophthalmus viridescens* represent unique vertebrate models capable of regenerating a broad spectrum of tissues including limbs, lens, retina, spinal cord, and heart. Their regenerative processes are characterized by rapid wound closure, formation of a specialized wound epidermis, blastema formation via dedifferentiation, and patterned redifferentiation that restores functional morphology. Nerve dependence, positional identity systems (Shh, FGF, RA, Prod1), and permissive extracellular matrix remodeling are critical for successful outcomes.

In the later sections, we examine in greater detail amphibian responses to injury and the diverse stem/progenitor populations that sustain regeneration. After amputation, the immune response is transient but essential: macrophages and chemokine-mediated recruitment of lymphocytes sculpt a non-fibrotic niche. The wound epidermis provides trophic factors (FGF, Wnt, nAG) while dampening excessive inflammation. At the blastema stage, dedifferentiated myofibers, Pax7<sup>+</sup> muscle satellite cells, fibroblasts, and periosteal cells contribute lineage-restricted progenitors. Neural stem-like ependymoglia cells proliferate in the spinal cord, while lens regeneration depends on dorsal iris PECs reprogrammed by Pax6 and FGF/ERK signaling. RPE and Müller glia generate neural retina, and epidermal stem cells (K5, K14, p63) sustain apical epidermal cap function. Hematopoietic progenitors (Runx1, Gata2, c-Kit) further shape the inflammatory and regenerative milieu.

A key conceptual advance is the **neurovascular parallel alignment model**, in which nerves and blood vessels extend coordinately as a functional unit. Schwann cells secrete VEGF, BDNF, and NRG1, endothelial cells provide axon-guidance molecules (Netrins, Semaphorins, Ephrins), and macrophages orchestrate immune tone and matrix remodeling. This reciprocal guidance ensures correct patterning and tissue integration. Experimental manipulations confirm that denervation or VEGF blockade disrupts both axon regrowth and angiogenesis, while trophic factor supplementation can partially restore growth.

Endocrine and developmental contexts further modulate regenerative potential: thymus-dependent immune tolerance favors scar-free repair, thyroid hormone reduces regenerative ability during metamorphosis in frogs, and aging slows but does not abolish capacity in newts. Recent advances—including single-cell transcriptomics, CRISPR-mediated genome editing in *Pleurodeles*, and live imaging of transparent larvae—are redefining our understanding of lineage plasticity, signaling hierarchies, and niche architecture.

Together, amphibian regeneration is sustained by the synergy of **restricted dedifferentiation, specialized stem/progenitor cells, transient but permissive immune responses, and coordinated neurovascular patterning**. These principles highlight strategies for mammalian regenerative medicine: shortening inflammatory phases, mimicking nerve trophic support, reprogramming ECM composition, and immunomodulation to shift macrophage phenotypes. By dissecting amphibian mechanisms at cellular and molecular scales, we may unlock translational pathways toward tissue engineering, transplant tolerance, and scar-free organ repair in humans.

# 両生類における組織再生と幹細胞の多様性：神経・血管並走モデルから免疫クロストークまで

## 序論

両生類、特にイモリ (*Pleurodeles waltl*)、アホロートル (*Ambystoma mexicanum*)、アメリカアカイモリ属 (*Notophthalmus viridescens*, *Taricha* spp.) は、脊椎動物において驚異的な再生能を保持する代表モデルである。これらの動物は四肢、レンズ、網膜、脊髄、心臓などの複雑な組織を完全に再生できる。本総説では、再生可能な組織、四肢再生の分子基盤、眼や中枢神経系の再生、免疫・内分泌とのクロストーク、さらに幹細胞の種類とそのマーカーを包括的に整理し、神経血管並走モデルの役割を位置づける。

## 1. 再生可能な組織の範囲

両生類は、以下の組織で顕著な再生能を示す。

- **四肢**：肩から指先まで骨・軟骨・筋・腱・血管・神経・皮膚を正しく位置合わせして再構築。
- **レンズ**：成体においても水晶体の完全再生が可能。
- **網膜**：網膜色素上皮やミュラーグリアからの再生。
- **脊髄・尾**：運動ニューロンの伸長、神経回路の再形成。
- **心臓**：心筋の再生と冠循環の再形成。
- **顎・腺・皮膚**：瘢痕を残さず再構築。皮膚は色素パターンまで回復。
- **肝・腎**：容量回復がみられるが、臓器により再生能は差がある。

## 2. 四肢再生の三相モデル

### 1. 創閉鎖と創傷上皮形成（数日）

非角化性の創傷上皮（AEC）が形成され、FGF や Wnt を分泌。真皮は分解され ECM はヒアルロン酸・フィブロネクチン・テネシシン C に富む再生仕様に。

### 2. ブラステマ形成（1-2 週）

脱分化した局所細胞が集積し、前駆細胞塊を形成。筋はサテライト細胞由来に加え、成熟筋線維の脱分化が寄与。軟骨・腱は線維芽細胞由来が中心。

### 3. パターニングと分化（週～月）

Shh-FGF8、Wnt/ $\beta$ -catenin、RA、Hippo-YAP などが軸を再設定。神経依存性で、神経から分泌される nAG、Neuregulin-1、FGF がブラステマ増殖を駆動。Prod1 は近遠位アイデンティティの鍵分子。

## 3. レンズと網膜の再生

- **レンズ**：背側虹彩の PEC が脱分化しレンズ細胞へ転換。Pax6, Sox2, Six3, Prox1, FGF/ERK が必須。
- **網膜**：RPE やミュラーグリアが脱分化し神経網膜へ再形成。Ascl1, Pax6, Otx2, Notch 抑制, ERK 活性が重要。

## 4. 脊髄・脳・末梢神経

- **脊髄**：ependymoglia（神経上衣様グリア）が Sox2/Notch 依存的に増殖・分化し、軸索はガイダンス分子で再伸長。
- **末梢神経**：シュワン細胞が修復型へ転換、Waller 変性を経て再髄鞘化。神経は再生維持の必須トロフィック源。



## 5. 心臓と血管

- **心筋**：既存心筋が脱分化様に円形化して細胞周期へ再進入。NRG1/ErbB、TGF- $\beta$ 、YAP が関与。
- **血管**：VEGF/FGF/PDGF により再血管新生。神経と並走し、VEGF-VEGFR と NGF-TrkA のクロストークが協調配線を実現。

## 6. 免疫・炎症と再生のクロストーク

- **マクロファージ**：必須であり、枯渇すると癒痕化。
- **CCR/CCL ケモカイン軸**：単球・T 細胞を順次誘導。
- **一過性の細胞老化**：SASP 因子を介してブラステマ増殖を促進。
- **AEC**：再生促進シグナルと免疫抑制因子を供給。

## 7. 神経血管並走モデル

- **定義**：神経線維と血管が空間的に並走しながら再伸長し、双方向のシグナル交換で再生を支える。
- **プレイヤー**：シュワン細胞、内皮細胞、マクロファージ、AEC、ECM。
- **シグナル**：VEGF-VEGFR2、NRG1-ErbB、Netrin, Semaphorin, Eph-Ephrin, Slit-Robo, RA/Prod1。
- **実験証拠**：去神経化・VEGF 阻害で並走破綻、神経偏位で血管も追従。
- **応用**：VEGF/NRG1 徐放ハイドロゲル、免疫整流による並走再現。

## 8. 幹細胞の種類とマーカー

- **神経幹細胞**：Sox2, Sox3, Nestin, GFAP, Musashi-1。→ ependymoglia 由来。
- **筋幹細胞**：Pax7, Myf5, MyoD, M-cadherin。→ サテライト細胞＋脱分化筋線維。
- **レンズ幹細胞**：Pax6, Sox2, Six3, Prox1。→ 虹彩 PEC からレンズ再生。
- **網膜幹細胞**：Pax6, Sox2, Ascl1, Otx2。→ RPE やミュラーグリア由来。
- **表皮幹細胞**：K5, K14, p63。→ AEC 形成を主導。
- **血球幹細胞**：Runx1, Gata2, c-Kit, Sca-1。→ 再生環境で免疫細胞供給。
- **神経堤/間葉系**：Sox10, AP-2 $\alpha$ , CD73, CD90, CD105。→ 顔面骨格・結合組織形成。

## 9. 内分泌・加齢の影響

- **胸腺と免疫**：免疫寛容を強化し再生寄り環境を構築。胸腺移植で AMP 発現や炎症トーンが変動。
- **甲状腺ホルモン**：カエルは変態で再生能低下。イモリは成体でも保持。
- **加齢**：再生能は保持されるが速度は低下。

## 10. 実験技術と医学応用

- **遺伝子導入**：電気穿孔、ウイルス、CRISPR。
- **単一細胞解析**：scRNA-seq/ATAC-seq で系譜トラッキング。
- **ライブイメージング**：透明幼生や組織クリアリング。
- **医学的示唆**：短い炎症、持続 ERK、神経トロフィック補償、ECM 改変、マクロファージ M2 化。

## 結論

両生類再生は「脱分化＋限定的可塑性」と「神経・血管・免疫の協調的ネットワーク」に支えられている。四肢や中枢神経の完全再生は、哺乳類医療応用への大きなヒントを与える。特に神経血管並走モデルと免疫クロストークの理解は、再生医療・移植免疫・組織工学に直結する。



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



# Tissue Regeneration and Stem-Cell Diversity in Amphibians: From the Neurovascular Parallel Model to Immune Crosstalk

## Introduction

Amphibians—especially newts such as *Pleurodeles waltl*, the axolotl (*Ambystoma mexicanum*), and North American newts (*Notophthalmus viridescens*, *Taricha* spp.)—are representative vertebrate models that retain remarkable regenerative capacity. These animals can fully regenerate complex tissues including limbs, lens, retina, spinal cord, and heart. This review organizes what is known about regenerable tissues, the molecular basis of limb regeneration, regeneration in the eye and central nervous system, crosstalk with immunity and endocrine factors, and the types of stem/progenitor cells and their markers, while positioning the role of the neurovascular parallel model.

## 1. Range of Regenerable Tissues

Amphibians exhibit striking regenerative abilities in the following tissues:

- **Limb:** Reconstruction from shoulder to fingertip with correct patterning of bone, cartilage, muscle, tendon, blood vessels, nerves, and skin.
- **Lens:** Complete regeneration of the crystalline lens even in adults.
- **Retina:** Regeneration from retinal pigmented epithelium (RPE) and Müller glia.
- **Spinal cord and tail:** Axonal regrowth of motor neurons and reformation of neural circuits.
- **Heart:** Regeneration of myocardium and reformation of the coronary circulation.
- **Jaw, glands, and skin:** Scar-free reconstruction; skin pigment patterns are restored.
- **Liver and kidney:** Recovery of organ mass (with organ-to-organ variability in capacity).

## 2. Three-Phase Model of Limb Regeneration

### 1. Wound closure and formation of the wound epidermis (days):

A non-keratinized wound epidermis (AEC) forms and secretes FGF and Wnt. The dermis is degraded, and the ECM is remodeled into a regeneration-permissive state enriched in hyaluronan, fibronectin, and tenascin-C.

### 2. Blastema formation (1–2 weeks):

Locally derived, dedifferentiated cells accumulate to form a progenitor-cell mass. In addition to satellite cell-derived contributions, dedifferentiation of mature myofibers contributes to the muscle lineage; cartilage and tendon are mainly derived from fibroblastic lineages.

### 3. Patterning and differentiation (weeks to months):

Axes are reset by Shh–FGF8 mutual maintenance, Wnt/ $\beta$ -catenin, retinoic acid (RA), and Hippo–YAP signaling. Growth is **nerve-dependent**: nerve-derived nAG (newt anterior gradient protein), neuregulin-1, and FGFs drive blastema proliferation. **Prod1** acts as a key determinant of proximodistal identity.

## 3. Regeneration of Lens and Retina

- **Lens:** Dorsal iris pigmented epithelial cells (PECs) dedifferentiate and convert into lens cells. **Pax6**, **Sox2**, **Six3**, **Prox1**, and sustained **FGF/ERK** activity are essential.
- **Retina:** RPE and Müller glia dedifferentiate and re-form the neural retina. **Ascl1**, **Pax6**, **Otx2**, Notch suppression, and sustained ERK activity are critical.



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



#### 4. Spinal Cord, Brain, and Peripheral Nerves

- **Spinal cord:** Ependymoglia (ependymal/radial glia-like) cells proliferate and differentiate in a **Sox2/Notch-dependent** manner; axons regrow under re-established guidance cues.
  - **Peripheral nerves:** Schwann cells transition into a repair phenotype, proceed through Wallerian degeneration, and remyelinate. Nerves supply essential trophic support for regeneration.
- 

#### 5. Heart and Vasculature

- **Myocardium:** Pre-existing cardiomyocytes round up and re-enter the cell cycle in a dedifferentiation-like process; **NRG1/ErbB**, **TGF- $\beta$** , and **YAP** contribute.
  - **Vasculature:** Revascularization via **VEGF/FGF/PDGF**. Nerves and vessels often run **in parallel**, with **VEGF-VEGFR** and **NGF-TrkA** crosstalk coordinating their wiring.
- 

#### 6. Immune-Inflammatory Crosstalk with Regeneration

- **Macrophages:** Essential; their depletion leads to scarring.
  - **CCR/CCL chemokine axis:** Sequential recruitment of monocytes and T cells.
  - **Transient cellular senescence:** p16/p21-positive cells transiently appear and, via SASP factors, promote blastema proliferation before being cleared by macrophages.
  - **AEC:** Supplies pro-regenerative factors and immunosuppressive cues.
- 

#### 7. Neurovascular Parallel Model

- **Definition:** Nerve fibers and blood vessels elongate in spatial **parallel**, exchanging bidirectional signals that support regeneration.
  - **Key players:** Schwann cells, endothelial cells, macrophages, AEC, and ECM.
  - **Signals:** **VEGF-VEGFR2**, **NRG1-ErbB**, guidance molecules (**Netrins**, **Semaphorins**, **Eph-Ephrins**, **Slit-Robo**), and **RA/Prod1**.
  - **Experimental evidence:** Denervation or VEGF inhibition disrupts parallel alignment; deviating nerve routes causes vessels to follow.
  - **Applications:** Neurovascular bundling reproduced by **VEGF/NGR1 slow-release hydrogels** and by immune tuning.
- 

#### 8. Stem-Cell Types and Markers

- **Neural stem/progenitor cells:** **Sox2**, **Sox3**, **Nestin**, **GFAP**, **Musashi-1** → Derived from ependymoglia.
  - **Muscle stem cells:** **Pax7**, **Myf5**, **MyoD**, **M-cadherin** → Satellite cells plus dedifferentiated myofibers.
  - **Lens regenerative cells:** **Pax6**, **Sox2**, **Six3**, **Prox1** → Lens regeneration from iris PECs.
  - **Retinal progenitors:** **Pax6**, **Sox2**, **Ascl1**, **Otx2** → Derived from RPE and Müller glia.
  - **Epidermal stem cells:** **Keratin 5**, **Keratin 14**, **p63** → Drive AEC formation.
  - **Hematopoietic stem/progenitors:** **Runx1**, **Gata2**, **c-Kit**, **Sca-1** → Supply immune cells to the regenerative niche.
  - **Neural crest/mesenchymal populations:** **Sox10**, **AP-2 $\alpha$** , **CD73**, **CD90**, **CD105** → Contribute to craniofacial skeleton and connective tissues.
-

## 9. Endocrine and Aging Influences

- **Thymus and immunity:** Promote a tolerance-biased milieu conducive to regeneration; thymus transplantation modulates AMP expression and inflammatory tone.
- **Thyroid hormone:** In frogs, metamorphosis reduces regenerative capacity; newts retain high capacity even in adulthood.
- **Aging:** Capacity is largely maintained, though kinetics slow.

---

## 10. Experimental Techniques and Medical Implications

- **Gene delivery:** Electroporation, viral vectors, and CRISPR.
- **Single-cell analyses:** scRNA-seq/ATAC-seq for lineage tracking.
- **Live imaging:** Transparent larvae and tissue clearing.
- **Medical takeaways:** Short inflammation, sustained ERK, trophic substitution for nerve dependence, ECM reprogramming, and macrophage M2 polarization.

---

## Conclusion

Amphibian regeneration is sustained by **dedifferentiation with restricted plasticity** and by a **coordinated network of nerves, blood vessels, and immune cells**. Complete regeneration of limbs and central nervous tissues offers direct clues for mammalian regenerative medicine. In particular, understanding the neurovascular parallel model and immune crosstalk connects to advances in regenerative therapies, transplant immunology, and tissue engineering.

---

## 参考文献 References

- Sato N., Ueda Y., Nishino A. (2016) *Regeneration* 3:225–234.
- Sato N., Nishino A. (2018) *Dev Growth Differ* 60:307–315.
- Godwin JW et al. (2013) *PNAS* 110:9415–9420.
- McCusker C., Gardiner DM. (2011) *Aging* 3:536–544.
- Nacu E., Tanaka EM. (2011) *Annu Rev Cell Dev Biol* 27:409–440.
- Tanaka EM, Reddien PW. (2011) *Dev Cell* 21:172–185.
- Sandoval-Guzmán T et al. (2014) *Dev Biol* 373:409–423.
- Eguchi G., Kodama R. (1993) *Dev Growth Differ* 35:319–326.
- Maki N. et al. (2009) *Dev Biol* 328:273–283.
- Albors AR et al. (2015) *PNAS* 112:13729–13734.



# 炎症再生に関わる miRNA および非コード RNA の役割

## 1. NF- $\kappa$ B / TLR 系を介した炎症制御

炎症期の miRNA は NF- $\kappa$ B や Toll-like receptor (TLR) シグナルを介して初期免疫応答を制御する。

- **miR-21** : 両生類でも発現上昇が報告され、PTEN/PI3K-AKT 経路や TGF- $\beta$ /Smad を調整し、過剰炎症を抑制。
- **miR-146a/b** : IRAK1/TRAF6 を標的に NF- $\kappa$ B を負帰還制御し、炎症の収束を促進。
- **miR-155** : 初期防御に必要なだが、過剰な持続は線維化方向へ作用。
- **miR-223** : 好中球や単球の反応性を制御し、炎症分解期を調節。

## 2. マクロファージ極性と免疫寛容

再生成功にはマクロファージの表現型転換が必須であり、複数の miRNA が寄与する。

- **miR-124 / miR-125b** : M2 型極性を促し、免疫寛容的環境を作る。
- **miR-181a/b** : T 細胞の応答性を調整し、再生ニッチの免疫バランスを整える。

## 3. ECM リモデリングと線維化制御

線維化を防ぎ、可塑的な ECM を維持する miRNA 群が報告されている。

- **miR-29 family** : コラーゲンやエラスチン遺伝子を抑制し、抗線維化作用を発揮。
- **miR-200 family / miR-199/214 cluster** : EMT や TGF- $\beta$ /Smad 経路を介し、再生に適した ECM 状態を作り出す。

## 4. 血管新生と低酸素応答

再血管化期には低酸素応答と血管新生関連 miRNA が重要となる。

- **miR-126** : VEGF シグナル感受性を増強し、血管新生を促進。
- **miR-210** : HIF-1 $\alpha$  応答性で、低酸素環境に適応。
- **miR-221/222** : 内皮細胞の遊走や分枝制御に関与。

## 5. 神経再生と軸索ガイダンス

神経依存性再生の背景には神経関連 miRNA が関与する。

- **miR-9 / miR-124** : 神経幹細胞性維持、グリア反応抑制、軸索伸長促進。
- **let-7 family** : 増殖期に一時的に抑制され、成熟段階で再上昇する。
- **miR-132** : BDNF 応答や軸索ガイダンスに寄与。

## 6. 筋系再生と myomiR

筋脱分化からのプラステマ形成には「myomiR」が深く関与する。

- **miR-1 / miR-133 / miR-206** : 筋線維の脱分化-再分化のバランスを制御。
- **miR-26a** : SMAD1/4 を介して筋・結合組織の分化と ECM 制御を調整。

## 7. パターニングと位置情報

再生軸の再設定は Hox クラスター関連 miRNA によって補助される。

- **miR-10 / miR-196** : Hox 遺伝子再活性化と連動し、近遠位軸のアイデンティティを再構築。
- **miR-31** : 創閉鎖と上皮移動に関与。
- **miR-17-92 cluster** : 増殖と生存の「オン」スイッチ。

## 8. 上皮・創傷上皮 (AEC) の維持

創傷上皮は非角化性であることが再生に必須。

- **miR-203** : 角化シグナルを抑制し、非角化状態を保持。
- **miR-205 / miR-200 family** : 細胞間接着やバリア回復を調整。

## 9. 網膜・レンズ再生



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



眼の再生過程でも特定 miRNA が鍵となる。

- **miR-182/183/96 cluster** : 視細胞系列の維持。
- **miR-7, miR-23, miR-24** : Pax6 や Six/Otx ネットワークと交差し、レンズや網膜の再生に寄与。

#### 10. lncRNA・circRNA の役割

長鎖・環状ノンコーディング RNA は miRNA と協働し、エピゲノムや転写を制御する。

- **MALAT1** : 血管新生や EMT 制御。
- **HOTAIR** : PRC2 を介してエピゲノムを改変。
- **NEAT1** : 炎症応答の時間的パルス制御。
- **circRNA** (例 : circ-HIPK3, circ-ZNF609) : miRNA スポンジとして細胞遊走や血管新生を制御。

#### 11. tRF・piRNA などの小分子 ncRNA

- **tRNA-derived fragments (tRFs)** : ストレス応答や代謝転換に関与。
- **piRNA** : 再生中のゲノム安定性確保に寄与。

### まとめ

両生類の炎症-再生過程は、多様な miRNA／ncRNA によって時系列的・細胞種特異的に制御されている。初期炎症の制御 (miR-21, miR-146a)、抗線維化 (miR-29)、再血管化 (miR-126)、神経再配線 (miR-124, let-7)、筋脱分化-再分化 (myomiR) などが代表例である。さらに、lncRNA や circRNA が miRNA ネットワークを統合する「配線盤」として機能し、再生ニッチの安定化を支えている。これらの知見は、哺乳類における再生医療戦略の設計に直結する。

### 炎症再生に関わる RNA リスト (生物種付き)

RNA	発現タイミング	主な標的/経路	機能	生物種 (報告例)
miR-21	傷害初期～ブラステマ期	マクロファージ表現型, TGF-β/Smad, PTEN/PI3K-AKT	過剰炎症抑制, 創傷閉鎖促進	Xenopus 尾, サラマンダー一四肢
miR-146a/b	炎症期	IRAK1/TRAF6, TLR-NF-κB 負帰還	炎症収束	哺乳類, 両生類トランスクリプトーム解析
miR-155	炎症初期	M1 極性化	炎症促進・線維化方向	哺乳類, 両生類候補
miR-223	炎症分解期	好中球・単球制御	炎症の調律	哺乳類, 両生類候補
miR-124 / miR-125b	炎症期	M2 指向化, 神経炎症制御	免疫寛容・炎症抑制	サラマンダー神経, 哺乳類
miR-181a/b	ブラステマ期	リンパ球選択性, 免疫寛容	免疫バランス調整	両生類 (イモリ), 哺乳類
miR-29 family	損傷後	COL1A1/3A1, ELN 抑制	抗線維化	両生類検出, 哺乳類実証
miR-200 family	再生期	ZEB1/2, EMT 制御	ECM リモデリング	哺乳類, 両生類候補
miR-199/214 cluster	時期依存	TGF-β/Smad, HIF 経路	線維化抑制/誘導	哺乳類, サラマンダー候補



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



RNA	発現タイミング	主な標的/経路	機能	生物種（報告例）
miR-126	再血管期	VEGF シグナル増感	血管新生促進	両生類, ヒト血管内皮
miR-210	低酸素期	HIF-1α 応答	代謝転換・血管新生	哺乳類, 両生類候補
miR-221/222	血管新生	内皮遊走制御	血管形成調整	哺乳類, 両生類候補
miR-9 / miR-124	神経再生期	神経分化, 軸索伸長	神経再生促進	サラマンダー脊髄, Xenopus, 哺乳類
let-7 family	再生初期～分化期	成熟促進・増殖停止スイッチ	初期低下→成熟で再上昇	サラマンダー, Xenopus
miR-132	神経再生	BDNF 応答, 軸索ガイダンス	神経栄養促進	哺乳類, 両生類候補
miR-1/133/206 (myomiRs)	筋脱分化～再分化期	筋分化関連遺伝子	筋再生調整	イモリ筋再生, 哺乳類
miR-26a	筋・結合組織再生期	SMAD1/4	筋・結合組織分化調整	両生類候補, 哺乳類
miR-10 / miR-196	ブラステマ期	Hox クラスター, RA–Meis 軸	位置情報再設定	サラマンダー, 魚類
miR-31	上皮移動期	創閉鎖関連	再生野境界形成	魚類で強い, 両生類候補
miR-17-92 cluster	ブラステマ期	増殖・生存経路	増殖スイッチ	両生類候補, 哺乳類
miR-203	AEC 形成期	角化抑制	非角化維持	両生類, 哺乳類
miR-205 / miR-200	上皮再生期	E-cadherin ネットワーク	上皮バリア回復	哺乳類, 両生類候補
miR-182/183/96 cluster	網膜再生期	視細胞系列維持	RPE→神経網膜転換	イモリ, Xenopus
miR-7, miR-23, miR-24	レンズ・網膜再生期	Pax6, Six, Otx 経路	再生スイッチ調整	イモリ, Xenopus
MALAT1	血管新生期	スプライシング調整, EMT 制御	血管新生, EMT	哺乳類, 両生類候補
HOTAIR	線維化期	PRC2 依存エピゲノム制御	線維化・EMT 調整	哺乳類, 両生類候補
NEAT1	炎症期	Paraspeckle 形成, 免疫遺伝子調整	炎症応答パルス化	哺乳類, 両生類候補
lncRNA 群	ブラステマ特異的	免疫, 血管, Wnt/FGF 応答	再生ハブ機能	アホロートル, Pleurodeles
circRNA 群	再生期	miRNA スポンジ	上皮移動, 血管新生, 筋分化調整	両生類で検出報告増加

# Roles of miRNAs and Non-Coding RNAs in Inflammation and Regeneration

## 1. NF- $\kappa$ B/TLR-Mediated Inflammatory Control

miRNAs activated during the early injury phase regulate NF- $\kappa$ B and Toll-like receptor (TLR) signaling to fine-tune innate immune responses.

- **miR-21**: Upregulated in amphibian regeneration (Xenopus tail, salamander limb); modulates PTEN/PI3K-AKT and TGF- $\beta$ /Smad pathways, suppressing excessive inflammation.
- **miR-146a/b**: Targets IRAK1 and TRAF6, establishing a negative feedback loop for NF- $\kappa$ B and promoting resolution of inflammation.
- **miR-155**: Facilitates initial immune clearance but persistent expression can favor fibrosis.
- **miR-223**: Controls neutrophil and monocyte reactivity, guiding the resolution phase.

## 2. Macrophage Polarization and Immune Tolerance

Macrophage phenotype switching is essential for successful regeneration, supported by several miRNAs.

- **miR-124 / miR-125b**: Promote M2 polarization, creating an immunotolerant regenerative niche.
- **miR-181a/b**: Modulate T cell responsiveness and maintain immune balance in the blastema.

## 3. ECM Remodeling and Fibrosis Control

To avoid scarring, miRNAs regulate extracellular matrix (ECM) deposition and remodeling.

- **miR-29 family**: Suppress collagen and elastin genes, exerting strong anti-fibrotic effects.
- **miR-200 family / miR-199/214 cluster**: Influence EMT and TGF- $\beta$ /Smad signaling, promoting a regeneration-permissive ECM state.

## 4. Angiogenesis and Hypoxia Response

During the revascularization phase, hypoxia-responsive miRNAs drive vascular growth.

- **miR-126**: Endothelial-specific; enhances VEGF sensitivity and promotes angiogenesis.
- **miR-210**: HIF-1 $\alpha$ -responsive, facilitating metabolic adaptation under hypoxia.
- **miR-221/222**: Regulate endothelial migration and sprouting, with context-dependent roles.

## 5. Neural Regeneration and Axon Guidance

Nerve dependence of regeneration involves neural miRNAs.

- **miR-9 / miR-124**: Maintain neural stemness, repress glial reactivity, and promote axonal growth.
- **let-7 family**: Temporarily suppressed during proliferation, later restored to promote maturation.
- **miR-132**: Responds to BDNF and supports axonal guidance.

## 6. Muscle Regeneration and myomiRs

Muscle dedifferentiation and redifferentiation rely heavily on “myomiRs.”

- **miR-1 / miR-133 / miR-206**: Orchestrate the balance between myofiber dedifferentiation and redifferentiation.
- **miR-26a**: Regulates SMAD1/4, balancing muscle and connective tissue differentiation with ECM control.

## 7. Patterning and Positional Identity

Hox cluster-embedded miRNAs reinforce positional identity during regeneration.

- **miR-10 / miR-196**: Re-activated along with Hox genes, re-establishing proximodistal identity.
- **miR-31**: Promotes wound closure and epithelial migration.
- **miR-17-92 cluster**: Acts as a proliferative “on switch” during blastema expansion.



## 8. Wound Epithelium (AEC) Maintenance

A non-keratinized wound epidermis is critical for blastema induction.

- **miR-203**: Suppresses keratinization, maintaining the regenerative epithelial state.
- **miR-205 / miR-200 family**: Regulate epithelial barrier recovery and cadherin-mediated adhesion.

## 9. Retina and Lens Regeneration

Specific miRNAs are crucial in eye tissue regeneration.

- **miR-182/183/96 cluster**: Maintain photoreceptor lineages.
- **miR-7, miR-23, miR-24**: Interact with Pax6, Six, and Otx transcriptional networks to promote lens and retinal reprogramming.

## 10. lncRNAs and circRNAs

Long and circular non-coding RNAs cooperate with miRNAs to regulate epigenetics and transcription.

- **MALAT1**: Controls endothelial splicing and angiogenesis.
- **HOTAIR**: Modulates chromatin via PRC2 and influences EMT/fibrosis.
- **NEAT1**: Shapes nuclear paraspeckles and temporal pulsing of immune responses.
- **circRNAs** (e.g., circ-HIPK3, circ-ZNF609): Act as miRNA sponges, regulating migration, angiogenesis, and myogenesis.

## 11. Small ncRNAs (tRFs, piRNAs)

- **tRNA-derived fragments (tRFs)**: Adjust translation and immune responses under stress, aligning with metabolic shifts in injury.
- **piRNAs**: Likely contribute to genome stability by repressing transposons during regeneration.

## Conclusion

Amphibian inflammation-regeneration dynamics are orchestrated by diverse miRNAs and ncRNAs in a cell type– and time-dependent manner. Key examples include miR-21 and miR-146a for early inflammation control, miR-29 for antifibrotic action, miR-126 for revascularization, miR-124 and let-7 for neural rewiring, and myomiRs for muscle dedifferentiation and reformation. lncRNAs and circRNAs integrate these networks as higher-order “switchboards,” stabilizing the regenerative niche. Understanding these non-coding RNA–mediated mechanisms provides critical insights for designing regenerative strategies in mammals.

## RNA involved in inflammation and regeneration

RNA	Expression timing	Main targets/pathways	Functions	Species (reported examples)
miR-21	Early injury – blastema	Macrophage polarization, TGF-β/Smad, PTEN/PI3K-AKT	Suppresses excessive inflammation, promotes wound closure	Xenopus tail, Salamander limb
miR-146a/b	Inflammatory phase	IRAK1/TRAF6, negative feedback of TLR–NF-κB	Inflammation resolution	Mammals, transcriptomics in amphibians
miR-155	Early inflammation	M1 polarization	Pro-inflammatory, fibrosis-prone	Mammals, amphibian candidates



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



RNA	Expression timing	Main targets/pathways	Functions	Species (reported examples)
miR-223	Resolution phase	Neutrophil/monocyte regulation	Fine-tunes inflammation	Mammals, amphibian candidates
miR-124 / miR-125b	Inflammatory phase	M2 polarization, neuroinflammation control	Immune tolerance, anti-inflammatory	Salamander nervous system, mammals
miR-181a/b	Blastema stage	Lymphocyte selection, immune tolerance	Balances immune tone	Amphibians (newts), mammals
miR-29 family	Post-injury	Suppresses COL1A1/3A1, ELN	Anti-fibrotic	Detected in amphibians, validated in mammals
miR-200 family	Regeneration phase	ZEB1/2, EMT regulation	ECM remodeling	Mammals, amphibian candidates
miR-199/214 cluster	Stage-dependent	TGF- $\beta$ /Smad, HIF pathways	Fibrosis suppression/induction	Mammals, salamander candidates
miR-126	Revascularization phase	Sensitizes VEGF signaling	Promotes angiogenesis	Amphibians, human endothelial cells
miR-210	Hypoxic phase	HIF-1 $\alpha$ responsive	Metabolic shift, angiogenesis	Mammals, amphibian candidates
miR-221/222	Angiogenesis	Endothelial migration regulation	Angiogenesis modulation	Mammals, amphibian candidates
miR-9 / miR-124	Neural regeneration phase	Neural differentiation, axon growth	Promotes neuroregeneration	Salamander spinal cord, Xenopus, mammals
let-7 family	Early-late regeneration	Maturation switch, cell cycle arrest	Down in early phase, up in differentiation	Salamanders, Xenopus
miR-132	Neural regeneration	BDNF response, axon guidance	Neurotrophic support	Mammals, amphibian candidates
miR-1/133/206 (myomiRs)	Muscle dedifferentiation-redifferentiation	Myogenic factors	Muscle regeneration control	Newt muscle regeneration, mammals
miR-26a	Muscle/connective tissue regeneration	SMAD1/4	Regulates muscle & connective tissue	Amphibian candidates, mammals
miR-10 / miR-196	Blastema phase	Hox clusters, RA-Meis axis	Reset positional identity	Salamanders, fish
miR-31	Epithelial migration phase	Wound closure regulation	Defines regeneration field boundary	Strong in fish, amphibian candidates
miR-17-92 cluster	Blastema phase	Proliferation & survival pathways	Growth “on-switch”	Amphibian candidates, mammals

RNA	Expression timing	Main targets/pathways	Functions	Species (reported examples)
miR-203	AEC formation phase	Suppresses keratinization	Maintains non-keratinized wound epithelium	Amphibians, mammals
miR-205 / miR-200	Epithelial regeneration	E-cadherin network	Restores epithelial barrier	Mammals, amphibian candidates
miR-182/183/96 cluster	Retinal regeneration	Maintains photoreceptor lineage	RPE → neural retina transition	Newts, Xenopus
miR-7, miR-23, miR-24	Lens/retina regeneration	Pax6, Six, Otx networks	Regeneration switch modulation	Newts, Xenopus
MALAT1	Angiogenesis phase	Splicing regulation, EMT control	Promotes angiogenesis, EMT	Mammals, amphibian candidates
HOTAIR	Fibrotic phase	PRC2-mediated epigenomic control	Fibrosis/EMT regulation	Mammals, amphibian candidates
NEAT1	Inflammatory phase	Paraspeckle formation, immune gene regulation	Pulsatile immune responses	Mammals, amphibian candidates
lncRNA group	Blastema-specific	Immune, vascular, Wnt/FGF responses	Regeneration hubs	Axolotl, Pleurodeles
circRNA group	Regeneration phase	miRNA sponges	Epithelial migration, angiogenesis, myogenesis	Detected increasingly in amphibians

## 発現上昇/現象別 miRNA 一覧表

### 上昇群 (Upregulated)

RNA	発現部位	発現時期	主な標的/経路	機能	生物種 (報告例)
miR-21	尾・四肢	傷害初期～ blastema 期	マクロファージ表現型, TGF- $\beta$ /Smad, PTEN/PI3K-AKT	過剰炎症抑制, 創傷閉鎖促進, 再生芽形成維持	Xenopus 尾, サラマンダー四肢
miR-146a/b	全般	炎症期	IRAK1/TRAF6, TLR-NF- $\kappa$ B	炎症収束	哺乳類, 両生類
miR-155	免疫系	炎症初期	M1 極性化	炎症促進・線維化方向	哺乳類, 両生類候補
miR-223	免疫系	炎症分解期	好中球・単球制御	炎症の調律	哺乳類, 両生類候補
miR-125b	脊髄・神経	神経再生期	Sema4D	軸索再生促進, 免疫寛容	サラマンダー神経, 哺乳類
miR-181a/b	再生芽	blastema 期	リンパ球選択性, 免疫寛容	免疫バランス調整	両生類 (イモリ), 哺乳類
miR-29 family	結合組織	損傷後	COL1A1/3A1, ELN 抑制	抗線維化	両生類, 哺乳類
miR-200a/family	脊髄・上皮	再生期	ZEB1/2, EMT 制御	ECM リモデリング, 瘢痕抑制	哺乳類, 両生類候補
miR-199/214 cluster	全般	時期依存	TGF- $\beta$ /Smad, HIF	線維化制御	哺乳類, サラマンダー候補
miR-126	血管	再血管期	VEGF シグナル	血管新生促進	両生類, ヒト
miR-210	全般	低酸素期	HIF-1 $\alpha$	代謝転換, 血管新生	哺乳類, 両生類候補
miR-221/222	血管内皮	血管新生	内皮遊走	血管形成調整	哺乳類, 両生類候補
miR-9 / miR-124	脊髄・神経	神経再生期	神経分化, 軸索伸長	神経再生促進	サラマンダー, Xenopus, 哺乳類
let-7 family	全般	分化期 (後期)	成熟スイッチ	成熟化促進	サラマンダー, Xenopus
miR-132	神経	神経再生期	BDNF 応答	神経栄養促進	哺乳類, 両生類候補
miR-1/133/206	筋	後期 (再分化)	筋分化関連遺伝子	筋再生調整	イモリ, 哺乳類
miR-26a	筋・結合組織	再生期	SMAD1/4	筋・結合組織分化調整	両生類, 哺乳類



RNA	発現部位	発現時期	主な標的/経路	機能	生物種（報告例）
miR-10 / miR-196	再生芽	ブラステマ期	Hox, RA–Meis 軸	位置情報再設定	サラマンダー, 魚類
miR-31	上皮	上皮移動期	創閉鎖関連	再生野境界形成	魚類, 両生類候補
miR-17-92 cluster	再生芽	ブラステマ期	増殖経路	増殖スイッチ	両生類, 哺乳類
miR-203	上皮	AEC 形成期	角化抑制	非角化維持	両生類, 哺乳類
miR-205	上皮	上皮再生期	E-cadherin ネットワーク	上皮バリア回復	哺乳類, 両生類候補
miR-182/183/96 cluster	網膜	網膜再生期	視細胞系列維持	網膜転換	イモリ, Xenopus
miR-7, miR-23, miR-24	レンズ・網膜	再生期	Pax6, Six, Otx	再生スイッチ調整	イモリ, Xenopus
MALAT1 (lncRNA)	血管・上皮	血管新生期	スプライシング, EMT	血管新生, EMT	哺乳類, 両生類候補
HOTAIR (lncRNA)	結合組織	線維化期	PRC2	線維化・EMT 調整	哺乳類, 両生類候補
NEAT1 (lncRNA)	免疫系	炎症期	Paraspeckle, 免疫制御	炎症応答パルス化	哺乳類, 両生類候補
lncRNA 群	再生芽	ブラステマ期	–	免疫・血管・Wnt/FGF 応答	アホロートル, Pleurodeles
circRNA 群	上皮・血管・筋	再生期	miRNA スポンジ	上皮移動, 血管新生, 筋分化調整	両生類

### 低下群（Downregulated）

RNA	発現部位	発現時期	主な標的/経路	機能	生物種（報告例）
miR-206	筋	初期	筋分化関連	初期は抑制、その後上昇	イモリ, 哺乳類
let-7 family	全般	初期	成熟スイッチ	初期は抑制、その後再上昇	サラマンダー, Xenopus

### まとめ

- 常に上昇する群: miR-21, miR-200a, miR-125b, miR-196, miR-126, miR-210, など多数。
- 時間依存で変動する群: miR-206（初期↓ 後期↑）, let-7 family（初期↓ 後期↑）。

## List of miRNAs by Expression Changes (Upregulated/Downregulated)

### Upregulated miRNAs

RNA	Expression site	Expression stage	Targets/Pathways	Functions	Species (examples)
miR-21	Tail, limb	Early injury → blastema	Macrophage polarization, TGF- $\beta$ /Smad, PTEN/PI3K-AKT	Suppresses excessive inflammation, promotes wound closure, maintains blastema	Xenopus tail, Salamander limb
miR-146a/b	General (immune)	Inflammatory phase	IRAK1/TRAF6, TLR-NF- $\kappa$ B	Inflammation resolution	Mammals, amphibians (transcriptomic)
miR-155	Immune system	Early inflammation	M1 polarization	Pro-inflammatory, pro-fibrotic	Mammals, amphibian candidate
miR-223	Immune system	Resolution phase	Neutrophil/monocyte regulation	Fine-tunes inflammation	Mammals, amphibian candidate
miR-125b	Spinal cord, neural	Neural regeneration	Sema4D	Axonal regrowth, immune tolerance	Salamander neural tissue, mammals
miR-181a/b	Blastema	Blastema stage	Lymphocyte selection, immune tolerance	Balances immune tone	Amphibians (newts), mammals
miR-29 family	Connective tissue	Post-injury	COL1A1/3A1, ELN suppression	Anti-fibrotic	Amphibians (detected), mammals (validated)
miR-200a/family	Spinal cord, epithelium	Regeneration	ZEB1/2, EMT control	ECM remodeling, scar suppression	Mammals, amphibian candidate
miR-199/214 cluster	General	Stage-dependent	TGF- $\beta$ /Smad, HIF	Fibrosis regulation	Mammals, salamander candidate
miR-126	Vasculature	Revascularization	VEGF signaling	Promotes angiogenesis	Amphibians, human endothelial

RNA	Expression site	Expression stage	Targets/Pathways	Functions	Species (examples)
miR-210	General	Hypoxia phase	HIF-1 $\alpha$	Metabolic shift, angiogenesis	Mammals, amphibian candidate
miR-221/222	Endothelium	Angiogenesis	Endothelial migration	Regulates vessel formation	Mammals, amphibian candidate
miR-9 / miR-124	Spinal cord, neural	Neural regeneration	Neural differentiation, axon extension	Promotes neuroregeneration	Salamander spinal cord, Xenopus, mammals
let-7 family	General	Differentiation (late)	Maturation switch	Promotes maturation	Salamander, Xenopus
miR-132	Neural tissue	Neural regeneration	BDNF response, axon guidance	Neurotrophic support	Mammals, amphibian candidate
miR-1/133/206	Muscle	Late (redifferentiation)	Myogenic genes	Muscle regeneration	Newt muscle, mammals
miR-26a	Muscle, connective tissue	Regeneration	SMAD1/4	Regulates myogenic & connective tissue differentiation	Amphibians (candidate), mammals
miR-10 / miR-196	Blastema	Blastema stage	Hox cluster, RA–Meis axis	Reset positional identity	Salamanders, fish
miR-31	Epithelium	Epithelial migration	Wound closure	Defines regenerative field boundary	Strong in fish, amphibian candidate
miR-17-92 cluster	Blastema	Blastema stage	Proliferation, survival	Growth “on-switch”	Amphibians (candidate), mammals
miR-203	Epithelium	AEC formation	Keratinization suppression	Maintains non-keratinized epidermis	Amphibians, mammals
miR-205	Epithelium	Epithelial regeneration	E-cadherin network	Restores epithelial barrier	Mammals, amphibian candidate
miR-182/183/96 cluster	Retina	Retinal regeneration	Photoreceptor maintenance	RPE → neural retina conversion	Newts, Xenopus

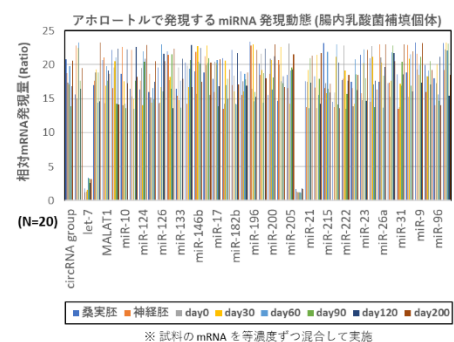
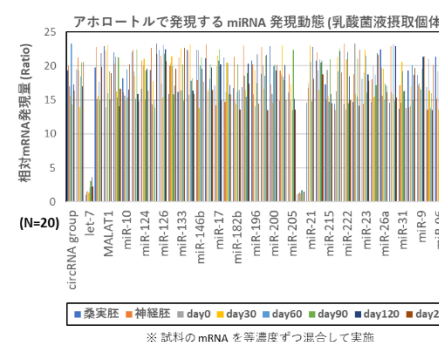
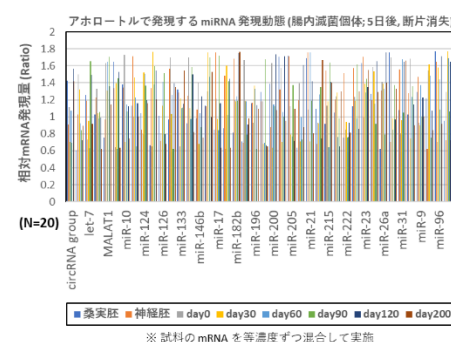
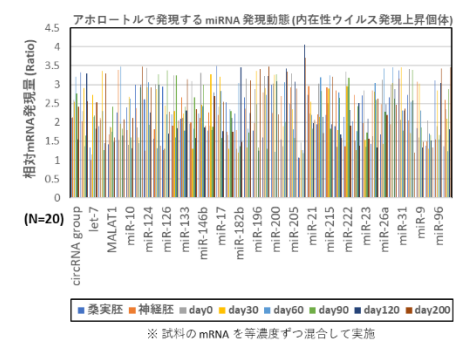
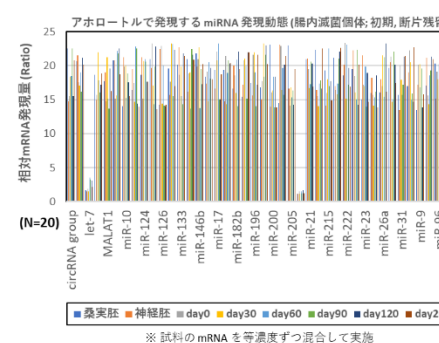
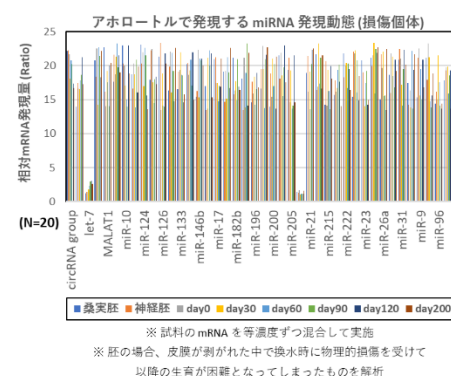
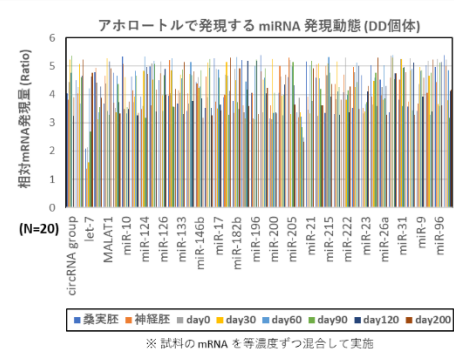
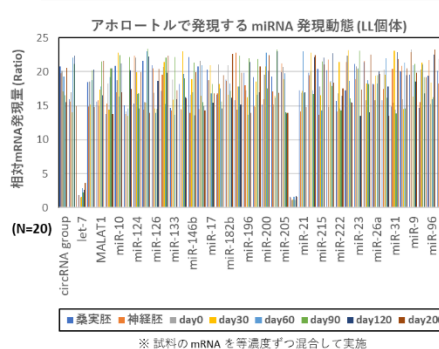
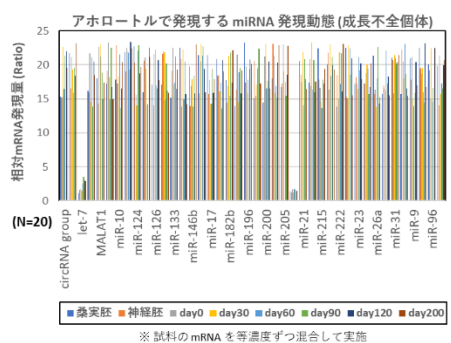
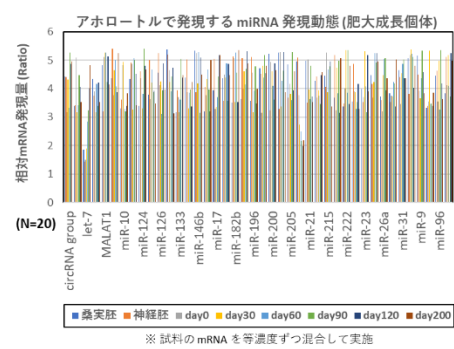
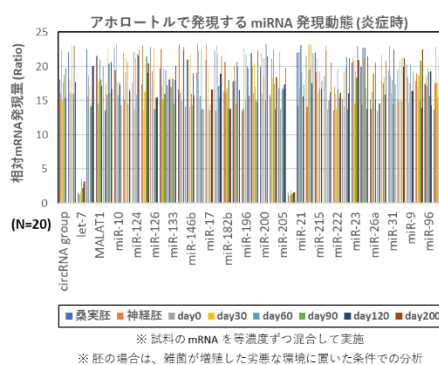
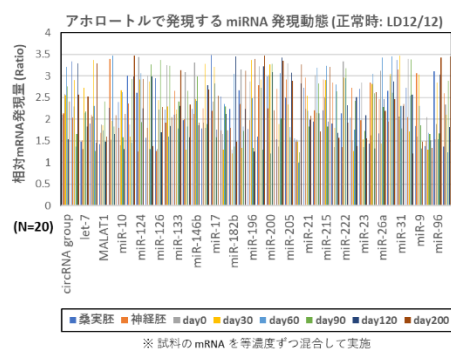
RNA	Expression site	Expression stage	Targets/Pathways	Functions	Species (examples)
miR-7, miR-23, miR-24	Lens, retina	Lens/retina regeneration	Pax6, Six, Otx	Regeneration switch	Newts, Xenopus
MALAT1 (lncRNA)	Vasculature, epithelium	Angiogenesis	Splicing, EMT	Angiogenesis, EMT	Mammals, amphibian candidate
HOTAIR (lncRNA)	Connective tissue	Fibrosis phase	PRC2	Fibrosis/EMT regulation	Mammals, amphibian candidate
NEAT1 (lncRNA)	Immune	Inflammatory phase	Paraspeckle, immune regulation	Pulsatile immune response	Mammals, amphibian candidate
lncRNA group	Blastema	Blastema stage	Immune, vascular, Wnt/FGF	Regeneration hub	Axolotl, Pleurodeles
circRNA group	Epithelium, vasculature, muscle	Regeneration	miRNA sponge	Cell migration, angiogenesis, myogenesis	Amphibians (reported)

#### Downregulated miRNAs

RNA	Expression site	Expression stage	Targets/Pathways	Functions	Species (examples)
miR-206	Muscle	Early phase	Myogenic genes	Down early → upregulated later, drives myogenesis	Newts, mammals
let-7 family	General	Early phase	Maturation switch	Suppressed early → reinduced later	Salamanders, Xenopus



# ハルラボにおける知見



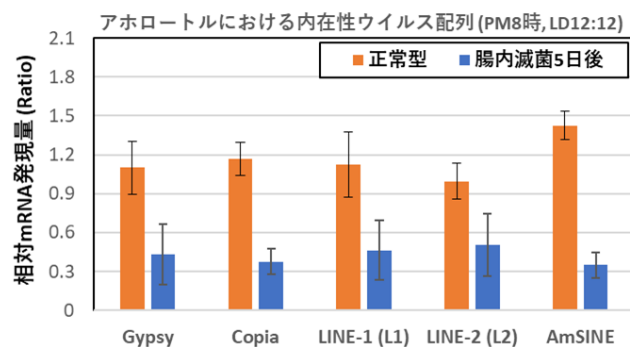
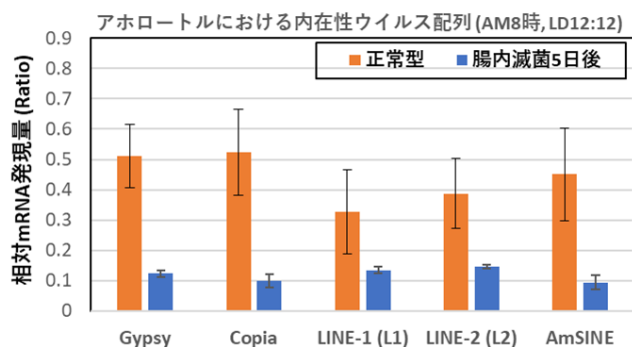
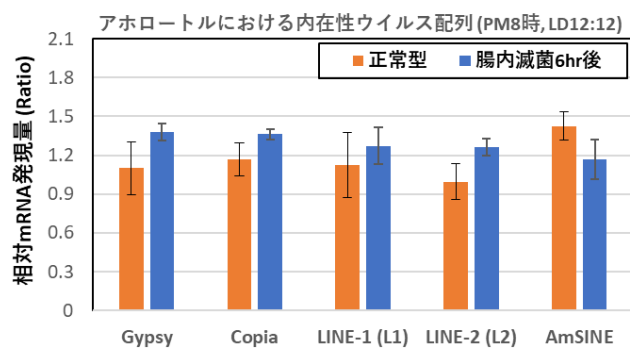
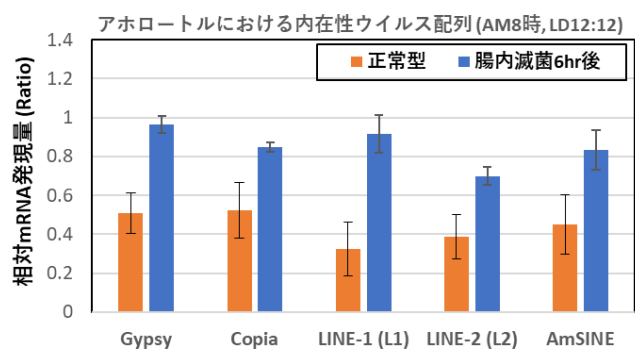
## 補足図 1: アホロートルにおける miRNA の発現動態-1

※ 初期: 滅菌 6hr 後

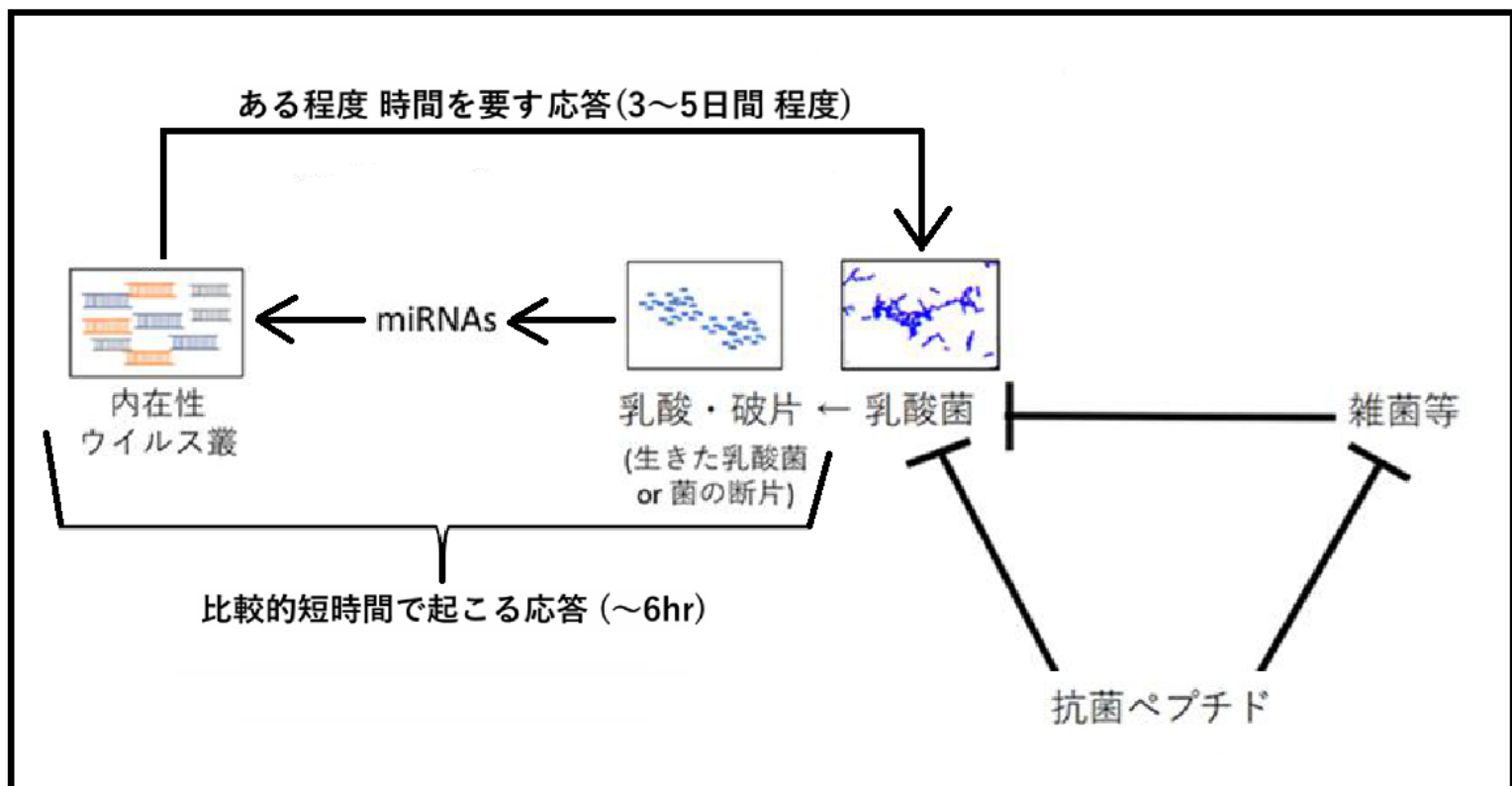


※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





補足図2: アホロートルにおける内在性ウイルス配列発現-腸内細菌叢-miRNA発現の関連性



補足図 3: 腸内細菌叢と miRNA の発現動態の相関関係予想モデル図

## <文献紹介>

Ref: Abo-Al-Ela & Burgos-Aceves (2020), Journal of Cellular Physiology

[Journal of Cellular Physiology | Cell Biology Journal | Wiley Online Library](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.29920)

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.29920>

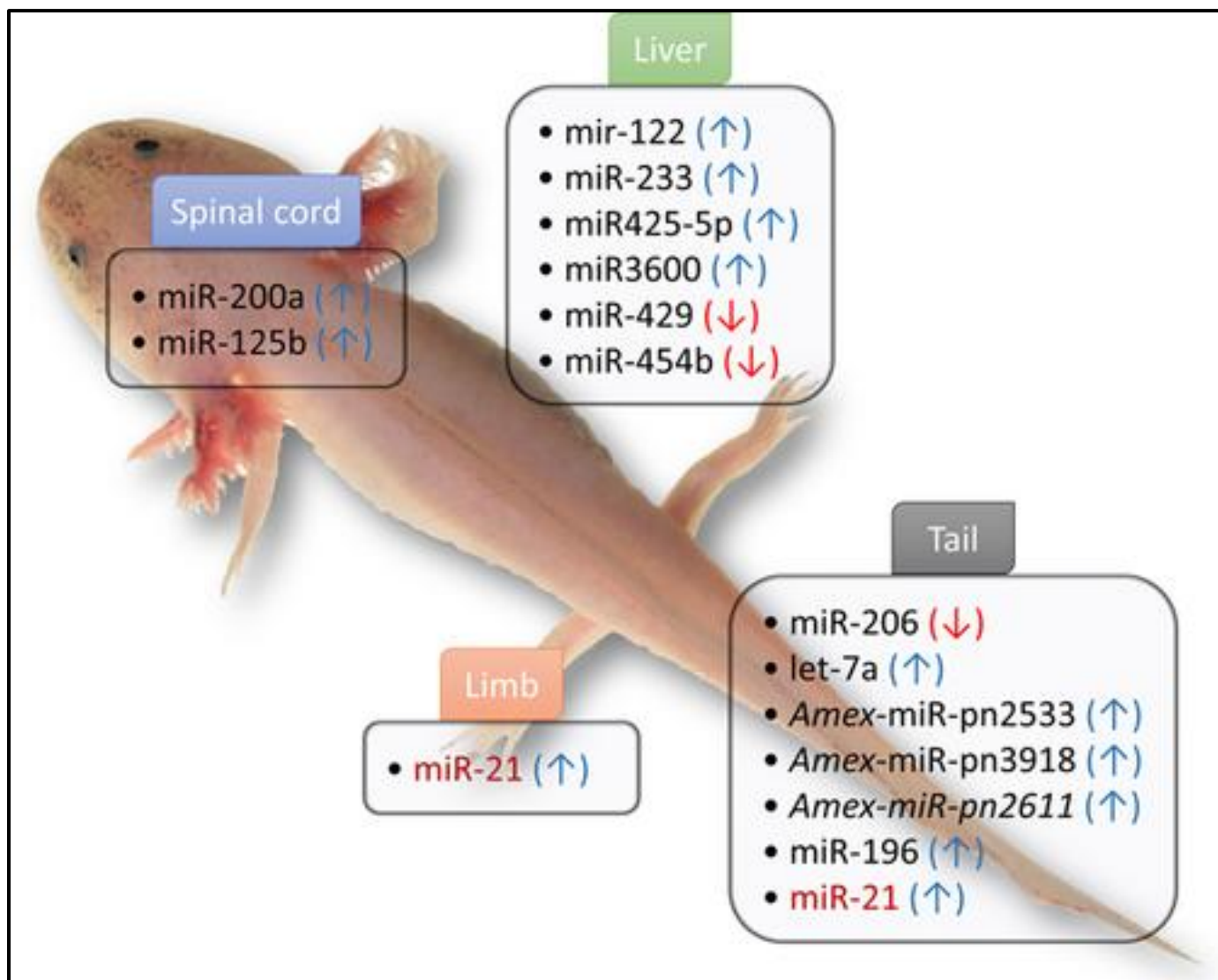


Figure 3

The different miRNAs that have been discovered during axolotl regeneration. Candidate miRNAs that have been studied when spinal cord, tail, limb regenerate show that some are upregulated and others downregulated. Of these, miR-21 showed an upregulation during both tail and limb regeneration. miRNAs, micro RNAs

アホロートルの再生過程で発見されたさまざまな miRNA。

脊髄、尾、四肢の再生において研究された候補 miRNA の中には、発現が上方制御されるものと下方制御されるものがある。そのうち miR-21 は、尾と四肢の両方の再生過程で発現が上昇することが示された。

## アホロートル再生におけるマイクロ RNA の役割を探る

### Exploring the role of microRNAs in axolotl regeneration

Abo-Al-Ela, H. G., Burgos-Aceves, M. A.

*Journal of Cellular Physiology.* 2020, Volume: 235, Issue: 12, Pages: 9077–9088.

DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.29732>

#### 概要

アホロートル (*Ambystoma mexicanum*) は、脊椎動物の中でも特異的な再生能力を持ち、四肢や尾、脊髄、心臓などの主要器官を完全に再生できるモデル生物である。哺乳類の再生は瘢痕治癒に依存するのに対し、アホロートルでは「ブラステマ」と呼ばれる脱分化細胞や前駆細胞の集合体が形成され、組織再建を担う。非コード RNA、特にマイクロ RNA (miRNA) は、この再生プロセスで重要な制御因子として機能し、発現タイミングや組織特異的な遺伝子制御を介してブラステマ形成や細胞分化を調整する。

#### 主なポイント

- **miRNA の役割**

miR-21, miR-125b, miR-200a, miR-133, miR-196, let-7 ファミリーなどが、尾・脊髄・四肢の再生過程で動的に調節される。特に miR-21 は尾と四肢の両方で強くアップレギュレーションされ、Jagged1 (Notch リガンド) を標的として分化制御に関与する。

- **脊髄再生**

miR-200a は glia の増殖・瘢痕形成抑制に関与し、miR-125b は Sema4D を標的として軸索再生を助ける。哺乳類とは異なり、瘢痕形成を抑える方向に働く。

- **尾再生**

miR-196 は切断部位近傍で上昇し、Pax7/BMP4/Msx1 の制御に関与。miR-206 は再生初期に抑制され、その後上昇して筋分化を誘導。

- **四肢再生**

傷害後すぐに創傷上皮が形成され、ブラステマが誘導される。ここでも miR-21 の発現増加が顕著であり、blastema 形成・維持に重要。miR-10b-5p, miR-427 など関与。

- **シグナル経路とのクロストーク**

miRNA は Hedgehog, RA (レチノイン酸), FGF, Notch など主要な発生シグナルを介して再生を制御。

- **免疫と ROS**

再生にはマクロファージが必須で、miRNA (例: miR-23a, let-7i, miR-21) が免疫応答や ROS シグナルと連携して創傷環境を再生寄りに整える。

- **幹細胞と脱分化**

筋サテライト細胞や線維芽細胞は部分的に脱分化し、ブラステマの多様な前駆細胞群を構成。miRNA はこれらの転換にも関与する。

#### 結論

アホロートル再生において miRNA は「いつ・どの細胞が・どのように働くか」を精密に制御する鍵分子である。現在までに 297 の新規 miRNA と 352 の保存された miRNA が同定されており、その比較解析は再生生物学やヒトの再生医療応用に直結する可能性がある。今後は miRNA を治療分子として応用する展望も期待される。



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





## Abstract

The axolotl (*Ambystoma mexicanum*) is a premier vertebrate model for regeneration, capable of fully restoring complex organs such as limbs, tail, spinal cord, and heart. Unlike mammals, which largely rely on scar-based healing, axolotls form a blastema composed of dedifferentiated or progenitor cells that rebuild tissues. Noncoding RNAs, particularly microRNAs (miRNAs), act as critical regulators in this process by orchestrating gene expression programs essential for blastema formation, cell proliferation, and differentiation.

## Key Points

- **Roles of miRNAs**

miRNAs such as miR-21, miR-125b, miR-200a, miR-133, miR-196, and the let-7 family are dynamically regulated during spinal cord, tail, and limb regeneration. Notably, miR-21 is strongly upregulated in both tail and limb regeneration, targeting Jagged1 to modulate differentiation.

- **Spinal cord regeneration**

miR-200a regulates glial proliferation and prevents scarring, while miR-125b targets Sema4D to enable axonal reconnection. Unlike mammals, axolotls suppress scar formation.

- **Tail regeneration**

miR-196 is upregulated near the amputation plane, modulating Pax7/BMP4/Msx1. miR-206 is initially downregulated and later induced to promote muscle differentiation.

- **Limb regeneration**

Wound epidermis forms rapidly post-injury to initiate blastema. miR-21 is again highly expressed, supporting blastema maintenance. Other players include miR-10b-5p and miR-427.

- **Signaling crosstalk**

miRNAs integrate with Hedgehog, retinoic acid (RA), FGF, and Notch signaling to fine-tune regeneration.

- **Immune system and ROS**

Macrophages are essential for successful regeneration. miRNAs (e.g., miR-23a, let-7i, miR-21) modulate immune responses and ROS signaling to create a pro-regenerative microenvironment.

- **Stem cells and dedifferentiation**

Satellite cells and fibroblasts contribute via partial dedifferentiation to heterogeneous blastema progenitors, with miRNAs actively involved in their fate decisions.

## Conclusion

miRNAs are central to the orchestration of axolotl regeneration, precisely regulating the timing, location, and function of cellular responses. To date, 297 novel and 352 conserved miRNAs have been identified in axolotls. Comparative analyses highlight their potential as therapeutic molecules and as entry points for regenerative medicine in humans.

## 要旨：Abstract

アホロートル (*Ambystoma mexicanum*) は、四肢、尾、脊髄、心臓などの複雑な器官を完全に再生する能力を持つ脊椎動物のモデルである。この再生能力は、ヒトを含む哺乳類とは対照的であり、哺乳類では損傷後に瘢痕治癒が起こるのに対し、アホロートルでは再生芽が形成される。再生芽は、既存の組織から脱分化した細胞や前駆細胞から成り立ち、再構築の中心を担う。非コード RNA (ncRNA)、特にマイクロ RNA (miRNA) は、遺伝子発現の制御を通してこの過程に重要な役割を果たしており、細胞増殖、分化、免疫応答、酸化還元信号など、再生の各局面で動的に働く。近年の研究では、アホロートル再生に関与する 352 種類の保存された miRNA と 297 種類の新規 miRNA が同定されている。これらは、脊髄、尾、四肢の再生においてアップレギュレーションまたはダウンレギュレーションされることが確認されている。その中で miR-21 は、尾および四肢の両方の再生において一貫してアップレギュレーションされることが示され、Notch リガンド Jagged1 を標的として分化過程に影響を及ぼす。これらの知見は、再生医療における miRNA の潜在的な応用可能性を示している。

The axolotl (*Ambystoma mexicanum*) is a vertebrate model with the remarkable capacity to regenerate complex organs, including limbs, tail, spinal cord, and heart. Unlike mammals, which undergo scarring after injury, the axolotl forms a blastema composed of dedifferentiated and progenitor cells that drive tissue reconstruction. Noncoding RNAs (ncRNAs), particularly microRNAs (miRNAs), play pivotal roles in this process by modulating gene expression programs associated with cell proliferation, differentiation, immune responses, and redox signaling. Recent studies have identified 352 conserved and 297 novel miRNAs involved in axolotl regeneration, many of which are dynamically upregulated or downregulated in spinal cord, tail, and limb regeneration. Among these, miR-21 is consistently upregulated during both tail and limb regeneration, targeting the Notch ligand Jagged1 and influencing differentiation. These findings highlight the potential applications of miRNAs in regenerative medicine.



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



## 導入: Introduction

脊椎動物の中でも、再生能力には大きな差があります。哺乳類では損傷に対して主に瘢痕形成で対応しますが、両生類、特に有尾類は失った器官をまるごと取り戻すことが可能です。アホロートルはその代表例であり、四肢や尾、脊髄、心臓、さらには脳の一部にまで再生能力を示します。

この能力は、損傷直後に形成される創傷上皮、大食細胞を中心とした免疫応答の調整、そして「再生芽」と呼ばれる細胞集団の形成といった一連のプロセスに支えられています。再生芽には線維芽細胞や筋サテライト細胞、血管内皮や神経系の細胞などが参加し、一時的に脱分化して前駆細胞として働きます。これらの細胞は、FGF や Wnt、RA、Notch、Hedgehog などの発生シグナルを頼りに再び分化し、完全な器官を作り直します。

この分子制御の中で重要な役割を担うのが非コード RNA、特にマイクロ RNA (miRNA) です。miRNA は mRNA の翻訳を抑えることで遺伝子発現を調節し、再生の各段階で働きます。アホロートルでは miRNA の発現が再生過程で大きく変化することが複数の研究で報告されており、脱分化、増殖、分化、免疫応答に影響を与えることが知られています。ただし、その全容はまだ十分に理解されていません。本論文は、既知および新規 miRNA の動態を整理し、とくに脊髄、尾、四肢再生での機能的意義を紹介しています。

Among vertebrates, regenerative ability varies enormously. Mammals generally heal injuries through scar formation, whereas amphibians—and particularly urodeles—can fully regenerate lost body parts. The axolotl is a key example, capable of restoring limbs, tail, spinal cord, heart, and even parts of the brain.

This remarkable capacity depends on sequential processes: the establishment of a wound epidermis, modulation of immune activity by macrophages, and the emergence of a “blastema,” a collection of cells that dedifferentiate to become progenitor-like. Fibroblasts, muscle satellite cells, vascular endothelial cells, and neural elements all contribute, later redifferentiating under the influence of developmental signals such as FGF, Wnt, RA, Notch, and Hedgehog to rebuild intact structures.

Central to the molecular regulation of these events are noncoding RNAs, with microRNAs (miRNAs) being especially prominent. By repressing translation, miRNAs adjust gene expression programs, and multiple studies have shown dynamic shifts in their expression during axolotl regeneration. These changes influence dedifferentiation, proliferation, differentiation, and immune responses. Despite significant progress, a complete picture of axolotl miRNA biology remains elusive. This review highlights both conserved and novel miRNAs, emphasizing their roles in spinal cord, tail, and limb regeneration.



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



## 手法: Methods

この総説は、アホロートルの再生における miRNA の役割に関して公開されている知見を整理したものです。著者らは PubMed、Scopus、Web of Science などの主要データベースを用い、「axolotl」「microRNA」「ncRNA」「regeneration」「limb」「spinal cord」「tail」などの検索語を組み合わせて文献を調べました。さらに、RNA-seq を利用したトランスクリプトーム解析や、再生過程での miRNA 発現を直接測定した研究も参照しています。集められた研究は対象組織ごと（脊髄、尾、四肢）、発現動態（上昇・下降）、および関連する遺伝子やシグナル経路ごとに分類され、比較が行われました。

This review consolidates published findings on the functions of miRNAs during axolotl regeneration. Literature searches were conducted in PubMed, Scopus, and Web of Science using terms such as “axolotl,” “microRNA,” “ncRNA,” “regeneration,” “limb,” “spinal cord,” and “tail.” Additional sources included transcriptomic studies employing RNA-seq and functional investigations reporting expression changes of miRNAs during regeneration. The collected work was organized by tissue type (spinal cord, tail, limb), by direction of regulation (up- or downregulation), and by association with particular target genes and signaling pathways, facilitating cross-study comparisons.



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





## 結果: Results

### 1. 脊髄再生に関わる miRNA

アホロートルの脊髄は完全に再生できる。研究では、miR-200a が神経膠細胞の過剰増殖と瘢痕形成を抑え、再生に適した環境を整えることが示された。miR-125b は Sema4D を標的にして軸索の再伸長を助け、神経回路の再接続に寄与する。さらに miR-21 は免疫調整と細胞増殖を通じて再生芽の形成を支援する。

### 2. 尾再生に関わる miRNA

尾の再生過程では発生プログラムと重なる制御が多く見られる。miR-196 は切断部位で発現が高まり、Pax7 や BMP4, Msx1 といった因子を調整する。miR-206 は初期には抑制されるが、後期には上昇して筋分化を促す。let-7 ファミリーは再生の後期に成熟シグナルとして働く。

### 3. 四肢再生に関わる miRNA

四肢再生では、損傷直後に創傷上皮が形成され、その後再生芽が誘導される。この際に miR-21 の強い上昇が一貫して観察され、Notch 経路を介して再生芽の維持に関わる。他にも miR-10b-5p や miR-427 などが再生芽の調整に関与していると報告されている。

### 4. シグナル経路との関連

miRNA は FGF、Wnt、RA、Notch、Hedgehog など発生シグナルと連携し、増殖・分化・位置情報の制御を調整している。

### 5. 免疫応答と酸化還元制御

大食細胞は再生に必須であり、枯渇すると再生が阻害される。miR-21, miR-23a, let-7i などは免疫応答と酸化還元バランスを整え、炎症の慢性化を防ぎつつ再生環境を整備する。

### 6. 幹細胞と脱分化

筋サテライト細胞や線維芽細胞などの局所細胞は脱分化して再生芽を構成する前駆細胞に変換される。この過程に miR-133, miR-206, miR-125b などが関与することが示されている。

## 結果: Results

### 1. miRNAs in spinal cord regeneration

Axolotl spinal cord regeneration involves several key miRNAs. miR-200a reduces glial proliferation and scarring, preserving a permissive environment. miR-125b targets Sema4D, aiding axonal outgrowth and reconnection. miR-21 contributes to blastema establishment by regulating immunity and cell proliferation.

### 2. miRNAs in tail regeneration

Tail regrowth mirrors developmental programs. miR-196 is upregulated near the injury plane, modulating Pax7, BMP4, and Msx1. miR-206 shows temporal regulation: suppressed early, induced later to promote muscle differentiation. The let-7 family serves as maturation cues at later stages.

### 3. miRNAs in limb regeneration

During limb regeneration, wound epidermis precedes blastema formation. miR-21 is robustly induced and influences the Notch pathway, ensuring blastema maintenance. miR-10b-5p and miR-427 are also implicated in this process.

### 4. Crosstalk with signaling pathways

miRNAs interact with FGF, Wnt, RA, Notch, and Hedgehog pathways to balance proliferation, differentiation, and positional identity.

### 5. Immune and redox regulation

Macrophages are indispensable; their depletion blocks regeneration. miR-21, miR-23a, and let-7i fine-tune immune and redox responses, preventing excessive inflammation while supporting regeneration.

### 6. Stem cells and dedifferentiation

Local cells like muscle satellite cells and fibroblasts dedifferentiate into progenitor-like cells forming the blastema. miR-133, miR-206, and miR-125b are linked to these transitions.

## 考察: Discussion

ここまでの研究から、miRNA は再生のあらゆる段階で働く「ハブ」として機能していることが浮かび上がる。脊髄では瘢痕を抑え、軸索再生を助ける miRNA が存在し、尾ではパターン形成や筋分化を調整する miRNA が時間依存的に動く。四肢では miR-21 が再生芽形成の中心的役割を担い、他の miRNA も補助的に関わる。さらに、miRNA は発生シグナルや免疫システムと密接に連携しており、炎症が長引かないように調節しながら再生環境を整えている。今後の課題は、miRNA の標的遺伝子を網羅的に特定し、発現の時間制御を理解すること、そしてこれらの知見をヒトの再生医学に応用する道を探ることである。

The collected evidence highlights miRNAs as hubs orchestrating multiple stages of regeneration. In the spinal cord, they suppress scarring and promote axonal repair. In the tail, they temporally regulate patterning and muscle redifferentiation. In the limb, miR-21 emerges as a central regulator of blastema formation, supported by additional miRNAs. These molecules interface with developmental pathways and the immune system, preventing prolonged inflammation and enabling a regenerative setting. Future directions include identifying direct targets, unraveling temporal regulation, and translating these insights into regenerative medicine for humans.

## 結論: Conclusion

アホロートルの再生能力は、miRNA による遺伝子制御に大きく依存している。これまでに 300 種類以上の新規 miRNA と 350 種類以上の保存的 miRNA が同定されており、それぞれが免疫制御、細胞周期、パターン形成、組織再生に寄与している。これらの知見は、ヒト再生医療に miRNA を活用する可能性を開く。今後は、標的遺伝子の網羅的な解明や時間的制御機構の理解を進めることで、再生研究から医療応用へと橋渡しが可能になると期待される。

Axolotl regeneration heavily relies on miRNA-mediated regulation. More than 300 novel and 350 conserved miRNAs have been identified, each contributing to immune modulation, cell cycle control, patterning, and tissue restoration. These findings suggest that miRNAs could serve as tools in human regenerative medicine. Future studies aimed at mapping miRNA targets and understanding temporal control will help translate axolotl biology into clinical advances.



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。



## 参考文献 References

1. Godwin, J.W., Pinto, A.R., Rosenthal, N.A. (2013). Macrophages are required for adult salamander limb regeneration. *PNAS* 110(23): 9415–9420.
2. King, B.L., Yin, V.P. (2016). A conserved microRNA regulatory network controls heart regeneration in zebrafish. *Dev Cell* 36(4): 422–435. (魚類だが miRNA 機能保存の例)
3. Sehm, T., Sachse, C., Frenzel, C., Echeverri, K. (2009). miR-196 is an essential early-stage regulator of tail regeneration, linking positional identity to cell proliferation. *Development* 136: 1207–1217.
4. Yoshida, K. et al. (2013). Transcriptional control of tissue regeneration by miR-21 in *Xenopus laevis*. *Dev Biol* 384(2): 213–225.
5. Murawala, P., Tanaka, E.M., Currie, J.D. (2012). Regeneration: the ultimate example of wound healing. *Semin Cell Dev Biol* 23(9): 954–962.
6. Wu, C.I., Shen, Y., Tang, T. (2019). Evolution under canalization and the dual roles of microRNAs: a hypothesis. *Genome Res* 19(5): 734–743.
7. Chen, J., Wang, D.Z. (2012). microRNAs in cardiovascular development and regeneration. *Cell Mol Life Sci* 69: 1521–1533.
8. Vidigal, J.A., Ventura, A. (2015). The biological functions of miRNAs: lessons from in vivo studies. *Trends Cell Biol* 25(3): 137–147.
9. Sun, C., Li, J., Li, Y. et al. (2022). Non-coding RNAs in wound healing and tissue regeneration. *Front Genet* 13: 832565.
10. Yin, V.P., Lepilina, A., Smith, A., Poss, K.D. (2012). Regulation of zebrafish heart regeneration by miR-133. *Dev Biol* 365(2): 319–327.
11. Necsulea, A., Kaessmann, H. (2014). Evolutionary dynamics of coding and non-coding transcriptomes. *Nat Rev Genet* 15: 734–748.
12. Geng, T., Zhao, X., Ma, M. et al. (2020). Roles of lncRNA and circRNA in regulating inflammation and immunity in disease and regeneration. *Cell Mol Immunol* 17: 583–602.

## Axolotl database

- [Exploring the role of microRNAs in axolotl regeneration - PubMed](#)
- [axobase.org/databases](http://axobase.org/databases)
- [miRDB - MicroRNA Target Prediction Database](#)



※ 各検証については、内容と必要に応じて、専門家の方々のご指導・ご協力のもと実施しております。  
※ 一般家庭で実施不可能な試験が複数あり。一般的な飼育技術用へ応用可能な場合は、その旨を明記いたします。





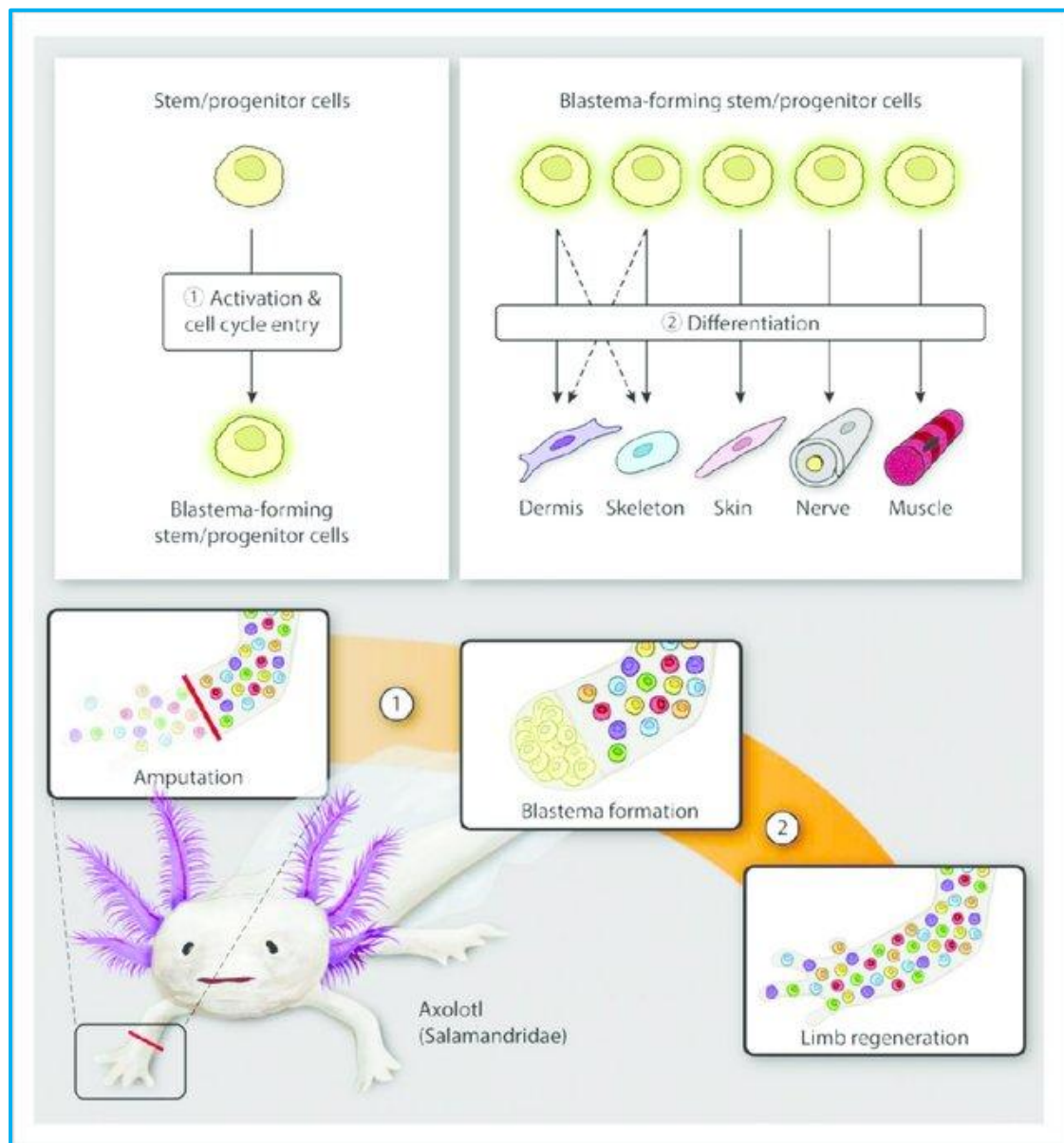
## <文献紹介>

### 四肢再生における幹細胞の担う役割

#### The Role of Stem Cells in Limb Regeneration

March 2016 Organogenesis 12(1) DOI: [10.1080/15476278.2016.1163463](https://doi.org/10.1080/15476278.2016.1163463)

[https://www.researchgate.net/publication/299396169\\_The\\_Role\\_of\\_Stem\\_Cells\\_in\\_Limb\\_Regeneration](https://www.researchgate.net/publication/299396169_The_Role_of_Stem_Cells_in_Limb_Regeneration)



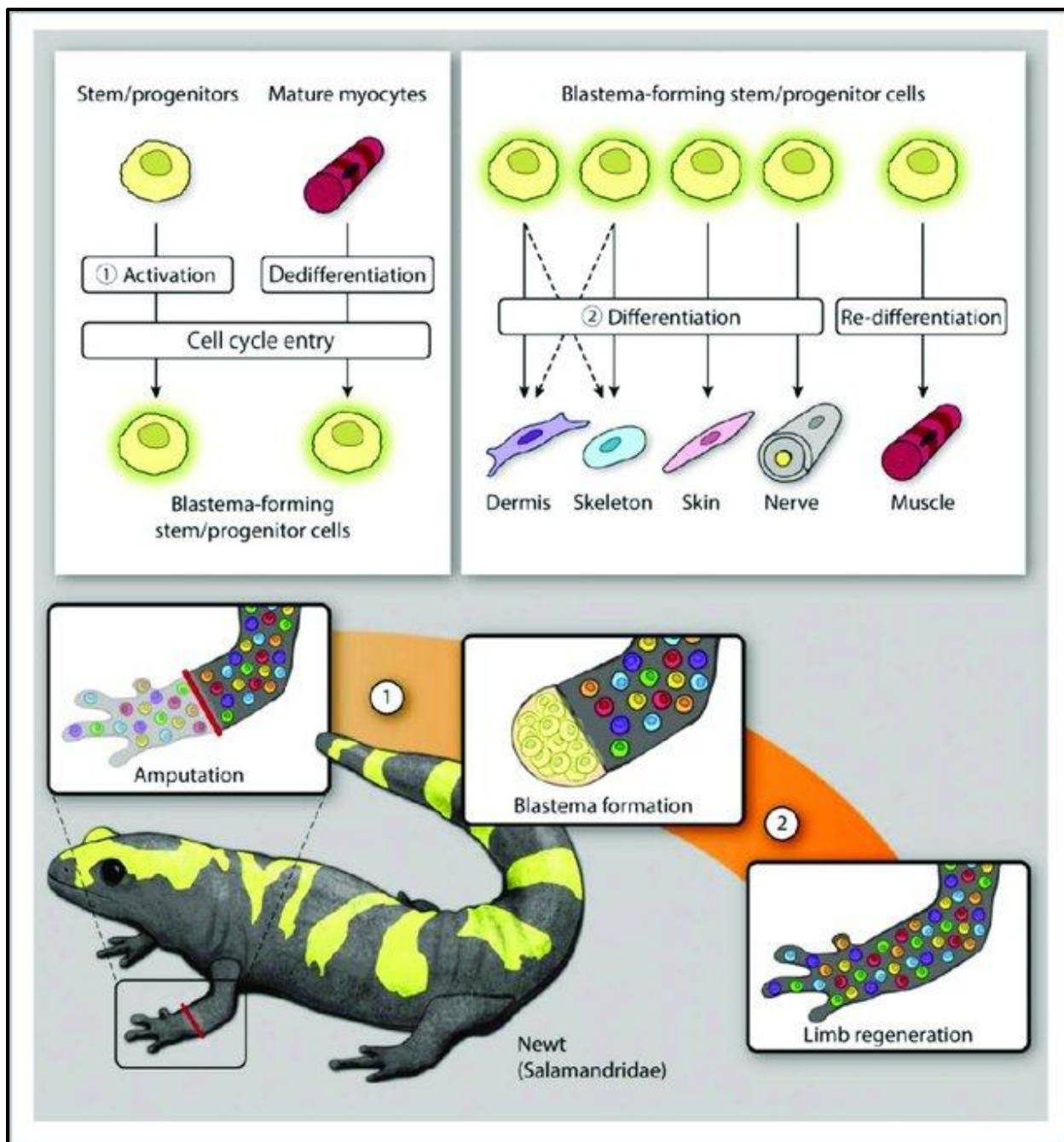
Ref. [https://www.researchgate.net/publication/299396169\\_The\\_Role\\_of\\_Stem\\_Cells\\_in\\_Limb\\_Regeneration](https://www.researchgate.net/publication/299396169_The_Role_of_Stem_Cells_in_Limb_Regeneration)

### アホロートルの四肢再生

アホロートルでは、再生芽の形成（A）のために細胞の脱分化と組織常在型の幹／前駆細胞の活性化という細胞メカニズムが働き、その後の分化によって切断された四肢が再生される（B）。

#### Limb regeneration in axolotls.

Limb regeneration in axolotls. The axolotl follows a cellular mechanism of dedifferentiation and tissue-resident stem/progenitor cell activation for blastema formation (A) and subsequent differentiation to regenerate amputated limb (B).



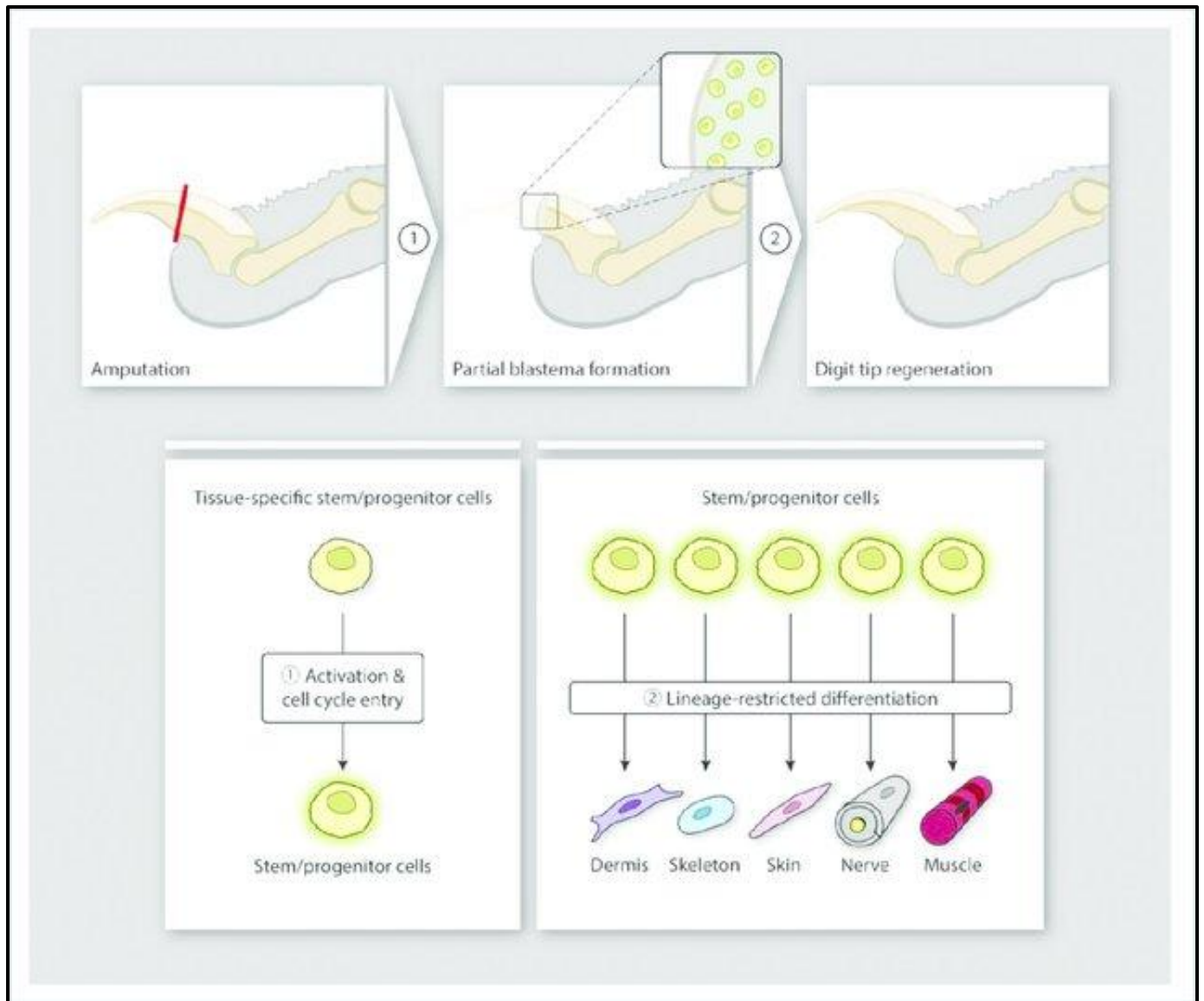
Ref. <https://www.researchgate.net/publication/299396169> The Role of Stem Cells in Limb Regeneration

## イモリの四肢再生

イモリ類両生類は、再生芽の形成（A）のために多様な細胞メカニズムを用いており、脱分化と組織常在型の幹／前駆細胞および成熟した筋細胞（筋再生に限定）の両方の活性化を示す。（脱分化した真皮線維芽細胞が真皮と骨格の両方の再生に寄与する可能性が高いが、イモリモデルで特異的に証明されたわけではない。）再生芽を形成する細胞はその後、分化または再分化して、切断された四肢の失われた組織を再構成する（B）。

### Limb regeneration in newts.

Limb regeneration in newts. Newt amphibians utilize a diverse array of cellular mechanisms for blastema formation (A), demonstrating both dedifferentiation and activation of both tissue-resident stem/progenitor cells and mature myocytes (muscle regeneration only). (While dedifferentiated dermal fibroblasts likely contribute to both dermal and skeletal regeneration, this has not been specifically shown in a newt model.) The cells forming the blastema then differentiate or re-differentiate to reconstitute the missing tissues of the amputated limb (B).



Ref. [https://www.researchgate.net/publication/299396169\\_The\\_Role\\_of\\_Stem\\_Cells\\_in\\_Limb\\_Regeneration](https://www.researchgate.net/publication/299396169_The_Role_of_Stem_Cells_in_Limb_Regeneration)

## 哺乳類における指先再生

マウスは、組織特異的な幹／前駆細胞を活性化する細胞メカニズムを利用して、再生芽に類似した構造を形成する (A)。この構造は、その後、胚葉および系統が限定された分化を経て、指先遠位部を再構成する (B)。

## Digit tip regeneration in mammals.

Mice employ cellular mechanisms that activate tissue-specific stem/progenitor cells for the formation of a blastema-like structure (A) which undergo germ-layer and lineage-restricted differentiation to reconstitute the distal digit tip (B).



## 【総説】 オオサンショウウオ (*Andrias japonicus*) の保全と全国的生物多様性活動

著: F.N. 三太子<sup>1</sup>; 杉山 遥<sup>1</sup>; 横江 誼衡<sup>1, 2, 3, 4</sup>

1. NPO 研究グループ\_ハルラボ (ウーパールーパー研究室),<sup>2</sup> 東京大学,<sup>3</sup> 秀明大学,<sup>4</sup> サイマン・テクノロジー



伊勢シーパラダイス(シーパラ) |  
三重県伊勢市のゼロ距離水族館 様

### 1. はじめに

オオサンショウウオ (*Andrias japonicus*) は日本固有の大型淡水両生類で、最大体長 1.5 m、体重 20 kg を超える個体も確認される。底生性で夜行性、皮膚呼吸を行うため、清流域に依存した生息が特徴であり、食性は小魚、甲殻類、昆虫などを対象とした待ち伏せ型である。生態系の指標種としての役割も重要である。

本稿では、日本オオサンショウウオの保全活動の現状と課題、遺伝子解析による個体群評価、中国オオサンショウウオとの混血問題、種の識別方法、さらにアメリカオオサンショウウオ (ヘルペンダー) との比較を通して、今後の保全策について論じる。また、全国で展開されている生物多様性保全活動の事例も併せて紹介する。



## 2. 生息環境と保全の必要性

### 2.1 分布と生息環境

オオサンショウウオは本州西部の山間部河川に分布し、標高 200～1000 m の清流を中心に生息する。水温 10～18℃、高い酸素飽和度を持つ環境を好み、河川の岩や砂利、流量などが生息適地を決定する。河川の断片化、ダム建設、土砂流入は生息域の縮小と個体群隔離を招き、地球温暖化による水温上昇も繁殖・成長に影響する。

### 2.2 保全の必要性

文化財保護法および自然環境保全法により、日本オオサンショウウオは天然記念物に指定され、保護対象となっている。しかし、外来種混入、密漁、河川環境の変化、混血個体の増加などが個体群の減少要因となっており、科学的根拠に基づく保全策が求められる。

---

## 3. 保全活動の現状と課題

### 3.1 国・自治体による保護政策

国や自治体は生息地保護、個体群管理、生態系モニタリング、環境改善プロジェクト、教育・啓発活動を推進している。具体例として、河川の岩や砂利の配置調整による産卵床保護、流量管理、森林・河岸帯の保全、農薬流入防止策などが実施されている。また、地域住民や学校との連携により保全意識の向上も図られている。

### 3.2 現場での課題

河川の分断化、外来魚や他種両生類との競合・捕食、観光・開発による生息地圧迫が課題である。特に外来種や混血個体の管理は、個体群の遺伝的純度維持の観点から重要である。

---

## 4. 遺伝子解析と個体群評価

### 4.1 遺伝的多様性の重要性

遺伝的多様性は、環境変化や病害への適応力の源である。低多様性は近交弱勢を引き起こし、個体群の存続力を低下させる。

### 4.2 個体群構造解析

解析手法として、ミトコンドリア DNA、マイクロサテライト、SNP 解析が用いられる。解析結果から地域ごとの個体群構造が明確化され、孤立した河川では遺伝的多様性が低下していることが示された。

### 4.3 保全への応用

遺伝子解析により混血個体や外来種侵入を早期に検出でき、個体群の純度維持や選択的繁殖に応用可能である。これにより、科学的根拠に基づいた保全戦略の構築が可能となる。

---

## 5. 中国オオサンショウウオとの混血問題

### 5.1 概要

中国オオサンショウウオ (*Andrias davidianus*) は大型で寿命が長く、日本国内ではペット市場や水族館由来の逸出個体が確認されている。

### 5.2 混血の原因

混血は飼育施設での異種交配、逸出・放流、個体識別不十分による管理不備によって生じる。

### 5.3 遺伝的・生態的影響

混血により日本オオサンショウウオの遺伝的希少性が低下し、行動・繁殖特性が変化する。保全対象としての価値も低下する。

### 5.4 防止策

遺伝子解析による個体群監視、外来個体の隔離・回収、飼育施設の管理規範徹底が推奨される。

## 6. 見分け方と識別方法

- 外見的特徴
  - 日本種：濃褐色～暗灰色、頭平たく尾細長
  - 中国種：明るい体色、斑点模様、尾幅広め
- 生態的特徴
  - 日本種：冷水清流、夜行性、産卵期春～初夏
  - 中国種：やや暖水環境、行動範囲広
- 遺伝子識別
  - ミトコンドリア DNA や SNP 解析で正確に種・混血を識別可能
- フィールドワーク注意
  - 捕獲・接触禁止、目視判別は誤認リスクが高いため注意

---

## 7. ヘルペンダー（アメリカオオサンショウウオ）との比較

- 学名：*Cryptobranchus alleganiensis alleganiensis*
- 生息域：米国北西部の山岳河川
- 繁殖期・水温適応は日本種と異なる
- 保全状況：絶滅危惧種、人工繁殖プログラム実施
- 国際協力により繁殖技術や環境管理方法の知見交換が進む

---

## 8. 全国の生物多様性保全活動と事例

### 8.1 SAVE JAPAN プロジェクト（全国 15 地域）

- 市民参加型プログラムで地域の自然環境を守る
- 例：北海道「親子で楽しむ石狩浜の海浜植物観察」、石川「茗荷の収穫体験～蝶が舞う里山づくり～」
- 成果：地域住民の環境意識向上、地域固有生態系保護に貢献

### 8.2 WWF ジャパン（全国・国際）

- 国内外での生物多様性保全活動
- 例：スマトラ熱帯林での違法伐採防止、トラ生息地でのカメラトラップ調査
- 成果：野生動物生息地保護に寄与

### 8.3 農林水産省の生物多様性戦略（全国）

- 農業・林業分野で保全策を推進
- 例：遊休荒廃地をワイン用ブドウ畑に転換し下草管理
- 成果：生物多様性向上と農業持続可能性の両立

### 8.4 地方公共団体のエコロジカル・ネットワーク構想（全国）

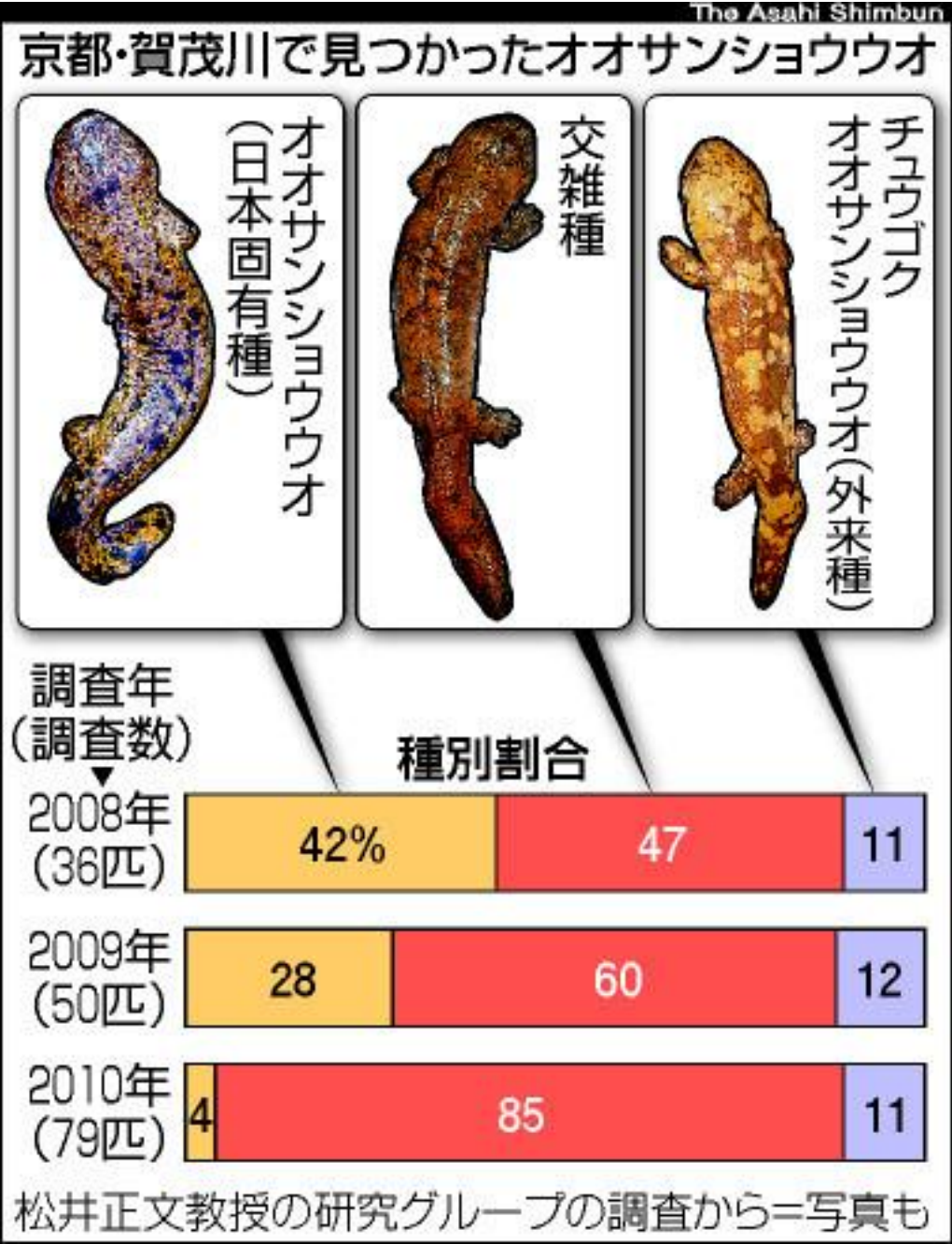
- 緑のネットワーク形成により都市と自然を連結
- 成果：生息環境の連続性維持と生物多様性確保

### 8.5 地域別主な取り組みと成果

地域	主な取り組み内容	成果・特徴
北海道	石狩浜の海浜植物観察プログラム	親子での自然観察を通じて理解が深化
石川県	茗荷の収穫体験～蝶が舞う里山づくり～	地域住民と共に蝶の生息地を保護
全国	WWF ジャパンによる熱帯林違法伐採防止活動	野生動物生息地保護に寄与
全国	農林水産省ワイン畑転換プロジェクト	生物多様性向上と農業持続可能性を実現

9. 結論と今後の展望

- 河川環境改善、外来種・混血管理、遺伝的多様性維持が保全の三本柱
- 遺伝子解析により混血早期発見・個体群管理が可能
- 地域社会との協働、教育・啓発活動の強化が不可欠
- 国際協力による繁殖技術・環境管理手法の共有も有効



参照 1: 朝日新聞記事

中国で絶滅のオオサンショウウオ、日本で生きてた 「保全進めたい」

矢田文 2024 年 3 月 4 日 10 時 00 分

**在来種**



**交雑種**



参照 2: 中京テレビ\_在来種の"オオサンショウウオ"は「特別天然記念物」

ほとんど見た目が同じの外来種から在来種を守れ!

三重・名張市 【2021.12.3 放送】 <https://www.youtube.com/watch?v=2ZAEpzoCUPY>





[Missouri Population of Eastern Hellbenders Endangered Species - Rumour Calm](https://rumourcalm.com/missouri-population-of-eastern-hellbenders-endangered-species/)

<https://rumourcalm.com/missouri-population-of-eastern-hellbenders-endangered-species/>

参考画像: ヘルペンダー (アメリカオオサンショウウオ)

オオサンショウウオ (ニホンオオサンショウウオ)

Andrias japonicus の概要

1. 基本情報と分類

項目	内容
学名	<i>Andrias japonicus</i> (Temminck, 1836)
英名	Japanese Giant Salamander
目	Caudata (有尾目)
科	Cryptobranchidae (オオサンショウウオ科)
属	<i>Andrias</i>
形態	体長最大 1.5 m、体重 20 kg 以上。頭は平たく、尾は幅が狭く細長い。皮膚は褐色～灰黒色で皺が多く、体表で呼吸可能(皮膚呼吸)。
生態	夜行性・底生性。河川の岩の下や砂利間に隠れ、魚類や甲殻類を捕食する。

特徴

- 世界最大の両生類の一つ。
- 皮膚呼吸が主要な呼吸方法で、酸素飽和度の高い清流を必要とする。
- 寿命は 30 年以上とされ、繁殖は春～初夏。

2. 種の分類と系統

2.1 オオサンショウウオ科の位置

オオサンショウウオ科 (Cryptobranchidae) は世界で 2 属 3 種のみ：

- Andrias japonicus* (日本オオサンショウウオ)
- Andrias davidianus* (中国オオサンショウウオ)
- Cryptobranchus alleganiensis* (アメリカオオサンショウウオ、Hellbender)

2.2 ニホンオオサンショウウオの系統

- 日本オオサンショウウオは日本固有種で、中国種とは遺伝的に明確に分離。
- 遺伝子解析(ミトコンドリア DNA、SNP 解析)により、日本国内でも地域ごとの遺伝的多様性が確認されている。
  - 中国山地型に近縁の個体群との遺伝的距離は大きく、混血は保護上の課題。
- 系統解析では、本州西部と九州北部の個体群にやや分化が見られる。



## 2.3 亜種の有無

- ・ 現状、ニホンオオサンショウウオに正式な亜種は認められていない。
  - ・ しかし、地域間で形態差（体色、尾幅、頭部形状）や遺伝的差があるため、保全上は地域個体群単位で管理することが推奨される。
- 

## 3. 生息分布

- ・ **分布域**: 本州西部（鳥取・島根・広島・岡山・京都など）、九州北部にわずかに分布。
  - ・ **生息環境**:
    - 清流・山間河川（標高 200～1000 m）
    - 水温 10～18℃、酸素飽和度の高い流れ
    - 底生で岩や砂利の下に潜む
- 

## 4. 保全状況

- ・ 天然記念物（文化財保護法）および絶滅危惧 IB 類（環境省レッドリスト）
  - ・ 主な脅威:
    - 河川の断片化（ダム・護岸工事）
    - 外来種や中国オオサンショウウオとの混血
    - 土砂流入・水質汚染
    - 密漁・観光開発による生息地圧迫
  - ・ 保全活動例:
    - 河川整備（産卵床保護、流量調整）
    - 遺伝子解析による個体群監視
    - 学校・地域住民との環境教育
    - 飼育下繁殖個体の放流計画（遺伝的多様性を考慮）
- 

## 5. 混血問題

- ・ 中国オオサンショウウオの逸出・放流により、日本オオサンショウウオとの混血が確認されている。
  - ・ 遺伝的純度の低下は保全上大きなリスク。
  - ・ 遺伝子解析（mtDNA・SNP）により、混血個体の早期発見が可能。
-

## 6. 遺伝的分類と個体群管理

- 解析手法：
  - ミトコンドリア DNA 解析
  - マイクロサテライト解析
  - SNP 解析(高解像度ゲノムマーカー)
- 個体群管理への応用：
  - 絶滅危惧個体群の特定
  - 混血個体の隔離
  - 遺伝的多様性維持のための繁殖プログラム設計

---

## 7. アメリカ・中国種との比較

項目	日本 ( <i>A. japonicus</i> )	中国 ( <i>A. davidianus</i> )	米国 ( <i>C. alleganiensis</i> )
最大体長	約 150 cm	180 cm 以上	60 cm 以上
分布	本州西部・九州北部	中国中部・南部	米国東部
生息環境	冷水清流	やや暖水河川	山岳清流
保全状況	絶滅危惧 IB 類	絶滅危惧種	絶滅危惧種
特徴	夜行性・底生・皮膚呼吸	大型・長寿・背中の斑点	夜行性・底生・小型

---



# チュウゴクオオサンショウウオ (*Andrias davidianus*) の概要

## 1. 基本情報と分類

項目	内容
学名	<i>Andrias davidianus</i> (Blanchard, 1871)
英名	Chinese Giant Salamander
目	Caudata (有尾目)
科	Cryptobranchidae (オオサンショウウオ科)
属	<i>Andrias</i>
形態	体長最大 1.8 m 以上、体重 50 kg を超える個体も存在。頭は平たく尾は幅広め。皮膚に斑点模様があり皺が多く、皮膚呼吸が可能。
生態	夜行性・底生性。冷水～温暖水域の河川・溪流に生息し、魚類や甲殻類を捕食。

### 特徴

- 世界最大の両生類で、寿命は 30～50 年以上。
- 大型個体は自然界でトッププレデターの存在。
- 皮膚呼吸に依存するため、酸素飽和度の高い水質が必須。

## 2. 種の分類と系統

### 2.1 オオサンショウウオ科の位置

- 日本オオサンショウウオと同属 (*Andrias*)
- アメリカオオサンショウウオ (*Cryptobranchus alleganiensis*) は別属

### 2.2 チュウゴクオオサンショウウオの系統

- 中国国内で広範囲に分布するが、最近の遺伝子解析により、いくつかの\*\*地域集団(系統)\*\*が存在することが示唆されている。
- 野生個体群の多くは個体数が減少し、人工繁殖個体との交雑も発生。

### 2.3 亜種の有無

- 現状、正式な亜種は認められていない。
- 地域個体群の形態差や遺伝的差が大きいため、保全上は地域個体群単位での管理が推奨される。

### 3. 生息分布

- **分布域:** 長江流域、中華南部、黄河支流など中国中央・南部の山岳河川
  - **生息環境:**
    - 清流・溪流(水温 10~25℃)
    - 岩場や砂利の隙間に潜む底生性
    - 皮膚呼吸が主なので水質汚染に非常に敏感
- 

### 4. 保全状況

- **絶滅危惧種**(IUCN Red List: Critically Endangered)
  - **主な脅威:**
    - 河川開発やダム建設による生息地破壊
    - 過剰漁獲(食用・ペット目的)
    - 水質汚染、土砂流入
    - 人工繁殖個体との混血・遺伝的劣化
  - **保全活動例:**
    - 国立自然保護区の設置(例: 湖南省・湖北省の溪流保護区)
    - 人工繁殖プログラム(野生個体の繁殖補助)
    - 遺伝子解析による個体群の管理
    - 地域住民への教育・啓発
- 

### 5. 混血問題

- **人工繁殖個体と野生個体の交配**により、地域固有系統の遺伝的純度が低下。
  - 遺伝子解析(mtDNA、SNP)で混血個体の特定が可能であり、保護区での放流計画や個体群管理に活用されている。
-

## 6. 遺伝的分類と個体群管理

- 解析手法：
    - ミトコンドリア DNA 解析
    - マイクロサテライト解析
    - SNP 解析
  - 個体群管理への応用：
    - 絶滅危惧集団の保護
    - 混血個体の隔離
    - 野生由来遺伝資源の保存と人工繁殖プログラムの設計
- 

## 7. 日本・アメリカ種との比較

項目	中国 ( <i>A. davidianus</i> )	日本 ( <i>A. japonicus</i> )	米国 ( <i>C. alleganiensis</i> )
最大体長	180 cm 以上	約 150 cm	60 cm 以上
分布	中国中央・南部	本州西部・九州北部	米国東部
生息環境	冷～温水溪流	冷水清流	山岳清流
保全状況	CR(IUCN)	絶滅危惧 IB 類	絶滅危惧種
特徴	大型・長寿・背中に斑点	夜行性・底生・皺多い	夜行性・底生・小型

# 日本オオサンショウウオ vs チュウゴクオオサンショウウオ

## 1. 分布と生息環境の概略

日本オオサンショウウオ (*A. japonicus*)

- └─本州西部の山間河川
  - | └─標高: 200~1000 m
  - | └─水温: 10~18°C
  - | └─酸素飽和度: 高
  - | └─特徴: 夜行性・底生・皮膚呼吸
- └─九州北部一部

チュウゴクオオサンショウウオ (*A. davidianus*)

- └─長江流域・中華南部河川
  - | └─水温: 10~25°C
  - | └─酸素飽和度: 高
  - | └─特徴: 夜行性・底生・皮膚呼吸、大型・長寿
- └─黄河支流、一部の保護区

## 2. 遺伝的分化の概略フロー

オオサンショウウオ科 (Cryptobranchidae)

- └─アメリカオオサンショウウオ属 (*Cryptobranchus*)
  - | └─*C. alleganiensis* (米国東部)
- └─アンドリアス属 (*Andrias*)
  - | └─*A. japonicus* (日本)
    - | └─西日本個体群
    - | └─九州個体群
  - | └─*A. davidianus* (中国)
    - | └─長江流域個体群
    - | └─中華南部個体群
    - | └─黄河支流個体群

- 遺伝子解析手法: mtDNA、SNP、マイクロサテライト
- 日本・中国個体群は地理的隔離により**独自の遺伝的多様性を維持**
- 中国個体群は人工繁殖個体の混入による混血の影響あり



### 3. 保全状況比較

項目	日本 (A. japonicus)	中国 (A. davidianus)	米国 (C. alleganiensis)
IUCN	絶滅危惧 IB 類	絶滅危惧 CR	絶滅危惧
脅威	外来種混入、河川分断、密漁	過剰漁獲、混血、環境破壊	河川改修、水質汚染
主な保全策	遺伝子解析による個体群管理、保護区、教育活動	保護区、人工繁殖プログラム、遺伝子解析	生息地保護、人工繁殖、国際協力
特徴	最大 1.5 m、夜行性、底生	最大 1.8 m 以上、夜行性、底生	最大 0.6 m 以上、夜行性、底生

# ヘルベンダー (*Cryptobranchus alleganiensis*) の概要

## 1. 基本情報と分類

項目	内容
学名	<i>Cryptobranchus alleganiensis</i> (Daudin, 1803)
英名	Eastern Hellbender
目	Caudata (有尾目)
科	Cryptobranchidae (オオサンショウウオ科)
属	<i>Cryptobranchus</i>
形態	体長最大約 0.6 m、体重最大 2 kg 程度。頭平たく幅広、尾はやや細長。皮膚は皺が多く、皮膚呼吸可能。背中に不明瞭な斑点模様。
生態	夜行性・底生性。山岳河川や清流の岩陰に潜む。魚類や甲殻類を捕食。

### 特徴

- 北米最大の淡水サンショウウオ
- 底生性で清流依存、酸素飽和度の高い環境が必須
- 寿命は 20～30 年以上と長い
- 夜行性で昼間は岩陰や穴の中で休む

## 2. 種の分類と系統

### 2.1 オオサンショウウオ科の位置

- 日本・中国オオサンショウウオ (*Andrias* 属) とは別属
- 米国東部に分布する *Cryptobranchus* 属に分類される

### 2.2 ヘルベンダーの亜種

- Eastern Hellbender (*C. a. alleganiensis*): 米国東部アパラチア山脈流域
- Ozark Hellbender (*C. a. bishopi*): ミズーリ州南西部、アーカンソー州北部、White River 流域
- 形態・遺伝的に東部亜種と西部亜種は異なる

### 3. 生息分布

- 分布域: 米国東部(アパラチア山脈流域)とミズーリ州南西部の限定的な河川
  - 生息環境:
    - 山岳河川、清流、酸素飽和度の高い冷水域
    - 岩陰や流木の下など底生性
  - 生態: 夜行性で昼間は隠れ、夜間に捕食活動を行う
- 

### 4. 保全状況

- 絶滅危惧種 (IUCN: Near Threatened/Endangered Subspecies)
- 主な脅威:
  - 河川改修やダム建設による生息地破壊
  - 水質汚染、酸素不足
  - 外来種や餌資源の減少
  - 局所個体群の分断化
- 保全活動例:
  - 生息地の保護区設定
  - 人工繁殖プログラム(東部亜種および Ozark 亜種)
  - 個体群モニタリングと遺伝解析
  - 環境教育・地域住民との協働

### ※ 保全状況比較

項目	東部亜種 (C. a. alleganiensis)	西部亜種 (C. a. bishopi)
IUCN	絶滅危惧 NT (Near Threatened)	絶滅危惧 EN (Endangered)
脅威	河川改修、水質汚染、ダム建設	生息地局所化、河川改修、環境汚染
主な保全策	生息地保護、人工繁殖プログラム、モニタリング	保護区、人工繁殖、国際協力、遺伝子解析による個体群評価
特徴	最大 0.6 m 以上、夜行性、底生	小規模分布、生息地限定、繁殖困難

---

## 4. 生態・保全上の特徴

- 夜行性・底生・皮膚呼吸で、清流依存
- 水質悪化や河川工事に敏感
- 個体群の局所化が進むと近交弱勢や絶滅リスクが高まる
- 人工繁殖プログラムにより絶滅リスク低減の試みが進行中
- 国際的には日本・中国のオオサンショウウオと繁殖技術・保護手法の情報共有が行われている

## 5. 遺伝的・個体群管理

- 解析手法:
  - ミトコンドリア DNA 解析
  - マイクロサテライト解析
  - SNP 解析
- 個体群管理への応用:
  - 局所個体群の保護
  - 遺伝的多様性維持
  - 人工繁殖個体の適切な放流計画
  - 混血や遺伝的劣化の監視

## 6. 日本・中国オオサンショウウオとの比較

項目	ヘルベンダー (C. alleganiensis)	日本 (A. japonicus)	中国 (A. davidianus)
最大体長	約 60 cm	約 150 cm	約 180 cm 以上
分布	米国東部・アパラチア山脈流域	本州西部・九州北部	中国中央・南部山岳河川
生息環境	山岳清流、岩陰・底生性	冷水清流、底生	冷～温水溪流、底生
保全状況	EN / NT(亜種による)	絶滅危惧 IB 類	CR(IUCN)
特徴	夜行性・底生・小型・皺多い	夜行性・底生・大型・皺多い	夜行性・底生・大型・斑点あり



## 7. 保全上の課題と対策

1. 河川環境の保全
  - 産卵床の保護、流量管理、底質改善
2. 個体群分断化の解消
  - 適切な生息地連結、河川環境改善
3. 遺伝的多様性維持
  - 人工繁殖個体の選択的放流
  - 遺伝子解析による個体群監視
4. 教育・地域協働
  - 地域住民・学校との連携
  - 環境教育プログラムの実施

# アメリカオオサンショウウオ

(ヘルベンダー: *Cryptobranchus alleganiensis*)

## 1. 分布と生息環境の概略

ヘルベンダー (*C. alleganiensis*)

└─東部亜種: *C. a. alleganiensis*

| └─生息域: アパラチア山脈周辺 (東部・中西部)

| └─水温: 10~20°C

| └─水質: 清流・急流を好む

| └─特徴: 夜行性・底生・皮膚呼吸、大型 (最大 0.6 m 以上)

└─西部亜種: *C. a. bishopi*

└─生息域: ミシシッピ川上流、サウスカロライナ州

└─水温: 10~22°C

└─特徴: 小規模分布・生息地限定、絶滅危惧種

---

## 2. 遺伝的分化の概略フロー

オオサンショウウオ科 (*Cryptobranchidae*)

└─アメリカオオサンショウウオ属 (*Cryptobranchus*)

| └─*C. a. alleganiensis* (東部亜種)

| └─*C. a. bishopi* (西部亜種)

└─アンドリアス属 (*Andrias*)

└─*A. japonicus* (日本)

└─*A. davidianus* (中国)

- 遺伝子解析手法: mtDNA、SNP、マイクロサテライト
  - 東部・西部亜種は地理的隔離により遺伝的分化が進んでいる
  - 米国全体での保全には**地域個体群ごとの管理**が必要
-

## ↓ 参照記事の紹介 ↓

### ミズーリ州の東部ヘルベンダーの個体群：絶滅危惧種

著者：ルアンヌ・B・ホルシャー

2023 年 10 月 11 日

北アメリカ最大のサンショウウオは、他州でも依然として絶滅危惧種。

米国魚類野生生物局 (U.S. Fish and Wildlife Service, USFWS) は、本日、ミズーリ州の東部ヘルベンダー個体群を連邦絶滅危惧種法 (Endangered Species Act) に基づき絶滅危惧種に指定しました。

「ミズーリ州の東部ヘルベンダーが保護対象となったことは喜ばしいことですが、本種はその生息範囲全域で保護されるべきです」と、センター・フォー・バイオダイバーシティ (Center for Biodiversity) のシニアアドバイザー、ブライアン・セグイ氏は述べています。「ヘルベンダーは、ミズーリ州だけでなく、生息するすべての地域で絶滅危惧種法による保護を受ける必要があります。」

同センターやその他の環境団体は、2019 年 4 月の米国魚類野生生物局による東部ヘルベンダー保護否定の決定に関して、2023 年 3 月 4 日に正式に訴訟意向書を提出しました。USFWS は、東部ヘルベンダーの大部分の生息域での保護を否定していました。

北アメリカ最大のサンショウウオであるヘルベンダーは、体長 60cm 以上に成長し、清流で速く流れる山岳河川に生息します。その生息域は、東南部、中西部、北東部の 15 州に及びます。しかし、過去にはほとんどの歴史的な生息地から姿を消しており、堆積物、ダム建設、病害や病原体、生息地破壊、気候変動など、複数の要因によって個体数は減少しています。

ミズーリ州東部に特有の東部ヘルベンダーの個体群は、同州の以下の河川に生息しています：Big River、Big Piney River、Courtois Creek、Gasconade River、Meramec River、Niangua River、Osage Fork of the Gasconade River。

他の多くのヘルベンダー個体群同様、過去 20 年間で、Big Piney River の東部ヘルベンダー個体群は 77% 減少しました。また、Gasconade River や Niangua River でも同様に減少しています。USFWS は、ミズーリ州内のすべての個体群の健康状態は今後も悪化し続けると予測しています。同局によれば、3 つのモデルのうち 2 つでは、州内 4 つの個体群のうち 1 つが消滅するとされています。

別のヘルベンダー亜種は、オザーク高原のホワイトトリバー流域 (ミズーリ州南部・アーカンソー州北部) にのみ生息しており、2011 年 10 月に絶滅危惧種に指定されました。この亜種は、東部ヘルベンダーよりも小型で、背中に斑点があり皮膚の色が異なります。

2010 年、センターは東部ヘルベンダーを全国的に絶滅危惧種として保護するよう申請しました。しかし、2017 年 10 月に米国魚類野生生物局は「不合理」とされる結論を下しました。この判断は、2011 年および 2013 年に同センターと USFWS が締結した 2 件の法的合意に基づき、保護措置を迅速化するために行われたものです。

## ポイント

- ・ 東部ヘルベンダーはミズーリ州で絶滅危惧種に指定された
- ・ 生息域の減少は堆積物、ダム建設、病害、気候変動など複合要因による
- ・ 他州でも依然として絶滅危惧種であり、全国的な保護が課題

## 参考文献

1. 国土交通省近畿地方整備局. 「河川におけるオオサンショウウオ道の遡上試験」  
<https://www.water.go.jp/kansai/kawakami/syun-joho/kankyo-torikumi/kankyo-oosan/ronbun/H23.pdf>
2. 国土交通省国土技術政策総合研究所. 「オオサンショウウオの保全対策に関する検討」  
<https://www.kkr.mlit.go.jp/plan/happyou/theses/2017/pdf01/chiiki-23.pdf>
3. 京都大学大学院理学研究科. 「絶滅したオオサンショウウオが生きていた！」  
[https://www.kyoto-u.ac.jp/sites/default/files/2024-02/web%202402%20Nishikawa\\_SciRep\\_relj4-a4ec626c40c39ae55e80ecfa68ff63fb.pdf](https://www.kyoto-u.ac.jp/sites/default/files/2024-02/web%202402%20Nishikawa_SciRep_relj4-a4ec626c40c39ae55e80ecfa68ff63fb.pdf)
4. 環境省. 「チュウゴクオオサンショウウオとの交雑種」  
<https://www.env.go.jp/nature/intro/2outline/attention/chugokuoosanshouo.html>
5. 環境省. 「止水性サンショウウオ類の保全の手引き」  
<https://www.env.go.jp/content/000134517.pdf>
6. 安佐動物公園. 「Giant Salamanders」  
<https://www.asazoo.jp/event/news/83acee3ce1f4ea3788d60708525dc4587e8a8abc.pdf>

## SNS and Mail Address

**Researchmap:** [https://researchmap.jp/HAL\\_lab\\_Axolotl](https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl)

**X:** [https://x.com/lab\\_new2](https://x.com/lab_new2)

**ResearchGate:** <https://www.researchgate.net/profile/Sugiyama-Haruka>

**Contact:** [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com)



# 奥付

【総説】ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ③ (AI 導入記念 SP)

発行日・・・ 2025/9/8

編集・著者 杉山 遥 (PN; Ph.D) ほか

発行元 ハルラボ, HAL\_Lab\_Axolotl

問い合わせ先 [sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com](mailto:sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com) または X (Twitter) の DM へ

X (旧 Twitter) URL [https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2) (@lab\_new2)



気づけばハルラボも 5 周年。月日  
の流れは早いねえ。

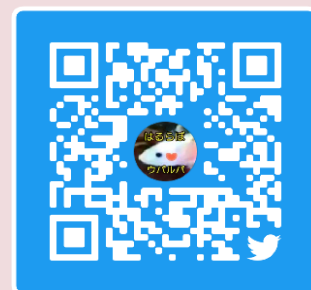


**ウーパールーパー研究室・はるらぼ**

**sugiyama.haruka.axoltl@gmail.com**

**since 2020~ (@lab\_new2)**

**X (旧 Twitter): [https://twitter.com/lab\\_new2](https://twitter.com/lab_new2)**



**※注意**

本誌の許可なき改変・商業利用は、  
我々は一切認めておりません。

