

魚類の浸透圧調節における鰓塩類細胞の機能形態学的研究

井ノ口 繭 (東洋大学 生命科学部)

inokuchi@toyo.jp

魚類の生息する水圏環境は、淡水と海水、軟水と硬水、酸性水とアルカリ水など、イオン組成が多様に変化する。そのような環境下において細胞の機能を正常に働かせるためには、体液浸透圧を常に生理的範囲内に維持する必要がある、魚類は独自の浸透圧調節機構を発達させてきた。私はこれまでの研究で、「何故、魚類は多様なイオン環境に適応できるのか」という疑問について、硬骨魚のイオン調節の中核をなす鰓の塩類細胞の機能と形態に着目し研究を進めてきた。

はじめに

私が着目してきた塩類細胞が初めて論文に登場したのは、今から 80 年以上前に遡る。1932 年、Keys and Willmer によりヨーロッパウナギの鰓で Cl⁻を排出する”chloride-secreting cell”が報告された¹⁾。その後、多くの魚で塩類細胞は”chloride cell”と呼ばれてきた。しかし研究が進むにつれ、塩類細胞が海水での Cl⁻排出だけでなく、淡水中でのイオン取込みや、酸・塩基調節、アンモニア排出など様々な機能を有することが明らかになり、近年では”mitochondrion-rich cell”、”ionocyte”と呼ばれるようになった²⁾。このように多様な機能を持つ塩類細胞が恒常性維持に果たす役割を明らかにするため、私は①機能形態学的分類、②イオン輸送の制御機構、③細胞の分布変化機構という 3 つの観点から研究を進めてきた。

広塩性魚ティラピアにおける鰓塩類細胞の機能形態学的分類

鰓に存在する塩類細胞は淡水ではイオンの取込みを、海水ではイオンの排出を担う。海水におけるイオン排出機構は確立されつつあったが、淡水におけるイオン取込み機構は諸説混在しており、明らかにされていなかった。そこで、私は、広塩性魚であるモザンビークティラピアを多様なイオン環境に馴致し、塩類細胞のイオン取込み機構を機能形態学的に明らかにすることとした。まず、淡水・海水において塩類細胞のイオン調節の要となる Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ 共輸送体 1 (NKCC1)、Na⁺/H⁺ 交換輸送体 3 (NHE3)、Na⁺, Cl⁻ 共輸送体 2 (NCC2) の局在を観察したところ、海水型塩類細胞は NKCC1 cell の一種類であったのに対し、淡水では NHE3 cell と NCC2 cell という二種類の塩類細胞が存在することが明らかになった³⁾。次に、淡水に存在する二種類の塩類細胞のイオン取込み機構とその役割分担を解明するため、血漿浸透圧の大部分を占める Na⁺, Cl⁻ の取り込み機構に着目した。人工淡水、低 Na⁺ 淡水、低 Cl⁻ 淡水、低 Na⁺/Cl⁻ 淡水という Na⁺, Cl⁻ 濃度を人為的に調節した 4 つの環境水を調整し、各環境水にティラピアを移行して一週間飼育した。まず、走査型電子顕微鏡で塩類細胞の開口部を比較した。その結果、従来 Cl⁻ を取り込んでいると考えられる凸型で微絨毛が密に存在する開口部に加えて、凹型で中に網状の構造を持つ開口部を発見した。次に私は、走査型電子顕微鏡による形態観察と免疫組織化学染色

法によるイオン輸送体の局在観察を同時に行う独自の方法を開発することにより、個々の細胞で機能と形態を同時に調べることを試みた。その結果、低 Na^+ 環境では発達した凹型開口部に NHE3 が局在するのに対し、 Cl^- 濃度が低い環境では凸型開口部が発達し、そこには NCC2 が密に局在することが明らかになった。これにより、開口部の形態とイオン輸送機能の関係を直接的に証明することに成功した (図 1) ⁴⁾。

淡水適応ホルモン・プロラクチンによる塩類細胞の機能制御機構

硬骨魚の多くは淡水もしくは海水でしか生息できない狭塩性魚であるのに対し、一部の硬骨魚は淡水にも海水にも適応可能な広塩性を有する。広塩性魚は環境水の浸透圧変化に伴い塩類細胞のイオン輸送方向を逆方向へと切り替えることで、淡水にも海水にも適応できるのである。その機能変化を制御する機構として「ホルモンによる他の浸透圧調節器官と協調した環境適応能の促進」、「塩類細胞自身が細胞外浸透圧変化を感知することによる自律的な機能調節」という二つの可能性が考えられた。そこで私は、鰓弁縦断培養法 ⁵⁾ を用いることにより、淡水適応ホルモンであるプロラクチンと細胞外浸透圧が塩類細胞の機能に与える影響を検証した。その結果、ティラピアの塩類細胞はプロラクチンにより淡水適応能が高められるだけでなく、塩類細胞自身が細胞外の浸透圧変化を直接感知し、自律的に機能を制御していることを明らかにした ⁶⁾。

スズキにおける塩類細胞の機能と分布の変化機構

ウナギ、サケ科魚類、スズキなどの魚種では、淡水、海水での塩類細胞の分布が変化することが報告されている。その分布変化はどれも共通しており、海水馴致時には塩類細胞が一次鰓弁にのみ存在するのに対し、淡水中でその分布は二次鰓弁に広がっていくというものである ⁷⁾。しかし、分布の変化が起こる理由とそのメカニズムについては解明されていなかった。そこで、海産魚でありながら淡水にも適応でき、塩類細胞の分布変化が明確なスズキを用いて、環境水の浸透圧変化に伴う塩類細胞の分布変化の機構を解明することを試みた。機能ごとに分類した塩類細胞の分布変化を詳細に観察した結果、イオン排出を担う海水型塩類細胞は淡水移行に伴い淡水型 NHE3 cell へと機能を変化し、同時にその分布が一次鰓弁から二次鰓弁に広がることが示された。また、もう一つの淡水型塩類細胞である NCC2 cell は淡

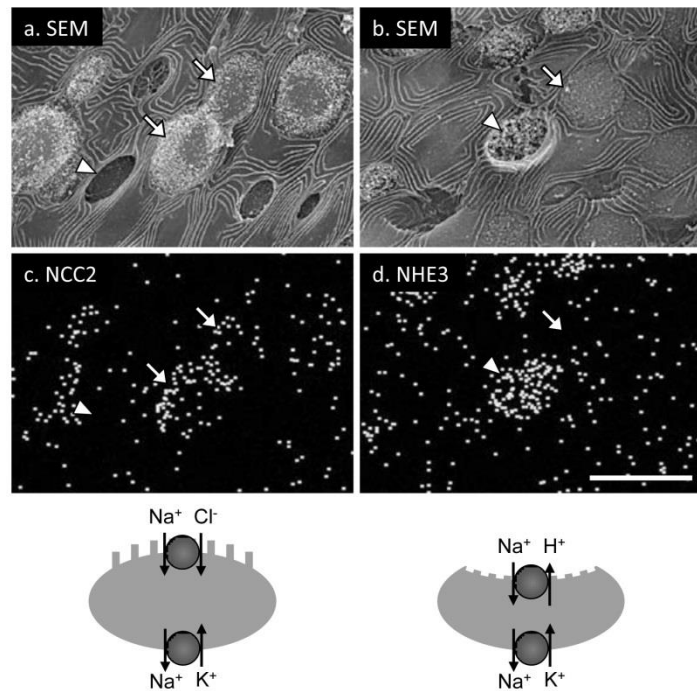


図1. 開口部の形態(a,b)とイオン輸送体の免疫反応(c,d)から提唱された塩類細胞の機能形態学的分類。a-dの矢印は凸型開口部、矢尻は凹型開口部を示す。スケールバーは10 μm 。

水に特異的で、一次鰓弁に存在する未分化細胞から分化したことが示唆された(図2)⁸⁾。これにより、沖合で孵化し成長と共にその分布を河口付近へと移動させるスズキについて、その回遊行動を可能にする生理メカニズムの一端を明らかにした。

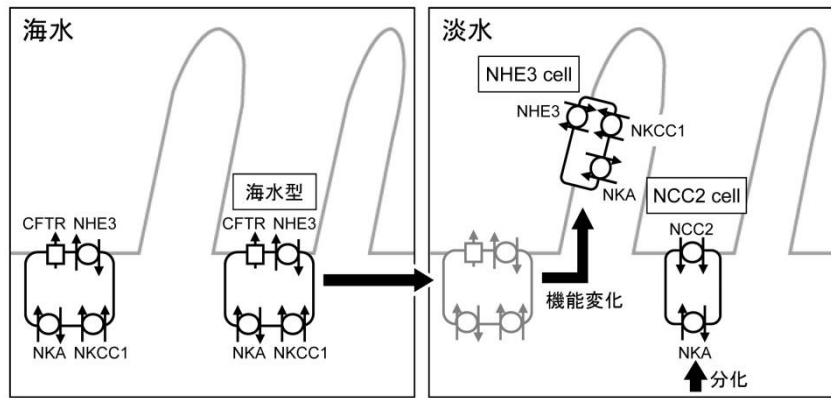


図2. スズキにおける塩類細胞の機能と分布変化。海水型塩類細胞は CFTR を失うことで淡水型の NHE3 cell に機能変化し、一次鰓弁から二次鰓弁へと分布を広げる。一方、NCC2 cell は淡水移行後に一次鰓弁から分化する。

おわりに

私はこれまで、淡水・海水に馴致できる広塩性硬骨魚を実験魚とし、浸透圧調節機構に着目することで、その環境適応機構を明らかにしてきた。近年、地球温暖化による海水面の上昇や人間活動による二酸化炭素排出が引き起こす海洋酸性化が問題視されている。このように刻一刻と環境が変動するなかで水圏生態系を維持するためには、生態系を構成する生物の環境適応機構を幅広く理解していくことが重要である。今後は、淡水もしくは海水にしか適応できない狭塩性魚や、魚類を構成するもう一つのグループでサメやエイを含む軟骨魚類の環境適応機構についても幅広く検証を進めていく。これにより魚類の健康な成長を実現する恒常性の維持機構について、さらなる理解を深めていきたい。

謝辞

本研究を進めるにあたり、東京大学大学院農学生命科学研究科 金子豊二先生には長きにわたって親身なご指導を賜りました。心よりお礼を申し上げます。ポストクの期間にご指導いただきましたハワイ大学 Hawaii Institute of Marine Biology の E. Gordon Grau 先生、Andre P. Seale 先生、Darren T. Lerner 先生ならびに東京大学大気海洋研究所 兵藤晋先生に深く感謝いたします。また、聖マリアンナ医科大学 廣井準也先生にも、いつも親切にご指導いただき、大変感謝しております。最後に、私が現在所属している東洋大学生命科学部の先生方、共に研究を進めている学生の皆様に心より感謝を申し上げます。

引用文献

- 1) Keys A and Willmer EN.: *J. Physiol.* 76: 368–378 (1932).
- 2) Hwang PP, Lee TH and Lin LY.: *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 301: R28–R47 (2011).
- 3) Inokuchi M, Hiroi J, Watanabe S, Lee KM and Kaneko T.: *Comp. Biochem. Physiol. A* 151: 151–158 (2008).
- 4) Inokuchi M, Hiroi J, Watanabe S, Hwang PP and Kaneko T.: *J. Exp. Biol.* 212: 1003–1010 (2009).
- 5) Watanabe S, Itoh K and Kaneko T.: *Gen. Comp. Endocrinol.* 232: 151–159 (2016).

- 6) Inokuchi M, Breves JP, Moriyama S, Watanabe S, Kaneko T, Lerner DT and Seale AP.: *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 309: R1251–R1263 (2015).
- 7) Hiroi J and McCormick SD.: *Respir. Physiol. Neurobiol.* 184: 257–268 (2012).
- 8) Inokuchi M, Nakamura M, Miyanishi H, Hiroi J and Kaneko T.: *J. Exp. Biol.* 220: 4720–4732 (2017).