

ドワーフグーラミー *Collisa lalia*

岡 良 隆 (東京大・院理・生物科学)
okay@biol.s.u-tokyo.ac.jp

ドワーフグーラミー (*Collisa lalia*、写真1) という、熱帯魚としてはポピュラーでどこの熱帯魚ショップにもいて入門的な魚だが実験動物としてはほとんど無名の動物を私が研究に本格的に使い始めてから既に16年近く経つのだろうか。この魚と最初に出会ったのは1985年シンガポール国立大学理学部動物学教室であったが、そのときは、これほどまで私の研究に長く深く関わってくるとは思ってもみなかった(出会ったのは85年だが、研究室に実験で使い始めたのは88年頃)。私は生来天邪鬼で、多くの人がやりたがることはあまりやろうとしない性癖が幼少のときからあるようだ。大学院に入って研究を始めて以来、指導教官であった上田一夫先生の指導方針もあってかなり好き勝手に研究をやらせていただいたことや、しばらく臨海実験所で研究する機会に恵まれたおかげで、他の人が見過ごしそうな動物や生命現象に目を向けて、自分のものとして大事に育てていけば、そこから独創的な発想や思わぬ掘り出し物の研究成果が出てくるという信念を持つようになり、今日に至っている。これをひいき目に見ると、私の研究におけるモットーである、いわゆる「セレンディピティー」を大事にすると言うことにつながるわけで、これがうまくいけば研究上の掘り出し物を拾い上げる可能性もあると信じている。大学院時代の自分自身の経験から、自分の研究室を主宰する今になっても、研究目的に沿ってそれにふさわしい実験動物を選び、自由な発想で研究する、と言う、良き伝統をできるだけ大事にしようとしている。学部からしばらくの間動物学教室で育ち、また、臨海実験所という環境で8年間を過ご

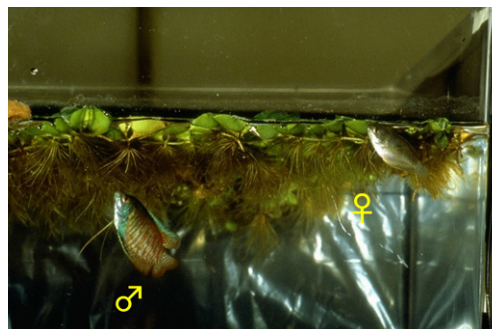


写真1 Dwarf gourami, *Collisa lalia*
(シンガポール大学 Angus Munro 博士提供)

したため、実に多様な動物の存在に触れたりそれらの話を聞いたりする機会が多かったことから、自分のやりたい研究の目的に沿った実験動物を新たに発見できることは大きな喜びであるとともに動物学を学んだものの特権のひとつだと思っている。そうした意味で、ドワーフグーラミーだけでなく、これまでに大学院生諸君が、神経核における情報処理とその修飾機構を研究するために開発したカワハギの脳スライス標本、精子活性化の物理化学的機構について研究するために開発したグッピーの実験系、などをはじめとして、我々の研究室では、それぞれ目的に応じてそれらに適した動物実験系を今でも追いつめていく。

さて、話がいきなり今回の主人公であるドワーフグーラミーから少し外れかけたので、ここで話をこの魚に絞ることにする。ドワーフグーラミーは、脊椎動物の脳内で個々のペプチドニューロンについてその形態や生理に関する実験を行うにはこの上ない有利な特徴を備えている。つまり、通常、ほとんどの脊椎動物脳内のペプチドニューロンはその

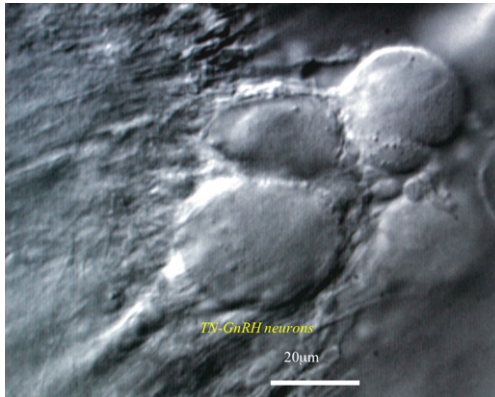


写真2 脳スライス標本のIR-DIC写真
(羽田と岡(未発表))

細胞体が直径10ミクロン前後と小型であり、しかも散在していて同定が大変困難なのだが、ドワーフグーラミーの終神経GnRHニューロンと呼ばれるGnRHニューロンはその形態的・生理的特徴から、生きた脳で容易にGnRHニューロンであることを同定した上で電気生理学的・細胞生物学的実験ができるという際立った特徴を持つ(後でもう少し詳しく説明する)。つまり、GnRHニューロンが生きた状態で(組織学的にではなく)簡単に見えてしまうのだ(写真2)。それに加えて、少しアミノ酸配列の異なるGnRHを産生し、異なる機能を持つ、視索前野GnRHニューロン(これが本来の神経分泌ニューロンとしてはたらく)および中脳GnRHニューロン(これは終神経GnRHニューロンと同じく神経修飾作用を持つと思われる)のいずれも、特徴的な細胞塊を形成しているので、同様に大変同定が容易である。オスのドワーフグーラミーは、オレンジ色とブルーの混じった大変美しい色をしている。メスは体が小ぶりで、色もまるでさえない。この魚はシンガポールやマレーシアからペットショップに通年入荷されており、1年を通じて成熟個体を容易かつ安価に入手することができ、また、飼育や取り扱いが簡単で、実験動物としての条件を十分満たしている。さらに、この魚の特徴として、大変酸欠に強い。原産地であるガンジ

ス川上流域などでは乾季になると、普段棲んでいる泥水が干上がってしまうことがあるが、このときでも彼らは鰓の一部で空気呼吸ができるらしく、生き延びることができるそうである。おそらくこの理由により、この魚は空気中に取り出して簡単な手術をしたり注射をしたりする処置に対しても大変丈夫で、取り出した脳も大変酸欠に強い。この辺の話については、以前、本ニュースレターにも文章を書かせていただいたし(No. 92)研究室のホームページ上にエッセイとして書いてあるので、興味ある方はご覧いただきたい。

<http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/naibunpi/Oka/oka-essay.html>

この魚のGnRHニューロンを使うことによって、世界で始めて脳内の単一GnRHニューロンからの電気生理学的記録とニューロン全体の形態や極めて広範囲の脳内軸索投射を証明することに成功した(実際、1個のニューロンの軸索突起の分枝が嗅球から脊髄に至るまで、そして、両側の脳の内側部から外側部に至る脳内全域へ広い投射を持っている例は、この例以外に脊椎動物の脳ではまだお目にかかったことがない)。また、GnRHニューロンに発現している各種のイオンチャネルやレセプターの電気生理学的性質に加え、最近ではそれらの細胞における各種遺伝子の発現やサブタイプを単一ニューロンレベルで調べたりすることもできるようになった。さらに、他の脊椎動物の脳ではまねのできない、2個のGnRHニューロンからの同時記録によってそれらの間の電気的カップリングや電気活動の同期現象についても解析できるようになった。では、我々が用いている終神経GnRHニューロンの実験標本について簡単にお話しよう。

一般に、文献的には脊椎動物の中で魚類のGnRH神経系は最も発達していると考えられているが、中でもドワーフグーラミーのGnRH神経系は際立った形態学的特徴を持っている(Oka and Ichikawa, 1990; Yamamoto et al., 1995)。この魚の終神経GnRH

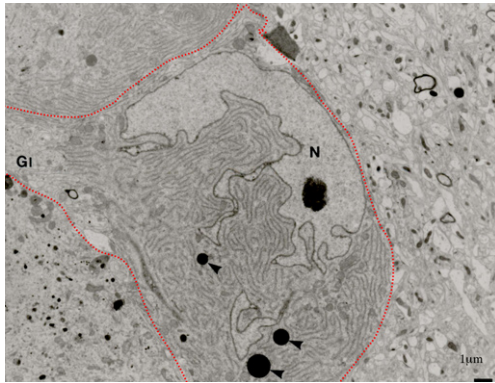


写真3 電子顕微鏡写真
(Oka and Ichikawa (1991) より改変)

細胞は、細胞体の直径が20～30ミクロンと大型であり、しかも、細胞体同士がグリア細胞を介さずに密着して10～20個程度の細胞塊として存在している。電子顕微鏡レベルで見ても細胞体同士がグリアを介さずに密着していることがわかっており(写真3; Oka and Ichikawa, 1991)、さらに、最近ではこれらのニューロン同士が電氣的に結合していることが確認されている(羽田と岡、未発表)。この細胞塊は脳底部の結合組織の真上に左右1対存在しているので、脳全体を取り出して結合組織を取り除き(これは実体顕微鏡下で研磨したピンセットを用いて行うのだが、多少のコツと器用さを必要とする。ただし、個人差はあるものの、練習すれば誰でもできるようになる)、脳の腹側を上にして置くと、この細胞塊が実体顕微鏡で見えるようになる。これによって、細胞を実体顕微鏡下で見ながら細胞内電極を刺入したりパッチピペットを押しあてたりすることができる。さらに、細胞体全体が露出した状態になっているためか、酸素や溶液の供給が十分に早く行われるらしく、脳を丸ごと取り出してin vitroの状態での細胞から電氣的活動を長時間記録することができる(全脳in vitro標本)。さらに、最近ではこの標本を一步進めて、結合組織を取り除いて少し厚めの脳スライスにしたものをスライスパッチクランプ用の正立顕微鏡で観察することによって、個々の終神経GnRH

ニューロンとパッチ電極の両者を顕微鏡下で見ながら電氣生理学的実験を行えるようになった(写真2)。また、パッチ電極や細胞内電極のような実際に細胞体を多少なりとも傷つける電極を使わずに、細胞膜に密着させた細目のパッチピペット状の電極を用いて強い電圧パルスを加えることにより、細胞をほとんど傷つけずに特定の単一ニューロンの細胞内に蛍光色素や遺伝子などを導入する方法(単一細胞エレクトロポレーション)を終神経GnRHニューロンに応用することも可能になってきた(阿部と岡、未発表)。このようにして、脳の中で組織あるいは細胞クラスターとしての生理的環境を保持したままで単一のGnRH細胞の生理学的・細胞生物学的な性質を調べることが可能である。さらに特筆すべきことに、これら大型の細胞体から直接GnRHが開口分泌により放出されていることが我々の最近の研究から強く示唆されている。一般には、直接測定が困難なシナプス終末や軸索のバリコシティーにおいてペプチドニューロンからのペプチド放出が行われることを考えると、このことは技術的に多大なメリットとなる。一方で、神経修飾作用の個体レベルでの効果は行動学的観察によって研究する必要があるが、ドワーフグーラミーは熱帯魚であり、年間を通じて性的に成熟した雌雄の個体を得ることができ、明確な性行動パターンを持っているため、神経行動学的解析にも適している。このように、ドワーフグーラミーのGnRHニューロンはペプチドニューロンの神経生物学的研究を行う上で、ほかの脊椎動物では得難い多数の利点を持っている。20年近く前にシンガポールで出会ったかわいい熱帯魚にこれだけの科学的な価値が埋もれているとは、まさに驚きである。これからもドワーフグーラミーは我々の研究室で研究対象として、ペットとして(?) 末永く愛され続けることだろう。

謝辞 写真を提供していただいたシンガポール大学のAngus Munro博士と当研究室の大学院生羽田幸祐君に感謝いたします。

目次

| | |
|---|----|
| 学会カレンダー | 1 |
| 第30回日本比較内分泌学会大会及びシンポジウムのご案内 | 2 |
| 特集 若手研究者 | |
| 栄養ストレス下におけるショウジョウバエの卵形成 寺島 潤(東北大)・Mary Bownes(エジンバラ大) | 3 |
| エッセイ | |
| ニューオーリンズからPrRPの研究へ 井上 金治(埼玉大・理・生体制御) | 8 |
| フォトエッセイ | |
| ドワーフグーラミー <i>Collisa lalia</i> 岡 良隆(東京大・院理・生物科学) | 12 |
| トピックス | |
| サケ科魚類ソマトラクチンレセプター遺伝子のクローニング 深田 陽久(高知大・農・栽培漁業) | 15 |
| 尾崎 雄一(JST・PRESTO) | |
| カイコの膜貫通型トレハラーゼ 光増可奈子・新美 輝幸・柳沼 利信(名古屋大・院・生命農) | 19 |
| 東 政明(鳥取大・農) | |
| 学会印象記 | |
| 東京大学海洋研究所共同利用研究集会「境界動物の生物学」に参加して 小林 正明(東京都立大・理・生物) | 26 |
| 研究室紹介 | |
| North Carolina State University, College of Agriculture and Life Science, Department of Zoology 平松 尚志(ノースカロライナ州立大・理) | 28 |
| 東北大学大学院農学研究科沿岸生物生産システム学講座 尾定 誠(東北大・院農・沿岸生物生産) | 30 |
| Physiology/Endocrinology Team, North West Fisheries Science Center, NOAA Fisheries (米国海洋気象局北西区水産研究所魚類生理学研究室) | |
| Fish Endocrinology Laboratory, School of Aquatic and Fishery Sciences, University of Washington(ワシントン大学水産学科魚類内分泌学研究室) 清水 宗敬(上記所属) | 32 |
| 国立遺伝学研究所藤澤研 早川 英介(遺伝研) | 33 |
| 事務報告 | 36 |