

平成30年5月28日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14794

研究課題名(和文)進化から紐解く骨の謎：魚類における骨細胞の獲得・喪失パターンと適応的意義

研究課題名(英文)Evolution of cellular bones in fishes: a phylogenetic comparative approach

研究代表者

小泉 逸郎(koizumi, Itsuro)

北海道大学・地球環境科学研究所・准教授

研究者番号：50572799

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：四肢動物の生存に不可欠な骨細胞であるが、驚くことに多くの魚類は骨細胞を持っていない。魚類における骨細胞の獲得・喪失プロセスを探ることで、免疫や代謝にまでおよぶ骨細胞の新しい機能や役割が明らかになると期待できる。

500種を超える魚類の骨細胞の保有パターンを解析したところ、祖先形質は骨細胞を持っているタイプであり、多くの系統で二次的に骨細胞を失っていた。海水への依存度が高いほど骨細胞を失っている傾向があった。ただし、この傾向は弱く、生息場所、生態などで上手く説明できる要因は特定できなかった。今後、両生類、爬虫類、鳥類などの骨細胞を調べることで、骨細胞の意義や機能がより明確になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Osteocyte or cellular bone is crucial for the survival of tetrapods, affecting metabolisms and immune systems. Surprisingly, however, a considerable proportion of fishes do not possess cellular bones. This study investigates the patterns of gains and losses of cellular bones to infer the functional roles of Osteocyte. Occurrence of cellular (or acellular) bones in more than 500 fishes revealed that the ancestral fishes had cellular bones and some lineages have lost independently. Saltwater fishes tended to have acellular bones, although the pattern was weak. So far, no significant correlate has been found, such as habitat and life history types. Future research should compare bone structures among fishes, amphibians, reptiles and birds to clarify the evolution of bone functions.

研究分野：進化生態学

キーワード：骨細胞 進化 魚類 系統比較 平行進化 淡水・海水適応

## 1. 研究開始当初の背景

骨(Bone)は単なるカルシウムの塊ではない。骨細胞(Osteocyte)という“刺激を感じる細胞”を大量に埋め込んだ“生きた臓器”である。骨細胞は骨の中で長い細胞突起を伸ばし、隣接する細胞同士でつながり合って神経細胞のように複雑なネットワーク構造を形成している。この骨全体に張り巡らされた網目構造は全身にかかる重力や運動によるメカニカルストレス(骨にかかる物理的的刺激)を感知する。さらに、骨細胞ネットワークは生理的シグナルを脳、肝臓、胸腺など複数の臓器に伝達・指令する。つまり、免疫・脂質代謝を制御する多臓器ネットワークの要であることが近年の研究から明らかとなってきた(Sato et al. 2013, Cell Metabolism)。

疾患研究や創薬開発に向けて骨細胞をターゲットとした研究が盛んに行われているが、長い進化の過程で骨細胞がいつどうやって形成されてきたのかはほぼ未解明である。我々ヒトが骨の中に骨細胞を埋め込んだ根源的な理由を進化的な視点から見つめることで、これまで知られていなかった骨細胞の機能や役割が明らかになると期待できる。

生体で重要な役割をもつ骨細胞の鍵を握っているのが魚類である。両生類から哺乳類までは例外なく骨の中に細胞を持つが、魚類だけは骨細胞を持つものと持たないものが混在する。例えば、ゼブラフィッシュやコイは骨細胞を持ち(細胞骨、図1)、メダカやマダイは骨細胞を欠いている(無細胞骨:単なるカルシウムの塊に近い)。しかし、どのような魚が骨細胞を保有しているのかは初步的な知見しかない。実は、1850年代と1960年代に2人の研究者が合計数百種類もの魚類で骨細胞を調べているが、その成果はほとんど顧みられず、十分な分析がなされていない。

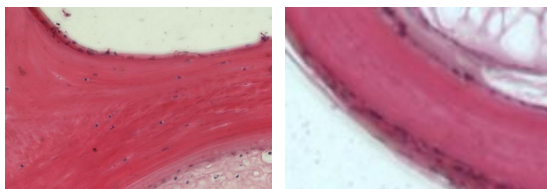


図1. 骨細胞があるサクラマス(左)および骨細胞がないイトヨ(右)の細胞切片。赤で染色された部分が骨組織。その中の黒点が骨細胞

## 2. 研究の目的

本研究では、魚類の骨細胞を網羅的に調べることで、骨細胞の獲得過程とその機能を明らかにすることを目的とした。特に予備解析で得られたパターンから、骨細胞の獲得・喪失が淡水・海水への進出によって引き起こされたと仮説を立てた。また、ヒトの骨細胞では物理刺激を感じるメカノセンサーとしての機能があるため、大きな圧力を受ける深海性の魚類などで骨細胞が存在すると考えた。

## 3. 研究の方法

Kölliker (1859, Proc R Soc Lond)と Moss (1961, 1962 Acta Anat)の論文から生データを集め各魚種と骨細胞の有無を整理した。世界最大の魚類のオンラインカタログFishBaseを用いて、各魚種の生態的特徴を記録した。特に、淡水・海水適応に着目して海水性、淡水性、汽水性を区別した。また、圧力仮説を検証するために、深海性かどうか、および生息地の水深を記録した。この他、回遊性、遊泳性、底性、といった生態情報や生息地の水温なども適宜記録した。FishBaseに載っていない情報については適宜、図鑑、原著論文、信頼性の高いネット情報(Wikipediaなど)で補足した。

原棘鱗上目には骨細胞を持つ種と持たない種が多く混在していたため、グループ内で海水依存度が異なるサケ目、キュウリウオ目の魚類で実際に骨細胞の有無を調べ、必要なデータの厚みを増した。先行研究にならって尾部の脊椎骨から細胞切片標本を作成し、HE染色を行ない光学顕微鏡下で観察した(図1)。

系統樹は核DNAおよびmtDNAの多数の領域を用いて2000種(現在知られている514科のうち80%)をカバーしている最新の研究(Betancur-R et al. 2017, BMC Evol Biol)から推定されたものを適宜取捨選択して用いた。この系統樹と骨細胞の有無からソフトウェアMesquiteを用いて祖先形質の復元を行った。また、骨細胞の有無に影響する要因を明らかにするため、骨細胞の有無を目的変数、海水性が淡水性が、および深海性が否か、を説明変数、系統樹を補正項とした系統一般化最小二乗モデルを構築した。この系統的独立性比較においては統計ソフトRのパッケージapeを用いた。

#### 4. 研究成果

ほぼ全てのグループから 580 種におよぶ魚類の骨細胞の保有パターンを調べたところ、37%の種で骨細胞を保有しており、残りの 63%は無細胞性の骨であった。祖先形質復元解析により、骨細胞を持っているタイプが祖先的であり、魚類のいくつかの系統で二次的に骨細胞を失っていることが明らかとなった(図2)。特に大きな変化は、比較的古い系統であるウナギ目と、より派生的な原棘鱗上目(サケ目、キュウリウオ目、パイク目など)で独立に骨細胞が喪失していた。一方、原棘鱗上目より新しい側棘鱗上目や棘鱗上目ではほぼ全ての魚類が骨細胞を欠いていた。ウナギ目と原棘鱗上目以外では、目あるいはその上のレベルで骨細胞の有無がクレード内でかなり安定していた。クレード内ではごく少数の種のみが骨細胞を二次的に獲得したり、失ったりしていた。

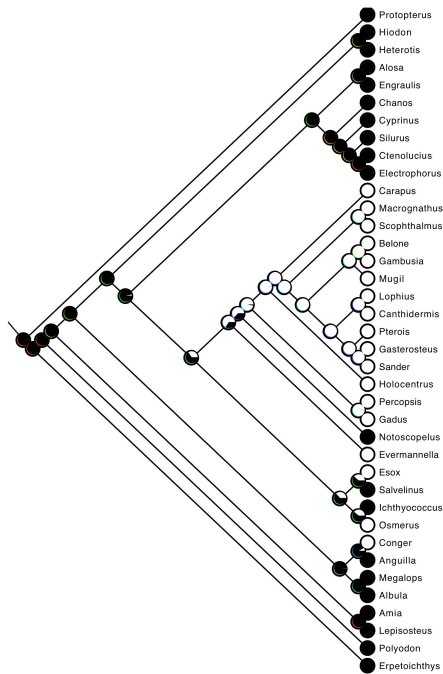


図2. 祖先形質復元図。見やすくするために目レベルでまとめた。黒丸が祖先形質である骨細胞を持った魚類。白丸が骨細胞を持っていない魚類。ウナギ目と原棘鱗上目で平行進化がみられるが、同じクレード内では非常に安定した形質となっている。

骨細胞に影響する要因を調べたところ、一見して淡水性の魚類で骨細胞を有しており、海水性の魚類で有していない傾向があった(図

3)。しかし、進化的に新しい魚類ほど海水性の種が多く、骨細胞を持っている傾向がある(図3)。そこで系統を考慮した解析を行ったところ、淡水・海水性と骨細胞の有無は関係していなかった。ただし、ウナギ目を含むカラシウシ上目のみで解析を行うと海水への依存度がより高い種ほど骨細胞を失っている傾向があった。一方、骨細胞の有無に変異がある原棘鱗上目ではこのような傾向は見られなかった。淡水・海水以外には、圧力と関係すると考えられる水深、および水温や回遊性などといった特性も骨細胞の有無とは無関係であった。

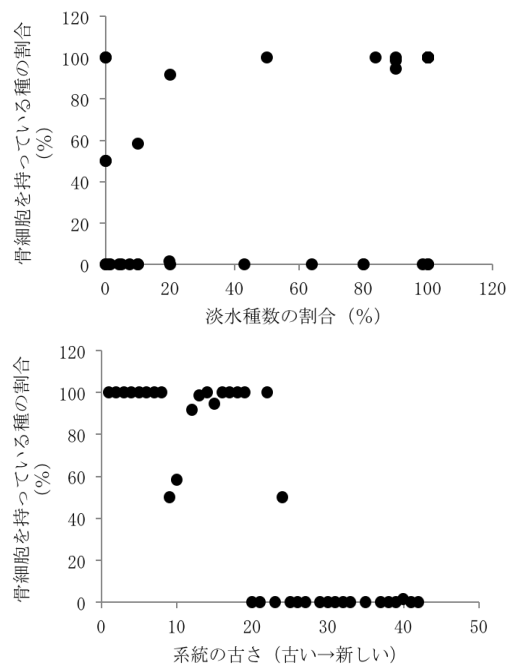


図3. 目レベルでの骨細胞を持っている魚種の割合と淡水種数割合(上図)および系統の古さ(下図)との関係性。

以上から、魚類全体では骨細胞をもつ種と持たない種が混在するが、系統的な影響が大きいことが明らかとなった。骨細胞の消失と再獲得は複数回起きているが、4億年にも遡る魚類の進化の歴史を考えるとその頻度は非常に低い。生息地や生態パターンが充実している種は多くなかったが、それでも100種類を超える魚種を比較しても骨細胞の有無に影響する要因は特定できなかった。系統ごとに骨細胞の有無に関わる要因も異なる可能性があり、ウナギ目では海水への依存度が影響することが示唆された。四肢動物の骨細胞はカルシウム調節などの重要な代謝機

能を持っている。水中にカルシウムは豊富に存在するため、魚類にとってカルシウム調節は必要ない。一方、魚類ではリンの調節が骨によって行われていると考えられており、淡水と海水でリンの濃度が異なることが骨細胞の有無に影響しているのかもしれない。

魚類の骨細胞は非常に単純な構造であった。ポリプテルス目など古い系統で比較的発達した突起状の骨細胞を保有していたが、それでも哺乳類のような細胞ネットワークは形成されていなかった。この構造からも哺乳類でみられる多臓器ネットワークは、両生類以降で進化してきたと考えられる。今後魚類だけでなく、両生類、爬虫類、鳥類などの骨細胞を調べることで、骨細胞の意義や機能がより明確になると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔図書〕(計 2 件)

Whiteley A, Penaluna BE, Taylor EB, Weiss S, Abadia-Cardoso, Gomez-Uchida D, Koizumi I and Trotter P. (2019) Trout and Char: Taxonomy, Systematics, and Phylogeography. In: Diversity and Status of Trouts and Chars of the World. (eds) Kershner J, Williams J, Gresswell B and Lobon-Cervia J. (印刷中)

Muhlfeld CC, Dauwalter DC, D'Angelo VS, Ferguson A, Giersch JJ, Impson ND, Koizumi I, Kovach RP, Schöeffmann J and Epifanio J (2019) Global Status of Freshwater Trout and Char: Conservation Challenges in the 21st Century. In: Diversity and Status of Trouts and Chars of the World. (eds) Kershner J, Williams J, Gresswell B and Lobon-Cervia J. (印刷中)

〔その他〕

ホームページ等

<http://noah.ees.hokudai.ac.jp/envmi/koizumilab/>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

小泉 逸郎 (KOIZUMI, Itsuro)

北海道大学・地球環境科学研究科・准教授  
研究者番号：50572799

### (2)連携研究者

佐藤 真理 (SATO, Mari)

北海道大学・歯学研究科・准教授

研究者番号：40546488