

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24657161

研究課題名(和文) 真胎生魚をモデルとして一次造血機構の意義と進化を探る

研究課題名(英文) Analysis of early developments in a viviparous fish *Xenotoca eiseni*

研究代表者

飯田 敦夫 (IIDA, Atsuo)

京都大学・再生医科学研究所・助教

研究者番号：90437278

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は胎生魚*Xenotoca eiseni*を使い、非哺乳類における胎生機構の仕組みを解析した。*Xenotoca eiseni*では、哺乳類のような明確な胎盤および臍帯構造は確認できなかったが、胎仔の肛門部分にリボン上の特徴的な構造を見いだした。この構造は母親からの栄養供給を受ける器官と推測され、出産直前にプログラム細胞死により除去されることを明らかにした。これは哺乳類の胎盤や臍帯では報告のない、胎生魚類にユニークな機構である。

研究成果の概要(英文)：I analyzed a mechanism of non-mammalian viviparous system using a live-bearer teleost *Xenotoca eiseni*. The viviparous fish doesn't possess defined analog of fetal organs corresponding to a placenta and an umbilical cable of mammals. They have unique ribbon-like structure elongated from a perianal. This structure is presumed to be a functional analog of the fetal organ of mammals, which plays a role for absorption of maternal nutrients. I found that the ribbon-like structure of the fetal fry is disrupted by programmed cell death in perinatal stage. Such regression mechanism has not reported in mammals. It was presumed to be a unique system in viviparous fish.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・進化生物学

キーワード：胎生 魚類 繁殖

### 1. 研究開始当初の背景

胎生とは子供を母親の体内で孵化させ、栄養を与えてある程度の成長後に出産する繁殖様式である。“胎生”と言えば、まず思い浮かべるのは我々ヒトを含む哺乳類であるが、同様の繁殖様式は魚類や爬虫類、または無脊椎動物に至る幅広い動物種に存在する。これらの形質は進化的に独立して出現したものであるが、目的は共通して「母親の体内で子供を育てる」ことであり、種間で似たような形質に収斂していると予想される。だが一方で、それぞれの種にユニークな形質も形態的な観察から報告されている。

このように“胎生”は動物の繁殖様式の適応や進化を考える上で興味深い素材ではあるが、これまで分子生物学的に解析されることの少ない未開の分野であった。そこで本研究は、淡水性の胎生魚をモデルとして、非哺乳類の胎生形質についての研究を開始した。

### 2. 研究の目的

カダヤシ科ゲーデア目の胎生魚について、飼育法および繁殖法を確立し、モデル動物と同等の研究素材として取り扱うことを目指す。その上で胚発生の観察を行い、哺乳類の胎生形質と“何が似ており”“何が異なるのか”を明らかにする。本研究計画では特に、母親の体内で発生する仕組みに焦点を絞った解析を行った。

### 3. 研究の方法

研究材料とする生物はカダヤシ目ゲーデア科 *Xenotoca eiseni* とし、ペットショップで購入した個体の飼育・繁殖を試みた(図1)。

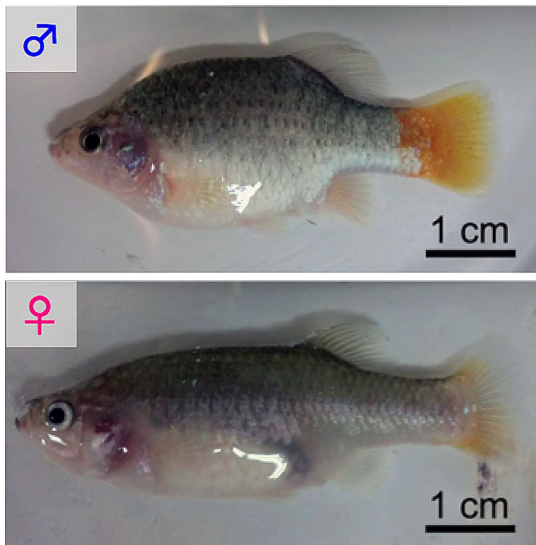


図1. *Xenotoca eiseni* 成魚

飼育は既存のゼブラフィッシュ飼育システムを用いた。ビデオカメラで交尾行動を撮影し、任意の週齢の胎仔を摘出し観察した。

観察後の胚はホルマリン等で固定した後、組織染色切片や、抗体染色によるサンブル製を行った。実体顕微鏡および蛍光顕微鏡で胎仔特異的に見られる器官を観察した。

### 4. 研究成果

#### 研究期間で明らかにしたこと

*Xenotoca eiseni* は既存のゼブラフィッシュ飼育システムにおける飼育条件で維持・繁殖が可能であることが分かった。交尾行動から出産までに約5週間の妊娠期間を経て、最大で50匹弱の稚魚を出産する。交尾行動をビデオ撮影し、交尾2週間および3週間に於ける成長中の胎仔を摘出し、観察した(図2、図3)。



図2. 妊娠4週齢のメス

胎仔の肛門周辺からは栄養リボンと呼ばれる、機能的に哺乳類における胎盤・臍帯に相当する器官が伸長しており、母体から分泌された栄養を吸収して成長していることが示唆された(図3)。哺乳類における胎盤-臍帯のような母体との癒着構造は見られず、肛門周辺から伸長しているため、魚類が独自に獲得した相似器官であると推測された。栄養リボンは上皮様レイヤーが間充織を包み込んだ構造をしており(図4) 内部には血管が走行し胎仔との間に血液循環が観察された。したがって血液循環を介して栄養およびガス交換を行っていることが示唆された。

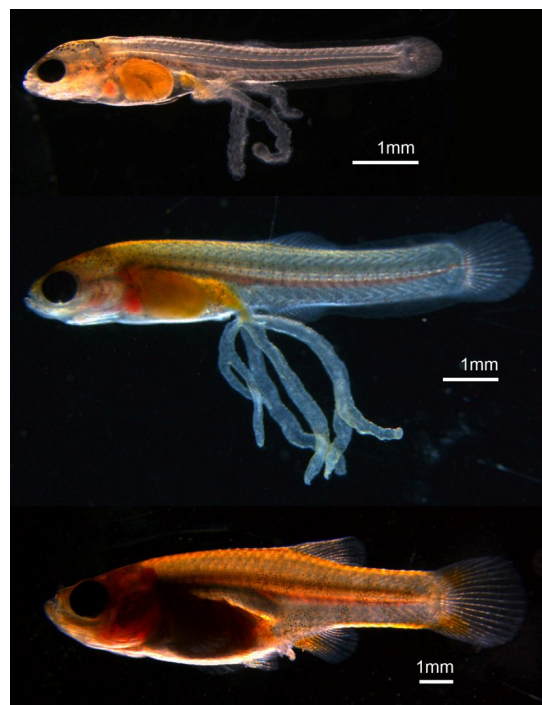


図3. 胎仔(上:2週齢、中:3週齢)と新生仔(下)

この栄養リボンは新生仔においては短く退縮しており、母体内で必要とされる期間のみに一過的に出現する器官であることが推測された(図3)。新生仔の退縮したリボンにおいては、上皮様レイヤーおよび間充織構造はほぼ崩壊しているが(図4)、血液循環は維持されていた。

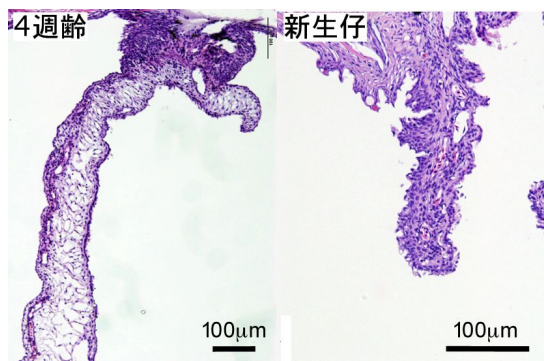


図4.栄養リボンのHE染色組織切片

また、退縮した栄養リボンからカスパーゼ3の活性化が検出されたため、退縮にはアポトーシスによるプログラム細胞死が関わっていることが示唆された(図5)。

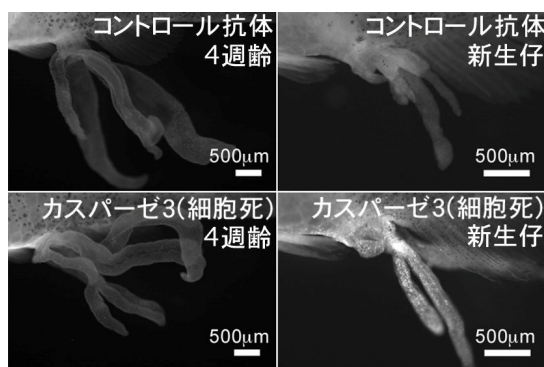


図5.カスパーゼ3抗体による細胞死の検出

哺乳類の胎盤および臍帯は、出生後に自然脱落する。そこに、ハイランドカープのような妊娠中からの顕著なアポトーシスの上昇は報告されていない。むしろ、妊娠期間中における胎盤でのアポトーシスの上昇は、胎盤早期剥離などの病態を引き起こす原因として捉えられている。以上のことから、栄養リボンとその排除機構は、魚類における胎生の進化の中で独自に獲得されたユニークな機構であると結論づけた。

#### 今後の発展

本研究で胎生魚 *Xenotoca eiseni* の飼育および繁殖方法が確立でき、実験動物として取り扱うための基盤を構築した。その上で、非哺乳類の胎生動物としてのユニークな発生機構を明らかにし、生物の多様性の一端を明らかにすることができた。今後は *Xenotoca eiseni* を用いた発展研究に着手する。

本研究でアポトーシスを利用した栄養リ

ボンの排除機構を明らかにしたが、その成魚機構はまだ分かっていない。栄養リボンの排除はすなわち妊娠期間の完了を意味する物であり、その誘導シグナルが母体側と胎仔側のどちらに由来するかは非常に興味深い問題である。

また現在、本研究でも観察した、胎生魚の交尾行動に着目している。卵生魚類は未受精卵と精子をそれぞれ放出して体外受精を行う。しかし *Xenotoca eiseni* を含む胎生魚類は、精子を雌の体内に送り込み体内受精を行う。グッピーやカダヤシでは、尻びれの一部がゴノポディウムと呼ばれる突起状として発達しており、哺乳類の雄性生殖器と同等の機能を果たすと言われている。しかし *Xenotoca eiseni* を含むグーデア科ではそのような構造は見られず、どのようにして精子を雌の体内に送り込んでいるかはよく分かっていない。

今後はこのような課題に取り組むことで、これまで知られていなかった胎生魚の生態を解明する。これらの継続研究により繁殖様式に関わる生物多様性の一端を明らかにしたい。

#### 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)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

飯田 敦夫, 徳増 雄大, 西楨 俊之  
胎生魚ハイランドカープ *Xenotoca eiseni*  
における胎仔の発生  
第 10 回水生動物の行動と神経系シンポジウム

鹿児島大学理学部

2013 年 11 月

〔図書〕(計 1 件)

Atsuo Iida 他,  
New Principles in Developmental Processes  
Springer (2014) p185-196

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

[http://www.frontier.kyoto-u.ac.jp/rc03/  
member/iida.html](http://www.frontier.kyoto-u.ac.jp/rc03/member/iida.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

飯田 敦夫 (IIDA, Atsuo)  
京都大学再生医科学研究所・助教  
研究者番号：90437278

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：