

新たな実験動物モデルの開拓と神経学への挑戦 ～ドジョウの秘めたる可能性～

2023年度 課題研究 進化形態学研究室 水國夏希



背景

コイ目とナマズ目は骨鰐上目に属しており、いずれも小脳や菱脳の顔面葉・迷走葉といった脳構造に他の魚類には見られない構造がある。特に、コイ目に属する魚類は種によって脳形態が異なっており、脳の多様化を知るうえで重要なグループとされてきた。

これまでに、コイやナマズの仲間を使って触鬚とその神経支配に関する研究が行われてきた。しかし、ドジョウはコイよりもよく発達した触鬚を持つにも関わらず、詳しい研究はほとんどなされていない。

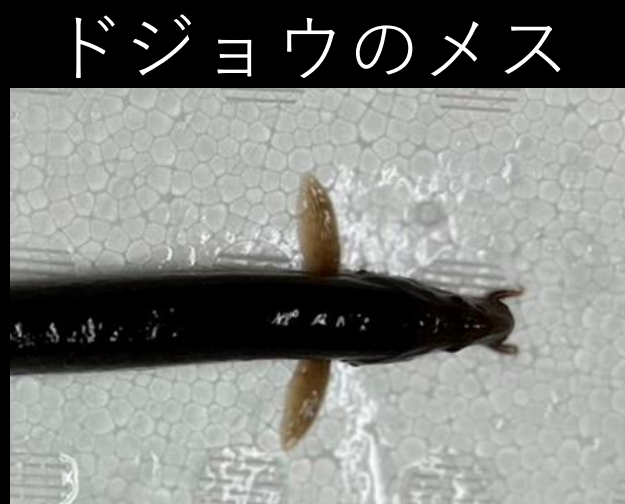
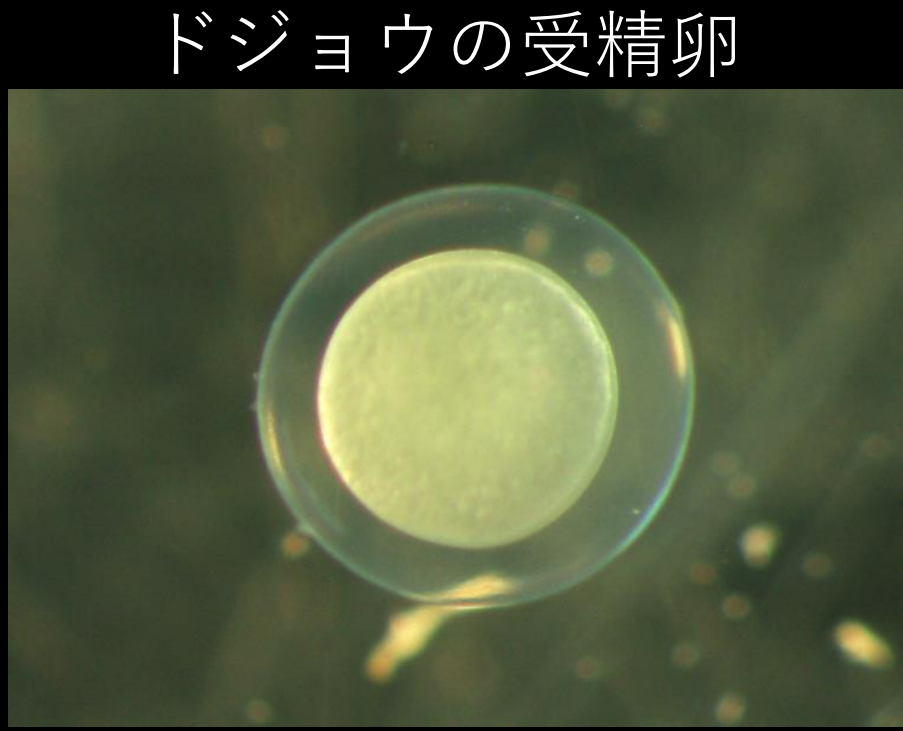
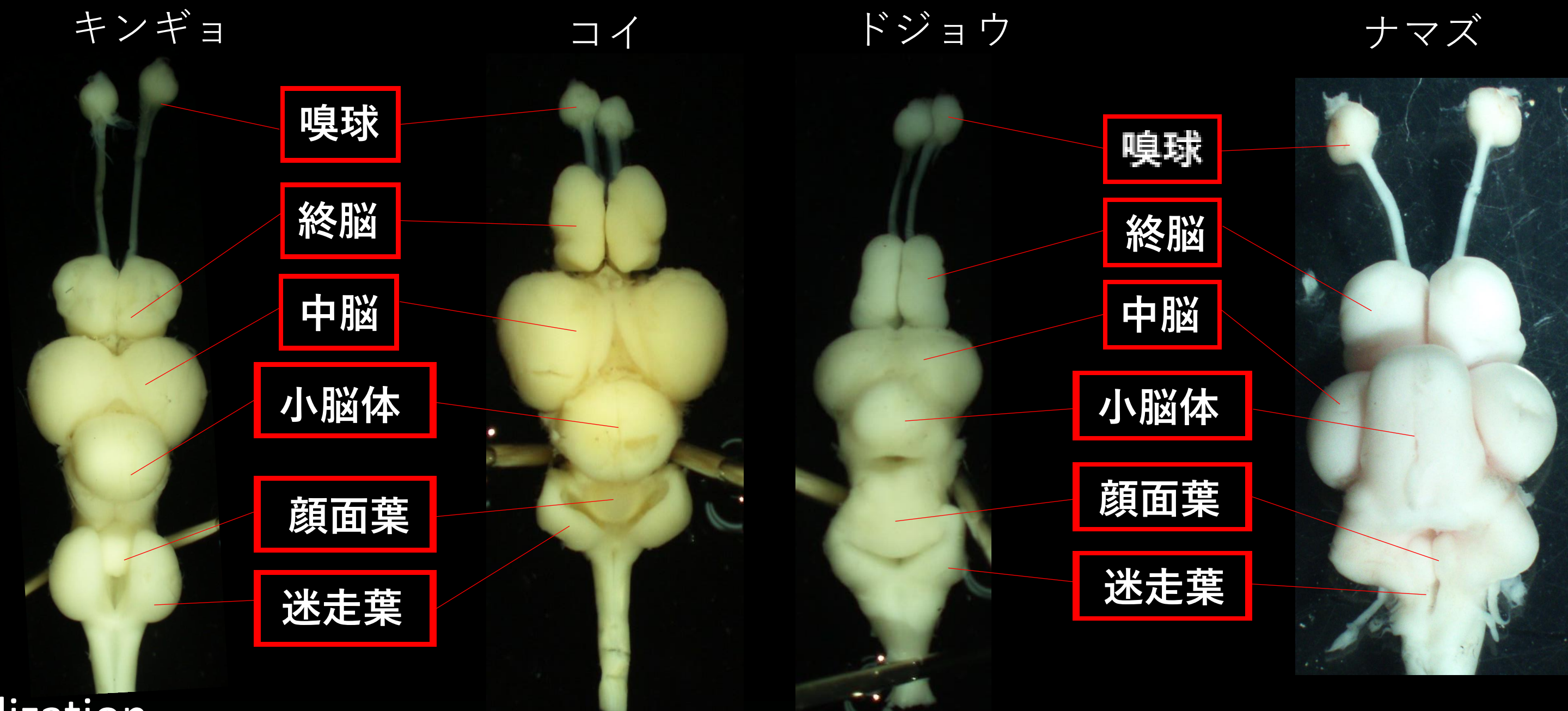
目的

ドジョウ上科のドジョウと、コイ上科のキンギョとコイ、ナマズ目のナマズの脳形態を比較し、共通点・相違点を見いだす。
ドジョウ胚を用いて蛍光免疫染色を行い、末梢神経を観察することで、神経形態学的な知見の少ないドジョウ類の神経形態を明らかにする。

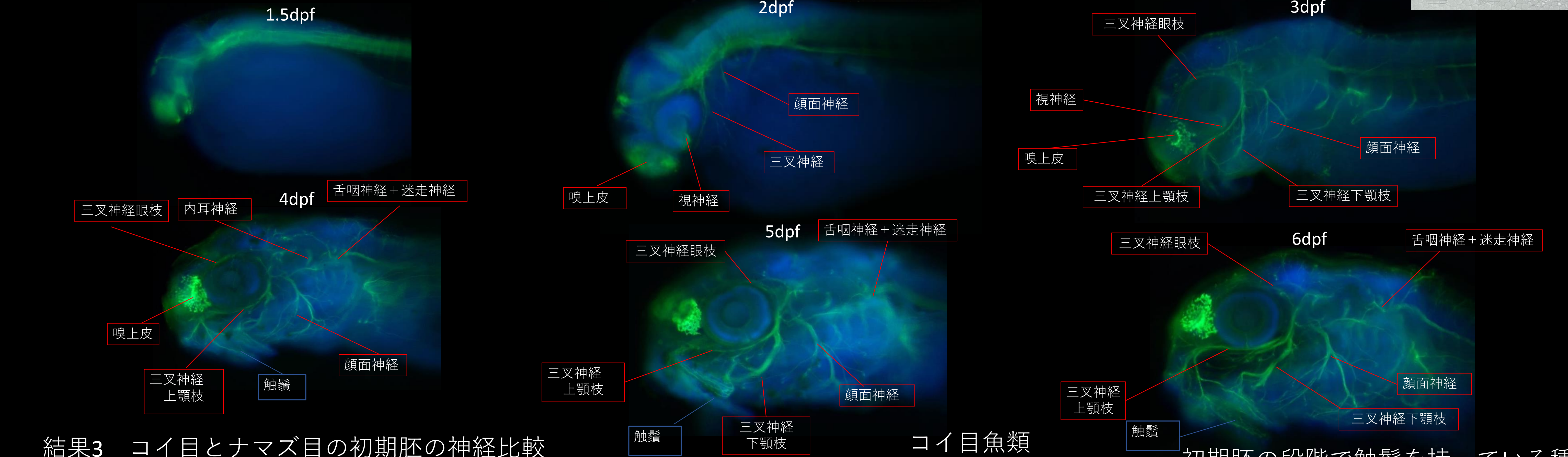
蛍光免疫染色の材料と方法

工程	試薬 (時間と回数)
クエンチング	H ₂ O ₂ :MeOH=10:1 (14h)
ブロッキング	5%スキムミルク/TBST+DMSO (1day)
一次抗体	アセチル化チューブリン (3day)
洗浄	TBST+DMSO (15m×10回)
二次抗体	Alexa488 (3day)
洗浄	TBST+DMSO (30m×10回)
核酸染色	ヘキスト33342 (30m)
洗浄	PBS (15m×5回)

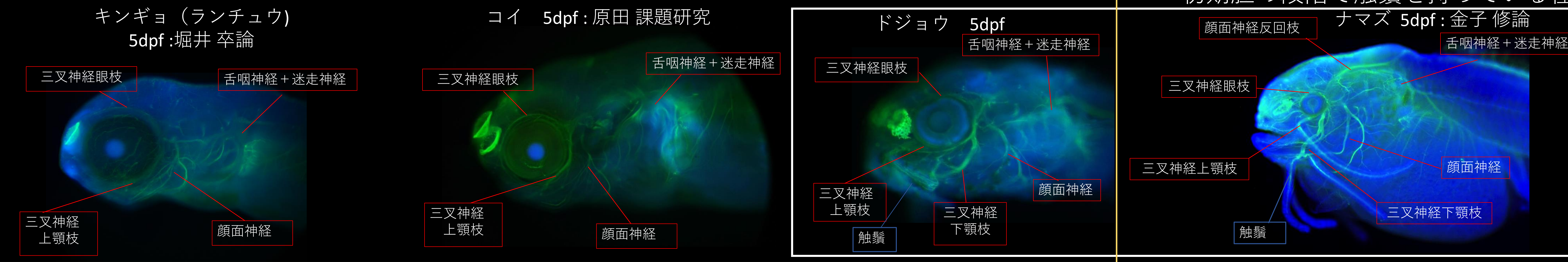
結果1 コイ目とナマズ目の脳形態比較



結果2 ドジョウ胚の蛍光免疫染色 dpf : day post fertilization



結果3 コイ目とナマズ目の初期胚の神経比較



結果1 コイ目とナマズ目の脳形態比較

コイ目コイ上科のコイとキンギョ(ランチュウ)、コイ目ドジョウ上科のドジョウ、ナマズ目のナマズの脳形態比較を行ったところ、主に、小脳体と菱脳の領域に種特異的な特徴が観察された。
小脳体に着目すると、コイ目では三種とも小脳体の後方領域に小脳核が発達しており、特に、ドジョウの小脳核は他の二種と比べて、よく発達していた。ナマズの小脳体は中脳領域に覆い被さるように配置されていた。
菱脳に着目すると、コイ目には無対の顔面葉と一対の迷走葉、ナマズには一対の顔面葉と一対の迷走葉が確認された。コイ上科のキンギョ(ランチュウ)とコイでは顔面葉よりも迷走葉が肥大化していた。また、ドジョウ上科のドジョウは顔面葉と迷走葉共に肥大化しており、顔面葉に関してはキンギョとコイよりも肥大化していた。ナマズでも迷走葉は観察されたが、コイ目ほどの肥大化は見られなかった。

結果2 ドジョウ胚の蛍光免疫染色

- ・1.5dpfでは、末梢神経は確認されなかった
- ・2dpfでは、嗅上皮、視神経、三叉神経、顔面神経が観察された
- ・3dpfでは、三叉・顔面神経が分枝している様子が観察された
- ・4dpfでは、嗅上皮の感覚細胞が明瞭にみられた
- また、舌咽・迷走神経と触鬚が観察され、触鬚に入力する神経も観察された
- ・5dpf、6dpfになると、さらに神経が末梢領域に伸長されている様子が観察された

考察2. 3

ドジョウ胚の神経形態を段階的に観察したところ、最初に三叉神経が末梢に向け神経枝を伸ばし、その後に顔面神経が伸長し、続いて後方の舌咽神経と迷走神経が伸長していく様子が観察された。このことから、末梢神経は前方から後方にかけて発生する仕組みがあると考えられる。コイ目の三種間での比較から、三種ともに肥大化した嗅上皮が観察された。また、舌咽・迷走神経の神経形態も三種間で類似していることが観察された。しかし、ナマズ胚の舌咽・迷走神経の形態とは異なっていたことから、舌咽・迷走神経の神経形態がコイ目で保存されていることを示している。成体の脳において、コイ目の迷走葉の形態が種特異的であるのは、発生初期の時点から保存されている迷走神経の発生機構が生み出していると考えられる。

ドジョウ胚の三叉神経と顔面神経の神経枝は同じコイ目に属するキンギョ(ランチュウ)やコイよりも太く、ナマズ胚で見られる形態と類似していた。これは、初期発生時に触鬚を形成することと関係していると考えられる。触鬚は三叉神経と顔面神経によって支配されており、触鬚への神経入力触鬚形成とはほぼ同時期に観察される。つまり、外部形態と神経系が並行的に発生する仕組みが存在する可能性がある。このことから、初期発生時において触鬚を持つ種では、三叉神経と顔面神経の神経要素がより発達していると考えられる。
神経形態の観点からもドジョウはコイ目とナマズ目の特徴を有しており、比較発生学において非常に重要な種の一つであると言える。

結果3 コイ目とナマズ目の初期胚の神経比較

○コイ目魚類胚の神経形態比較
ドジョウ胚の神経枝はキンギョ胚やコイ胚に比べて太くなっていた。特に、触鬚に入力されている三叉神経と顔面神経の枝が太くなっていた。また、ドジョウ胚の顔面神経の分枝がキンギョ胚やコイ胚に比べて少ない様子が観察された。三種とも大きな嗅上皮が頭部先端領域で観察された。少し見えにくいですが、舌咽神経と迷走神経の形態は三種で同じであるように観察できた。
○初期発生時の段階で触鬚を持つ種の胚の神経形態比較
ドジョウ胚とナマズ胚ともに伸長した触鬚が観察され、触鬚に入力する神経も観察された。顔面神経の枝について着目すると、ドジョウ胚とナマズ胚ともに同じような形態をしている様子が観察された。ナマズ胚で見られる反回枝と呼ばれる神経はドジョウ胚では確認されなかった。少し見えにくいですが、ドジョウ胚とナマズ胚の舌咽神経と迷走神経の形態は異なっていることが観察された。

今後の展望

今回は、コイ目コイ上科とドジョウ上科、ナマズ目のナマズを用いて、脳の外部形態比較と末梢神経の形態比較を調査することができたが、ドジョウの触鬚に入る末梢神経の種類やその神経の投射先、また、ドジョウにおける小脳核の役割など、本研究の目的である、ドジョウをドジョウ上科の新たな実験動物モデルとするための決定打とすることができなかった。そのため、以上に挙げたドジョウの末梢神経に関する謎の解明や、脳の内部構造の観察を行い、脳アトラスの作成を行うことを目標に、今後の研究を進めてきたい。

謝辞

進化形態学研究室 M1 堀井強吾 村上安則教授
B4 原田朋和