

第1章

浸透圧的適応

井上広滋

地球上で最初の生命は海で誕生したと考えられている。そして、現存する生物の体液には太古の海の成分が反映されているとも考えられている。海は現在も生物に安定した棲みやすい環境を提供している。しかし、現在の海水の高い浸透圧は海の生物に脱水という深刻な問題を引き起こす。本章では海水の高い浸透圧に生物がどのようにに適応しているのかを概説し、最後に浸透圧適応と脊椎動物の進化とのかわりについて考察してみたい。

1. 浸透圧適応の意義

1.1 海の成分と生物の体液

地球で最初の生命が誕生したのは先カンブリア紀（約38億年前）、また、最初の脊椎動物が出現したのはオルドビス紀（約5億年前）であると推定されている。これらの時期の海水と、現在の海水のイオン組成を比較してみよう（表1）。基本的な組成は似ているものの、現在の海水のイオンの濃度もずっと高いことがみとれる。すなわち、長い歴史のなかで海水はしだいに濃縮されてきたと考えられる。次に、これらの海水と脊椎動物の血液のイオン組成および浸透圧を比較してみよう。Macallum (1926) は、血液はその動物が生じたときの海の成分を反映していると考えたが、実際、現在の脊椎動物の血液中のイオンの種類や相対比は海水に似ている。しかし、濃縮された現在の海水のイオンの濃度や浸透圧は、硬骨魚類や四肢動物の体液の約3倍である。安定した棲みやすい環境を生物たちに提供し続けてきた海であるが、現在の海水の高い浸透圧は海に生きる生物にとって重大な問題となっている。

1.2 浸透圧が生物におよぼす影響

海水の高い浸透圧が生物におよぼす影響とはどのようなものだろう。それを考えるために、まず浸透圧とはどのようなものかについて簡単に説明した

表1 太古の海水、現在の海水および脊椎動物の血液のイオン濃度と浸透圧  
イオンの単位は mmol/L、浸透圧の単位は mOsm/kg・H<sub>2</sub>O、カッコ内は Na<sup>+</sup>を100とした場合の各イオンの比率を示す。（データの一部は安藤，1988；竹井，2003による）

	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	浸透濃度
先カンブリア紀の海水	298 (100)	104 (34)	2 (1)	11 (4)	398 (134)	54 (18)	
オルドビス紀の海水	379 (100)	51 (13)	7 (2)	38 (10)	441 (116)	40 (11)	
現在の海水	457 (100)	10 (2)	10 (2)	52 (11)	525 (115)	28 (6)	1078
メケラウナギ	529 (100)	10 (2)	6 (1)	26 (5)	534 (101)	18 (3)	1034
ヤツメウナギ	120 (100)	3 (3)	2 (2)	2 (2)	96 (80)	3 (3)	253
ウナギ（海水馴致）	175 (100)	3 (2)	2 (1)	3 (2)	155 (82)	1 (1)	377
ウナギ（淡水馴致）	150 (100)	3 (2)	2 (1)	2 (1)	105 (70)	0 (0)	328
ヒト	153 (100)	4 (3)	4 (3)	1 (1)	112 (73)	1 (1)	305

い、浸透圧（osmotic pressure）の定義は、「水を通すが水に溶け込んだイオンなどの物質は通さない膜（半透膜）を隔てて2つの溶液が存在するときに、薄い溶液側から濃い溶液側への水の浸出を止めるために必要な圧力」というものである。浸透圧は同じ温度であれば、溶液中に溶け込んでいる物質のモル濃度に比例する。すなわち、イオンを多く含んでいるほど、その溶液の浸透圧は高いことになる。ちなみに、生理学でよく用いられる浸透圧の単位は重量浸透濃度（osmolality）すなわち Osm（オスモル）/kg・H<sub>2</sub>O であり、1 Osm/kg・H<sub>2</sub>O は水 1 kg 中に溶質が 1 M 含まれているときの浸透圧に相当する。1 M グルコース溶液の浸透圧は、1 Osm/kg・H<sub>2</sub>O であるが、1 M NaCl 溶液の浸透圧は、NaCl が Na<sup>+</sup> と Cl<sup>-</sup> にほぼ解離するので、約 2 Osm/kg・H<sub>2</sub>O となる。

浸透圧の高い溶液と浸透圧の低い溶液とが半透膜を隔てて存在するとき、水は低浸透圧側から高浸透圧側に移動する。このことを海の生物に当てはめてみよう。海の生物の体液は、細胞膜または上皮細胞層を隔てて海水と接している。細胞膜は厳密には半透膜ではないが、もし体液の浸透圧が海水の浸透圧より低いと、体液から海水に向かって水が浸出、つまり生物は脱水されることになる。

これが海水の高い浸透圧が生物におよぼす最大の問題であり、海洋生物の浸透圧適応とはこの脱水現象を克服するプロセスであるといえる。

## 2. 浸透圧調節からみた生物の分類

### 2.1 生息域による分類

浸透圧調節のメカニズムの説明の前に、水中に生息する生物を浸透圧適応の観点からいくつかのグループに分けてみよう。1つの分類は、生息する水域から分類する方法である。淡水、海水、汽水に棲む生物はそれぞれ淡水性生物、海水性生物、汽水性生物とよぶことができる。魚類の場合は、それぞれ淡水魚、海水魚、汽水魚とよばれる。Myers (1938) は、淡水魚のうち、海水への適応性のない魚種を純淡水魚または一次性淡水魚 (primary fresh-water fish)、一時的に海水に耐えられるものを二次性淡水魚 (secondary fresh-water fish)、さらに淡水にも生息するが、海水への高い適応力をもつ魚を周縁性淡水魚 (peripheral fresh-water fish) と分類した。この分類法にもとづくと、汽水魚や次項で述べる通し回遊魚などは周縁性淡水魚に含まれることになる。

### 2.2 通し回遊魚

魚類のなかには、淡水と海水の間を行き来する種が存在する。生活史において海洋域と淡水域の両方を必ず利用する魚は、海洋のみでの回遊 (海洋回遊) や淡水域のみでの回遊 (淡水回遊) を行う種と区別して、通し回遊魚 (diadromous fish) とよばれる。そのうち、ウナギのように産卵を海で行う魚を降河回遊魚 (catadromous fish)、サケのように産卵を淡水で行う魚を遡河回遊魚 (anadromous fish) とよぶ。なお、アユは孵化後海に下り、仔稚魚期を海ですごしたあと川をのぼり、川で成長して産卵する。このように産卵以外の動機で淡水と海の間を移動するものを両側回遊魚 (amphidromous fish) とよぶ (Myers, 1949)。

### 2.3 適応能力による分類

多くの生物は、淡水または海水のどちらかにしか生存することができない。このように、限られた狭い範囲の塩濃度にしか適応できない生物は狭塩性 (stenohaline) 生物とよばれる。一方、淡水、海水を往来するような、広い範囲の塩濃度に適応できる生物は広塩性 (euryhaline) 生物とよばれる。通し回

遊魚や、塩分濃度の変動の激しい河口域に生息する生物などが広塩性生物に含まれる。2.1項で紹介した Myers の分類は、生息域に適応能力を加味した分類方法であるといえる。

### 2.4 体液調節能力による分類

硬骨魚類やヤツマウナギ類は、体液より浸透圧の高い海水中においても、体液より浸透圧の低い淡水中においても、体液浸透圧を一定のレベル、すなわち海水の約1/3に調節する (表1)。このように、体液と異なる浸透圧環境においても、体液の浸透圧を一定に保つ生物を浸透圧調節型動物 (osmoregulator) とよぶ。調節型生物はつねに体液中のイオンを調節し、それにより体液浸透圧を一定に保つしくみを発達させている。したがって、より正確に表現すれば、浸透圧・イオン調節型動物 (osmotic and ionic regulator) とよぶことができる。一方、海産無脊椎動物の多くやメクラウナギ類のイオン組成や体液浸透圧はほぼ環境の海水と同じである。このように、環境浸透圧に合わせて体液が変化するものを浸透圧順応型動物 (osmoconformer) または浸透圧・イオン順応型動物 (osmotic and ionic conformer) とよぶ。

生物の進化においては、体液調節系は順応型 (osmotic conformer) から調節型 (ionic regulator) に進む傾向にあり、実際の生物においては、完全な順応型や完全な調節型ばかりでなく、さまざまな中間型が存在する。たとえば、一般に順応型に分類されるメクラウナギの血漿のイオン組成は、厳密には海水とまったく同じというわけではなく、2価イオン、特に  $Mg^{2+}$  は海水より低く調節されている (表1)。また、広塩性のシナモクスガニ *Eriocheir sinensis* は海水より高い浸透圧環境では順応型、海水より低い浸透圧環境では調節型であるという (内田, 1981)。さらにユニークな中間型の例としては、軟骨魚類における尿素を利用した体液調節がある。軟骨魚類では、体液のイオン組成は海水の約1/2に制御し、さらに、体液中に尿素を蓄積することにより、体液浸透圧を海水と同等以上に上昇させて脱水を防いでいる。つまり、イオンについては調節型、浸透圧については順応型であることになる。尿素を用いた体液調節の詳細については第3章を参照されたい。

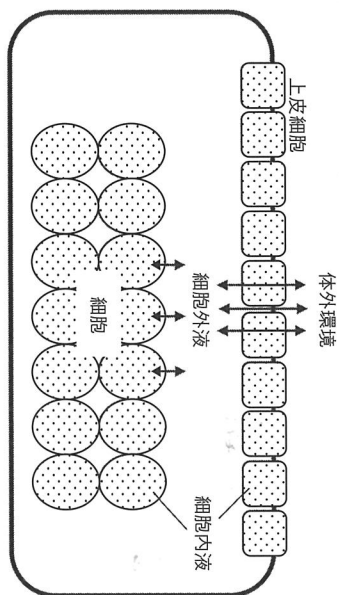


図1 多細胞生物の体液浸透圧調節の模式図  
細胞外液には細胞間液と脈管内液が存在する。

### 3. 浸透圧調節のしくみ

#### 3.1 細胞内液と細胞外液

次に、調節の対象となる体液について考えてみたい。単細胞生物の場合、個体と細胞は同義であるので、体液とは細胞の内容液、すなわち細胞内液のみである。一方、多細胞生物の体液には、細胞内液のほかに、細胞の周囲を取り巻く細胞間液、そして、より複雑な体制をもつ生物では、血液（血漿）やリンパ液などの脈管内液が存在する。細胞間液と脈管内液は合わせて細胞外液とよばれる。

生物の活動とは、個々の細胞の活動が統合されたものである。生物が生きるためには、細胞が正常に機能できる状態に細胞内液が調節されなければならない。単細胞生物の場合、細胞内液の調節は、環境水に対して個々の個体（細胞）において行わねばならないが、多細胞生物の場合、細胞内液の調節は細胞膜を介して細胞外液との間で行う（図1）。順応型生物の場合、細胞外液は環境水に合わせて変化するので、個々の細胞が適応できる環境でのみ生存できることになる。一方、調節型生物では、環境水に対して細胞外液の調節を行って細胞に安定した環境を提供するという多重の調節により細胞を守っているのである。

#### 3.2 細胞膜を介した細胞外液と細胞内液間の物質の移動

細胞内液と細胞外液を隔てる細胞膜の主成分はタンパク質と脂質である。主

な脂質は親水性の頭部と疎水性の尾部をもつ両親媒性のリン脂質である。リン脂質が水性の環境におかれると、頭部を外側、尾部を内側に向けて、2層のシート状構造をつくる。この脂質の二重層が細胞膜の基本構造である。膜の性質は膜を構成するリン脂質の種類や混在するコレステロールの分布により異なるが、基本的に電荷をもつ物質を通しにくい。

細胞膜の脂質二重層にはさまざまな膜タンパク質が埋め込まれている。埋め込まれるタンパク質としては、水溶性の通路を形成して水や水溶性の小分子を通過させるチャネル (channel) や、特定の物質と結合し、一連の構造変化を経て膜を通過させるトランスポーター (transporter) などがある。また、エネルギーを使って電気化学的な勾配に逆らって物質を運ぶ能動輸送 (active transport) を行うタンパク質がある。ATPの加水分解により得られるエネルギーを使って細胞外に $\text{Na}^+$ を排出し、 $\text{K}^+$ を取り込む $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{-ATPase}$ 、いわゆるナトリウムポンプはこのようなタンパク質の代表的な例である。一方、 $\text{Na}^+$ や $\text{K}^+$ と結合させて、アミノ酸やブドウ糖を電気化学的な勾配に逆らって運ぶトランスポーターも存在する。このような輸送は能動輸送ではあるが $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{-ATPase}$ のつくる濃度勾配に依存するので、二次的能動輸送 (secondary active transport) とよばれる。細胞はこれらの膜の機能を駆使して細胞内液の調節を行うが、塩類イオンの出入れにより調節するだけでなく、細胞内のアミノ酸などを増加させて細胞内液の浸透圧を上げ、脱水を免れるという手段を用いるものもある。このような手段は、体液浸透圧が変動する順応型の無脊椎動物において特に顕著である（第4章参照）。

#### 3.3 上皮細胞を介した物質輸送

多細胞生物の体表や体腔の表面をおおう上皮、たとえば、鰓、消化管、腎臓の細尿管などの上皮の細胞は、自らの細胞内液を調節するだけでなく、細胞の一方の側から反対側へと物質を透過させる役割をになっている。上皮細胞の細胞膜は、外界や管腔に面する頂膜 (apical membrane)、細胞間隙に面する側膜 (lateral membrane)、細胞底部の基底膜 (basal membrane) に分けることができ、側膜と基底膜を合わせて側底膜 (basolateral membrane) とよぶ。上皮細胞は、頂膜と側底膜それぞれの側に異なる輸送タンパク質を配置することで、物質を透過させている。図2に、魚類の腸の上皮におけるイオン輸送の例を示した。頂膜側（腸の場合は粘液側 mucosal ともよぶ）から側底膜側（腸

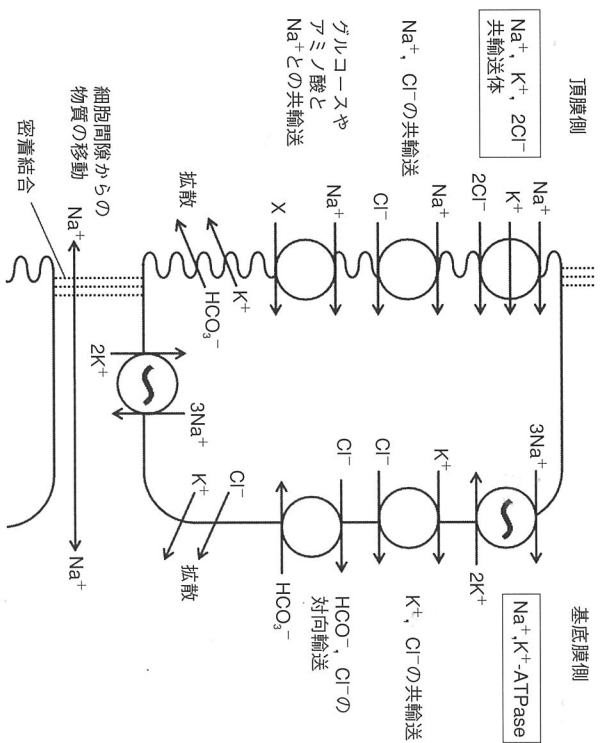


図2 腸上皮細胞におけるイオン輸送 (Loreis, 1995より改変)

の場合は漿膜側 serosal ともよぶ) に向かって  $\text{Na}^+$  や  $\text{Cl}^-$  が輸送されることがおわかりいただけるだろう。このように、細胞そのものを通過する物質輸送は transcellular pathway とよばれる。一方、近年、細胞と細胞の間の細胞間隙を通過する物質輸送 (paracellular pathway) が存在し、上皮における物質の透過に重要な役割をはたしていることがわかってきた。paracellular pathway においては、物質は上皮細胞同士をシールしている密着結合 (tight junction) という接着装置から透過し、その透過性の調節には claudin とよばれるタンパク質がかかわることがわかってきている (月田・古瀬, 2000)。

### 3.4 海水魚の体液浸透圧調節

次に、細胞外液の恒常性を保つシステムを、硬骨魚類を例に概説したい。すでに述べたように、海水魚においては環境水と体液の浸透圧差により主に鰓を通して常時水が奪われ、塩類イオンが侵入する状況にある (図3)。海水魚においては、浸透圧差により失われる水分を補給するためには、水を獲得しな

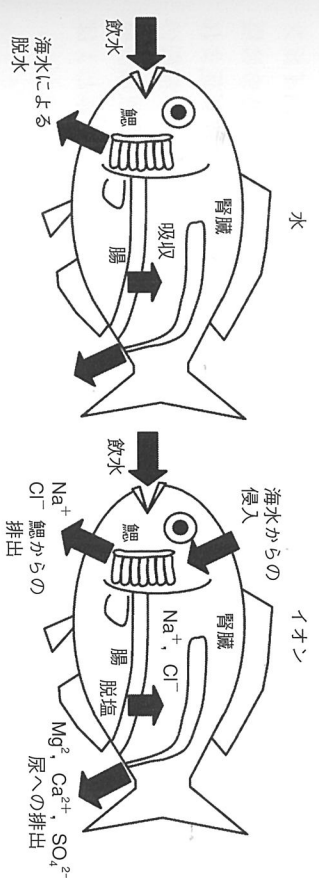


図3 海水魚の体液浸透圧調節のしくみ

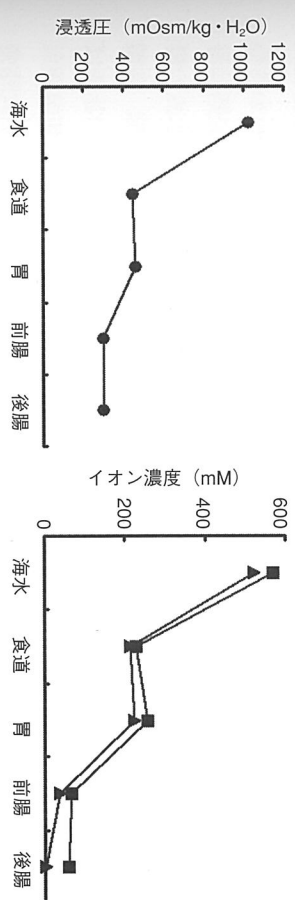


図4 海水およびウナギ消化管内容液の浸透圧と一価イオン濃度  
飲んだ海水が消化管内でしっかりと脱塩され、浸透圧が下がっていくことがわかる。  
(Tsukada *et al.*, 2005より改変)

ればならない。イルカなどの海産哺乳類では、主に餌などから水を得ることが知られているが、魚類の場合は主に口から水を飲むことで得ている。海水魚が飲むことのできる水は当然のことながら海水である。ヒトは海水を飲んで生きることができないが、海水魚の場合は、海水から水を得るしくみを発達させている。そのしくみは、主として消化管での塩と水の吸収、鰓からの塩類の排出、そして腎臓から尿への二価イオンの排出から構成される。

#### 1) 消化管での塩と水の吸収

図4に海水に馴致したウナギの消化管の各部位の消化管内液の浸透圧を示した (Tsukada *et al.*, 2005)。食道から腸に進むにつれ  $\text{Na}^+$  や  $\text{Cl}^-$  といった一価の塩類イオンや浸透圧が低くなっていることがみてとれる。ウナギの場合、海水を飲むとまず食道で  $\text{Na}^+$  や  $\text{Cl}^-$  を濃度勾配により受動的に取り込み、水はほと



んど吸収しないため、胃に達するまでに海水の約1/2まで浸透圧が一価イオンが減少する。胃ではほとんどイオンや水の動きはないが、腸の前部でさらに塩類が取り込まれ、体液とほぼ等張となった海水が、主に腸の前部で取り込まれる。また、海水に適応したウナギの腸は、体液より高張な海水の1/2希釈の段階でも水を吸収することも知られている。腸で一価イオンの吸収は能動的で、海水魚においては、特に図3に示した $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $2\text{Cl}^-$ 共輸送体とよばれるトランスポーターの調節が重要であると考えられている。

## 2) 鰓からの塩類の排出

鰓は呼吸を行うために、複雑な構造をとって表面積を増大させているため、体表面積の大部分は鰓の表面積であることが知られている。また、呼吸を効率よく行うために表面の上皮は単層である。このような構造であるために鰓は海水からの塩類の侵入や脱水を受ける場となっているが、一方では、海水魚の鰓は消化管で吸収された塩類を捨てるための重要な役割をになっている。塩類の排出の主役は塩類細胞 (chloride cell または mitochondria-rich cell) とよばれる細胞である。海水に馴致したウナギやサケの塩類細胞 (海水型塩類細胞) は淡水に馴致した場合の塩類細胞 (淡水型塩類細胞) よりも大型で、一次鰓弁 (primary lamellae) 上に主に存在する。塩類細胞の機能の詳細については第2章を参照されたい。

## 3) 腎臓

脊椎動物の体液調節において、腎臓は水分やイオンの再吸収や排出を行う重要な器官であるが、海水魚においては、その主な役割は $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ などの二価イオンの尿中への排出である。つねに脱水される環境にある海水魚の糸球体濾過量 (GFR) は低く、少量の尿を排出する。海水魚では海水に由来する一価イオンを主に鰓から排出するため、腎臓における一価イオンの再吸収の役割が薄れており、一部の海水魚の腎臓では遠位細尿管が失われている。さらに分化が進んだアンコウなどでは糸球体も存在しないことが知られている。

## 3.5 淡水魚の体液調節

淡水魚の場合は、海水魚とは逆に浸透圧差によりつねに体内に水が侵入するため、ほとんど水は飲まない。消化管のうち、食道は塩類、水ともにほとんど

透過しないが、腸においては、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ を吸収する。また、淡水魚の鰓は環境水から能動的に $\text{Na}^+$ や $\text{Cl}^-$ を取り込んでいる。その取り込みの主役はやはり鰓の塩類細胞と考えられるが、淡水魚の塩類細胞 (淡水型塩類細胞) は海水魚の塩類細胞とは形態、機能が異なる。淡水に馴致したウナギやサケの塩類細胞は、海水馴致群よりも小型であり、二次鰓弁上に集中して存在する。詳細については第2章を参照されたい。

淡水魚の浸透圧調節においては、腎臓の役割が大きい。淡水魚は体内の余剰の水を大量の低張尿として排出し、その際、淡水環境において不足する一価イオンを遠位細尿管から再吸収する。この再吸収にはやはり $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATPase、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $2\text{Cl}^-$ 共輸送体などが関与している。また近年、テイラピア *Oreochromis mossambicus* において、淡水馴致時の遠位細尿管の基底膜側で特異的に発現する $\text{Cl}^-$ チャネルが発見されている (Miyazaki *et al.*, 2002)。

## 3.6 環境浸透圧の変化に対する適応

海水中または淡水中で一生をすごす生物の場合は、海水型または淡水型の浸透圧調節機構のみをそれぞれ備えていれば事たり。しかし、広塩性魚類の場合、低浸透圧環境と高浸透圧環境の両方に適応できるしくみをもち、環境浸透圧の変化に対応して使い分ける必要がある。環境浸透圧が変化したときの体液浸透圧調節の切り換えは2つのフェーズに分けて考えることができる。1つは短期適応 (immediate adaptation)、もう1つは長期適応 (slow adaptation または馴化 acclimation) である (図5) (安藤, 1988; Takei and Hirose, 2002)。

長期適応は、環境浸透圧が変化したときに組織を作り換えるプロセスである。たとえば淡水から海水に移行したときに、消化管の構造やイオン輸送体の分布を変化させたり、鰓から淡水型塩類細胞を減らし海水型塩類細胞を増加させるなどの反応がこれに相当する。長期適応のプロセスはサケ科魚類、ウナギ、テイラピアなどを用いて詳しく研究されており、淡水から海水への長期適応にコルチゾールや成長ホルモンの分泌が、海水から淡水への適応にプロラクチンが関与することがわかっている (岩田・平野, 1991; McCormick, 1995; 金子, 2002)。

長期適応では新しくタンパク質を発現して組織を作り替えるため、適応が完了するまである程度の時間が必要である。しかし、組織の作り換えの間も、とりあえず既存の器官や組織を用いて環境の変化に迅速に対応しないと、長期適応が完了する前に個体は死ぬことになる。この迅速な対応のプロセスが短

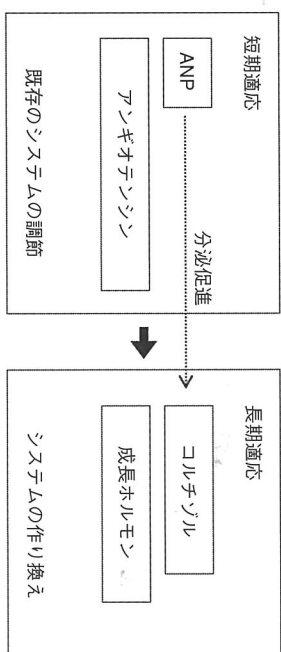


図5 短期適応と長期適応の関係

期適応である。短期適応に関する研究は長期適応にくらべると少ないが、最近、アンギオテンシン (angiotensin) やナトリウム利尿ペプチド (natriuretic peptide) 類が短期適応に関与することがわかってきている。アンギオテンジンは、前駆体であるアンギオテンシノーゲンがリニン (renin) およびアンギオテンシン変換酵素 (angiotensin converting enzyme; ACE) によるプロセッシングを受けて8アミノ酸からなる活性型 (アンギオテンシン II) となり、強力な飲水誘起作用を示すことが知られている (竹井, 2003)。ナトリウム利尿ペプチド類は、保存性の高い17アミノ酸の環状構造を特徴とするペプチドファミリーである (Takei, 2000; Takei and Hirose, 2002)。そのメンバーである心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) は、ウナギを淡水から海水に移すと血中 ANP レベルが迅速に上昇する。そして、ANP は飲水と、腸での  $\text{Na}^+$  吸収を抑制する。ウナギは海水に移行すると、水分補給のために飲水を開始するが、ANP はその際、 $\text{Na}^+$  の過剰摂取による血漿浸透圧の上昇を抑制していると考えられる。また、ANP は間質に作用してコルチゾールの分泌を促進する (Li and Takei, 2003)。したがって、ANP は間接的に長期適応も促進していると考えられる。

硬骨魚類 (条鰭類) のナトリウム利尿ペプチドファミリーには、ANP に加えて、B 型ナトリウム利尿ペプチド (BNP)、心室性ナトリウム利尿ペプチド (VNP)、および4種類のC型ナトリウム利尿ペプチド (CNP1-CNP4) の7種類のペプチドが存在する (Inoue *et al.*, 2003)。一方、円口類や軟骨魚類からはそれぞれ1種類のナトリウム利尿ペプチドしかみつかっていない

(Kawakoshi *et al.*, 2003)。7種類のナトリウム利尿ペプチド遺伝子とそれぞれの近隣の遺伝子のゲノム上での位置関係をワグ、メダカ、ニジマスと哺乳類の間で比較することにより、7つのナトリウム利尿ペプチド遺伝子は、1つの祖先遺伝子から染色体重複と遺伝子の縦列重複により誕生したことがわかっていく (Inoue *et al.*, 2003)。条鰭類ではほかに、飲水や利尿にかかわるアドレノメデュリン (adrenomedullin) や腸や腎臓での水・イオン代謝にかかわるグアニリン (guanylin) などのペプチドホルモンも重複して存在する (Ogoshi *et al.*, 2003; Yuge *et al.*, 2003)。硬骨魚類で多数重複しているこれらのペプチドホルモンが体液調節においてどのような役割をはたしているのか興味を持たれる。

#### 4. 生活史を通じた海水適応

これまで述べた、体液浸透圧調節機構は、主に魚類の成魚に関するものである。しかし、安定した親の体内で発生する海産哺乳類などを除く多くの海洋生物は、配偶子を体外に放出し、体外で受精し、受精卵はそのまま親の体外で発生する。したがって、海で生活史を完結させるためには、受精、卵発生、孵化などの段階をすべて海水に適応させなければならない。

##### 1) 受精

海水魚の精子は体液から高張な海水中に放出されることで、淡水魚の精子は逆に低張な淡水中に放出されることで、環境浸透圧の変化が引きかねとなって精子内での  $\text{Ca}^{2+}$  イオンの上昇を引き起こし、それにより精子の運動性が誘起される (森沢, 2003)。したがって、海水で産卵する種と淡水で産卵する種では、逆方向の刺激が精子の運動開始の引きかねを引くことになる。しかし、ジヤウメダカ *Oryzias latipes* やテイラピアなどの魚種は、淡水中でも産卵する種でも産卵が可能であることが知られている。Morita *et al.* (2004) はテイラピアにおいて、雄魚を淡水および海水に馴致すると、精子が運動を開始するためには必要な  $\text{Ca}^{2+}$  イオンの供給源が変化することを示唆している。海水に馴致したテイラピアの精子は、環境中の  $\text{Ca}^{2+}$  を取り込むのに対し、淡水に馴致したものは精子内に貯蔵された  $\text{Ca}^{2+}$  を利用する。すなわち、淡水、海水のどちらでも産卵可能な魚種は、受精のメカニズムも切り替えることができるようである。

一方、サケ科魚類の精子の運動の開始の引きかねは、浸透圧の変化ではない

ことが報告されている。精巢内でサケ科魚類の精子の運動を止めているのは精漿に含まれる  $K^+$  イオンである。精子が淡水中に放出されると、細胞内の  $K^+$  が細胞外に出て膜の過分極を引き起こし、この刺激が cAMP レベルを上昇させ、タンパク質のリン酸化を経て運動を開始することが解明されている。浸透圧の変化で誘起されるテイラピアの精子の運動開始は cAMP を介しないため、サケ類の精子活性化機構はまったく別のシステムであるといえる。

## 2) 卵発生

卵膜は塩類の浸入や拡散を妨げるバリアにはほとんどならないことが知られている（金子ほか, 1999; 金子, 2002）。浸透圧調節に必要な器官がまだ分化していない胚や稚魚においては、どのようにして体液の浸透圧を制御しているのだろうか。すでにわかっているしくみの1つは、鰾の分化より前に胚の卵黄囊上に現われる塩類細胞である。テイラピア胚の卵黄囊上の塩類細胞は、環境浸透圧に応じて淡水型、海水型に変化し、器官の分化が完了するまでの体液浸透圧調節に重要な役割をはたしていると考えられている（金子ほか, 1999; 金子, 2002）。

では、卵黄囊上の塩類細胞が分化する前の、より初期の発生段階での浸透圧調節はどのように行われるのだろうか？ われわれは、メダカとその近縁種を使って、初期発生における海水適応能力を調べているが、メダカ *Oryzias latipes* は淡水中で産卵された受精卵を卵割期に海水に移しても多くの胚は発生が進むのに対し、近縁種のマルモタスメダカ *O. marmoratus* の卵はすぐに死んでしまう（Inoue and Takei, 2002）。卵割期の卵はまだ体液や循環系が分化していない細胞の塊である。この時期の海水適応能のちがいは、細胞レベルでの適応能力のちがいに由来するものかもしれない。

## 3) 孵化

同様に、メダカの近縁種の間では、海水中での孵化の能力も異なることがわかってきた。主に海水に棲むジャワメダカは海水中でも淡水中でも孵化できるのに対し、汽水域に棲む近縁のインドメダカ *O. dancena* は海水中で発生は進むが孵化率が低い（Inoue and Takei, 2002）。海水中での孵化率のちがいがどのような原因によるのかは今後の研究課題である。

表2 *Oryzias* 属魚類4種の海水適応能の比較

種名 (生息水域)	マルモタス (淡水)	メダカ (淡水・汽水)	インドメダカ (汽水・淡水)	ジャワメダカ (海水・汽水)
成魚の 海水適応	×	△	○	○
海水中での 産卵	-	○	○	○
海水中での 受精	-	△	○	○
海水中での 卵発生	×	△	○	○
海水中での 孵化	-	○	△	○

○：可能，△：低率だが可能，×：不可能，-：データなし（実験不可能）

## 4) 研究モデルとしてのメダカ類

以上のように、海水中で生活史を完結するためには、受精や卵発生の時期から海水に適応できるシステムを備えなければならない。このような生活史全体を視野に入れた海水適応機構の研究を行うためには、世代時間が短く、室内で生活史を完結でき、かつゲノム情報が整った小型魚類の研究モデルがあると都合である。われわれはそのようなモデルとして、メダカとその近縁種が有用であると考えている。メダカは、淡水魚であるイメージが強いが、馴致の方法を工夫すれば海水中でも飼育することができる。同属には、淡水にしか棲めないマルモタスメダカから常時海水域に生息するジャワメダカまでさまざまな海水適応性をもつ種が存在し、ここまでに一部紹介したようにさまざまな比較研究が可能である（表2）。さらに興味深いことに、それぞれの種の地理的分布に注目すると、海水への適応能が高い種の分布は広く、適応能が低い種の分布域は狭い傾向がある。メダカ類は、産業上の価値がほとんどないため、その生息域の人為的な攪乱が少ない。メダカ類が生理学と生態学を結ぶユニークな研究モデルとなることを期待している（Inoue and Takei, 2003）。

## 5. 海水適応能と脊椎動物の進化

近年の化石の研究からは、脊椎動物から脊椎動物への進化は浅海で起こったと考えられている（Carroll, 1988）。現存するもともと原始的な脊椎動物は円口類のメクラウナギ類であるが、現存のメクラウナギ類はすべて海水性で基本的に順応型である。メクラウナギ類はそのまま海にとどまった可能性が高いが、その他の円口類はのちに淡水に進出したと考えられている。現存のヤツメウナ

ギ類は体液浸透圧を一定に保つ機能を身につけており、淡水種や、淡水・海水間を往来する種が存在する。

尿素を用いて海水適応するシステムを獲得した軟骨魚類は再び海に移って絶滅を免れて繁栄し、現在の地位を築いたと考えられている（松原ほか、1979）。一方、初期の硬骨魚類は淡水で繁栄したと考えられており、淡水への適応過程で体内に浸入する水を排出するために腎臓が進化したと考えられている（Smith, 1953）。また、淡水環境で不足するカルシウムの蓄積のためにリン酸カルシウムからなる骨が発達し、これが陸上進出の基礎をつくったとも考えられている（須田, 2004）。

硬骨魚類は、現在の多くの硬骨魚類の祖先となる条鰭類と、ハイギョやシーラカンスなどの肉鰭類の2つのグループにデボン紀には分岐していたとされる。肉鰭類の一系統が四肢動物に進化したとされるが、興味深いことに軟骨魚類にみられる尿素を使う体液調節システムが、肉鰭類や四肢動物に共通に存在するという（第3章参照）。

条鰭類はチヨウザメなどの軟質類、アミアなどの全骨類、そして現在の硬骨魚類のほとんどを含む真骨類に進化した。基本的に現在の軟質類と全骨類は淡水で分化し、真骨類のほとんどの種は新生代に海で分化したと考えられている。しかし、現在の真骨類を見渡すと、淡水魚、海水魚、汽水魚、通し回遊魚は多くの目に混在し、各分類群が分岐した後に、独自に海水、淡水間の移動が起こっていることが推察される。とりまとめると、進化の歴史のなかで脊椎動物の祖先は浅海で誕生してメクラウナギ以外は一旦淡水に進出し、そこで多様な分化をとげたのち、現存する生物につながる系統の多くがそれぞれ独自に海水・淡水の境界を1回ないし複数回通過してきたと考えられる（図6）。

Darlington (1957) は、「ある種が淡水中のみあるいは海水中のみで生息してきた歴史がいくら長かったとしても、異なる環境への適応力を失っているとは限らない」と述べている。生物は海水や淡水への適応能力を保存することで、環境の変化（たとえば陸上の乾燥による淡水域の減少や環境の悪化、海水面上昇や下降、捕食者や餌生物の繁栄や滅亡）が起こったときに、生存できる環境に移って、絶滅を免れることができたのだろう。その適応能力の保持には、遺伝子レベルではナトリウム利尿ペプチドファミリーのように重複した遺伝子の存在、調節系のレベルではK<sup>+</sup>による精子活性化システムや、尿素による浸透圧調節システムのような独立した調節システムの存在、そして集団レベルで

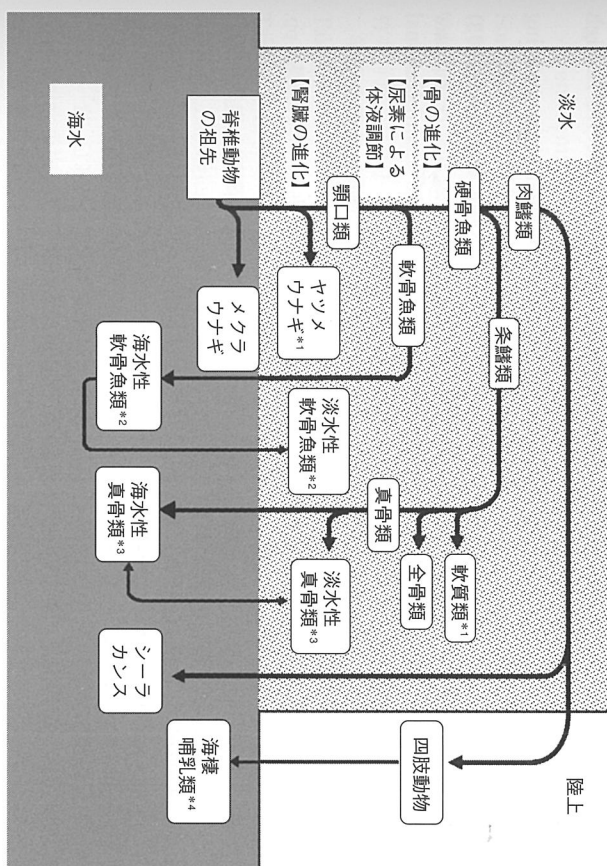


図6 脊椎動物の進化における海水・淡水間の移動の歴史

この図は種々の説から推察される大まかな流れを示そうと試みたものであり、すべての説やすべての脊椎動物の系統について矛盾なく示しているのではない点に留意されたい。<sup>\*1</sup>: ヤツメウナギ、軟質類には、海水・淡水間を行き来する種が存在する。<sup>\*2</sup>: 海水性軟骨魚類の一部は海水、淡水間を行き来する。また、エイ類には淡水中で生活史が完結する種が存在する。<sup>\*3</sup>: 真骨類はさまざまな分類群に淡水種・海水種・淡水・海水間を往来する種が混在する。<sup>\*4</sup>: イルカの一部の系統は淡水に分布している。

は適応能力の異なる系群や種の存在が、それぞれバックアップの機能をはたしてきたのかもしれない。そして、異なる浸透圧環境への適応の過程で進化した腎臓や骨のような器官やその機能は、その後の生物の進化の重要な鍵となっている。現存する生物の体液調節システムには、適応と絶滅による生物の進化の歴史が刻まれているのかもしれない。

#### 文献

- 安藤正昭 (1988) 水分代謝よりみた動物の適応. 日本生理学会誌 50: 669-683.  
Carroll, R. L. (1988) Vertebrate Paleontology and Evolution. W. H. Freeman and Company, New York.  
Darlington, P. J. (1957) Zoogeography: The Geographical Distribution of Animals. John Wiley and Sons, New York.



- Inoue, K. and Y. Takei (2002) Diverse adaptability of *Oryzias* species to high environmental salinity. *Zoological Science* 19: 727-734.
- Inoue, K. and Y. Takei (2003) Asian medaka fishes offer new models for studying seawater adaptation. *Comparative Biochemistry and Physiology* 136B: 635-645.
- Inoue, K., K. Naruse, S. Yamagami, H. Mifami, N. Suzuki and Y. Takei (2003) Four functionally distinct C-type natriuretic peptides found in fish reveal new evolutionary history of the natriuretic system. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 100: 10079-10084.
- 岩田宗彦・平野哲也 (1991) 浸透圧調節. 板沢靖男・羽生 功 (編), 魚類生理学, pp. 125-150. 恒星社厚生閣, 東京.
- 金子豊二 (2002) 浸透圧調節・回避. 会田勝美 (編), 魚類生理学の基礎, pp. 215-232. 恒星社厚生閣, 東京.
- 金子豊二・笹井清二・長谷川早苗 (1999) 胚期・仔魚期の浸透圧調節と塩類細胞. 月刊海洋, 号外 No. 18: 123-134.
- Kawakoshi, A., S. Hyodo, A. Yasuda and Y. Takei (2003) A novel natriuretic peptide that is exclusively expressed in the heart and brain of the most primitive extant vertebrate, the hagfish (*Eptatretus burgeri*). *Journal of Molecular Endocrinology* 31: 209-220.
- Li, Y.Y., and Y. Takei (2003) Ambient salinity-dependent effects of homologous natriuretic peptides (ANP, VNP and CNP) on plasma cortisol levels in the eel. *General and Comparative Endocrinology* 130: 317-323.
- Loretz, C. A. (1995) Electrophysiology of ion transport in teleost intestinal cells. *In* C. M. Wood and T. J. Shuttleworth (eds.), *Fish Physiology* Vol. XIV, Ionoregulation: cellular and molecular approaches, pp. 25-56. Academic Press, New York.
- Macallum, A. B. (1926) *Paleochemistry of body fluids and tissues*. Physiological Reviews 6: 316-357.
- 松原喜代松・落合 明・岩井 保 (1979) 魚類学. 恒星社厚生閣, 東京.
- McCormick, S. D. (1995) Hormonal control of gill  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase and chloride cell function. *In* C. M. Wood and T. J. Shuttleworth (eds.), *Fish Physiology* Vol. XIV, Ionoregulation: Cellular and Molecular Approaches, pp. 285-315. Academic Press, New York.
- Miyazaki, H., T. Kaneko, S. Uchida, S. Sasaki and Y. Takei (2002) Possible role of a novel Chloride channel in the renal tubules of freshwater adapted Mozambique tilapia. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99: 15782-15787.
- 森沢正昭 (2003) 精子運動を司る細胞内情報伝達機構—放精されると運動を開始し、卵がある元気になり、そこに誘惑される精子の話—. *生物科学* 54: 81-90.
- Morita, M., A. Takemura and M. Okuno (2004) Acclimation of sperm motility apparatus in seawater-acclimated euryhaline tilapia *Oreochromis mossambicus*. *The Journal of Experimental Biology* 207: 337-345.
- Myers, G. S. (1938) Fresh-water fishes and West Indian Zoogeography. *The Smithsonian Report* 1937: 339-364.
- Myers, G. S. (1949) Usage of anadromous, catadromous and allied terms for migratory fishes. *Copeia* 1949: 89-97.
- Ogoshi, M., K. Inoue and Y. Takei (2003) Identification of a novel adrenomedullin gene family in teleost fish. *Biochem. Biochemical and Biophysical Research Communications* 311: 1072-1077.
- Smith, H. W. (1953) *From Fish to Philosopher*. Little Brown, Boston.
- 須田立雄 (2004) 硬組織の起源と進化—序説—. *The Bone* 18: 421-426.
- Takei, Y. (2000) Structural and functional evolution of the natriuretic peptide system in vertebrates. *International Review of Cytology* 194: 1-66.
- 竹井祥郎 (2003) 比較生理学. 菅野富夫・田谷一善 (編), 動物生理学, pp. 51-61. 朝倉書店, 東京.
- Takei, Y. and S. Hirose (2002) The natriuretic peptide system in eel: a key endocrine system for eurythality? *American Journal of Physiology* 282: R940-R951.
- Tsukada, T., J. C. Rankin and Y. Takei (2005) Involvement of drinking and intestinal sodium absorption in hyponatremic effect of atrial natriuretic peptide in seawater eels. *Zoological Science* 22: 77-85.
- 月田承一郎・古瀬幹夫 (2000) タイトジャンクシオンを構成する4回膜貫通型蛋白質オクルデアインとクロードインの発見: Paracellular Pathwayの新しい生理学へ向けて. *生化学* 72: 155-162.
- 内田清一郎 (1981) 無脊椎動物における水・電解質代謝—水生無脊椎動物を中心に. *日本比較内分泌学会* (編), ホルモンと水・電解質代謝, pp. 17-34. 学会出版センター, 東京.
- Yuge, S., K. Inoue, S. Hyodo and Y. Takei (2003) A novel guanylin family (guanylin, uruguayin and renoguanin) in eels: possible osmoregulatory hormones in intestine and kidney. *Journal of Biological Chemistry* 278: 22726-22733.

## 第2章

# 塩類細胞の分子生物学

星島一幸・中田 勉・広瀬茂久

水棲動物の存在基盤となっている塩類細胞は古くから注目され、形態学および生理学的な観点から盛んに研究されてきた。塩類細胞を単離し培養するのは困難で、分子レベルのメスを入れるのはむずかしかったが、ミトコンドリアや $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ が多いという特徴や広塩性魚類や恐山ウグイのように特殊機能を発達させた魚類などを活用したサフトラクシオン・クローニンダ、さらにはフタヤゼラフアイツシュのゲノム情報の活用により分子生物学的な理解も深まりつつある。

## 1. 研究の歴史

塩類細胞 chloride cell は、Keys and Willmer によって海水ウナギの鰓に存在する大きな球状の細胞として1932年に初めて記載された。名前のように $\text{Cl}^-$ の排出にかかわっていることが示されるのはかなり後のことである。電子顕微鏡レベルで形態が詳細に調べられ、頂頂部にくぼみ（ピット, apical pit）が存在すること、側底部の細胞膜（basolateral membrane）は細胞質側に向かって複雑に入り込みアリの巣のような構造（管状系：tubular system）を形成しており、そこには $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ が密に配置されていること、ミトコンドリアが非常に多いことなどが明らかになった。塩類細胞はmitochondria-rich cellともよばれる。通常の細胞にくらべミトコンドリアの数が桁違いに多いために、ミトコンドリアに特異的な蛍光色素で染めると、塩類細胞を容易に識別できる。塩類細胞は鰓以外に、鰓蓋の薄い上皮にも含まれることがわかり、その上皮を用いた生理学的な研究により機能的解析が進んだ。すなわち、鰓蓋から剥がし取った薄い膜は1層の塩類細胞を含んでおりイオン輸送等の活性測定には格好の材料となった。その後、塩類細胞には上記海水型の他に淡水型も存在し、塩の吸収という逆の仕事をしているらしいことも明らかになった。したがって塩類細胞を機能的にIonocyte [ion + cyte (= cell)] と総称することもある。淡水型塩類細胞では外界の水に接する頂頂部には微絨毛が突き出している。これは塩

の吸収効率を上げるためのしくみと考えられている。栄養物を吸収する腸上皮細胞の微絨毛や腎尿管の再吸収系にみられる上皮細胞の微絨毛と似た構造上の特徴である。海水型塩類細胞の働きは分子レベルで説明できるようになっているが、淡水型に関しては論争の的となり分子レベルでの解析が待たれている。塩類細胞に関してはこれまで優れた総説が多数書かれている。詳細は最近の総説 (Evans *et al.*, 2005; Bartels and Potter, 2004; Perry *et al.*, 2003; Hirose *et al.*, 2003; Sakamoto *et al.*, 2001) とそこに引用されている文献を参照されたい。ここでは塩類細胞に関する一般的な性質を概説した後、分子レベルでの研究の進展と課題について述べる。

## 2. 塩類細胞の構造と機能の概要

### 2.1 局在部位

塩類細胞は、孵化直後は体表や卵黄囊膜に散在するが、鰓の発達とともにそこが主要な局在部位となる。散在していたものが鰓に移動してくるのか、鰓で新しく幹細胞から分化誘導されるのかは不明である。塩類細胞は主として鰓のフイラメント（1次鰓弁）上に存在する（図1）。種によっては、特に広塩性魚類では淡水適応時に鰓の2次鰓弁部分に塩類細胞がみられるようになる (Uchida *et al.*, 1996)。フイラメントから2次鰓弁へと移動するのか新しく2次鰓弁でつくられるのかははっきりしない。移動するとすればその方向と場所を決めているメカニズムを明らかにしなければならない。新しく出現するとすればもともとなる細胞とその分化誘導機構を解明する必要がある。

2次鰓弁は呼吸上皮ともよばれるように主要なガス交換の場であり、広い表面積を有する。薄い層板構造はそのままだと圧がかかると風船のように膨れてしまい、体積当たりの表面積が小さくなりガス交換の効率が悪くなる。これを防ぐために、袋状の2枚の膜は多数の柱細胞 pillar cell によって裏打ちされ隙間が広がらないようになっている。広い表面積を確保すると、その分淡水中での水分の流入が避けられない。これを効果的に補うために、種によっては淡水中では塩類細胞を2次鰓弁側に移動させるという戦略をとるようになったとも考えられる。最近酸素の必要量に応じて、柱細胞が伸縮し、2次鰓弁内の血液の流量と流路を調節しているらしいことが明らかになりつつある (Mistry *et al.*, 2004; Stenslokken *et al.*, 1999)。この流路と塩類細胞の2次鰓弁上の位置の間に相関があれば、上記推論との関連で興味深い。

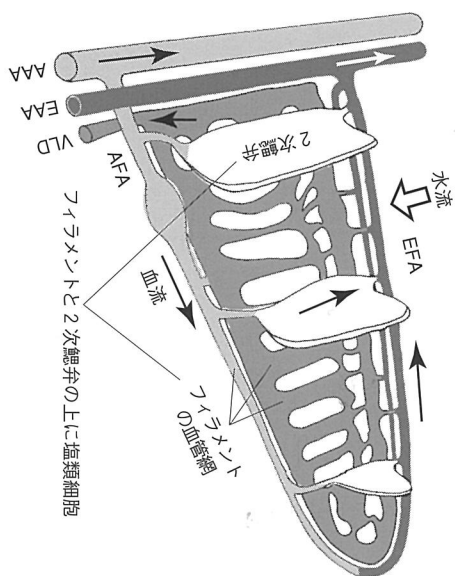


図1 鰓の構造と塩類細胞の存在部位  
塩類細胞は主としてフィラメント上に存在するが、淡水下では魚の種類によつては2次鰓弁上にも現われる。2次鰓弁を通過し酸素を取り込んだ血液は全身に運ばれる。フィラメントを横切る血管網と2次鰓弁の血流系とは別系統であることに注意。AAA: afferent arch artery, AFA: afferent filament artery, EAA: efferent arch artery, EFA: efferent filament artery, VLD: venolymphatic drainage.

## 2.2 塩類細胞の可視化

Molecular Probe社により、膜電位を利用してミトコンドリアを特異的に染めることができる蛍光色素が開発されている。これを利用すると生きた状態で塩類細胞を簡単に可視化することができる。固定した組織切片上では $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPaseに対する抗体で染色し、塩類細胞を同定するのが一般的である。この場合、 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPaseが多量に存在する細胞膜は通常の細胞とちがいの管状系を形成して細胞質側に入り込んでいるので、光学顕微鏡では、一見、細胞質が染まったようにみえる場合が多い。

## 2.3 塩類細胞の単離

塩類細胞を単離し培養することができれば分子レベルでの研究が飛躍的に進展するが実現していない。酵素処理により鰓組織をほぐした後、メッシュによるふるい分けと密度勾配遠心により、数パーセント以下であった塩類細胞の比率を50%近くまで上げることができると、培養系に持ち込み維持することは現状では困難である（Wong and Chan, 1999）。分画途中の塩類細胞は管状系等の

存在のおかげで位相差顕微鏡で容易に識別できる。このようにして濃縮された塩類細胞はタンパク質レベルの研究には威力を発揮するが、mRNAレベルではかなりのダメージを受けており、分子生物学的研究に活用されるにはいたっていない。

細胞の表面に顔を出している糖タンパク質のちがいをレクチンで識別し塩類細胞をサブタイズに分類・分画する試みもなされている。淡水型塩類細胞は機能的に哺乳類の腎尿細管の介在細胞に似たところがあり、その識別法を応用したものである。介在細胞には $\text{HCO}_3^-$ を分泌し交換に $\text{Cl}^-$ を吸収するB型とV-ATPaseによつて $\text{H}^+$ を排出するA型の2種類が存在するが、ピーナツツレクチン（PNA）は前者のみと反応する。PNAの磁気ビーズを用いて、PNA $^+$ 塩類細胞とPNA $^-$ 塩類細胞の粗分画が得られている（Reid *et al.*, 2003）。それぞれの細胞に備わっているイオン輸送体の同定と機能の解明は今後の課題である。

## 2.4 塩類細胞の微細構造と種類および機能

塩類細胞には多数のミトコンドリアが存在し、その隙間をぬうように側底部の細胞膜が陥入してできた管状系が張り巡らされている。この管腔構造の発達によつて表面積が拡大となり、多数のイオン輸送体を配置することが可能となっている。実際、管腔構造の膜上に多数の $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPaseが存在することが日本のグループ（Shirai, 1972; Kaniya and Uchida, 1968）によつて電子顕微鏡レベルで示され、その後多くの研究者によつて確認されている。細胞膜を透過できないパーオキシダーゼ等の酵素を血管内に注入し追跡すると、塩類細胞の細管内にも到達することから細管の管腔内が細胞の外と通じていることを、直接証明することができる（図2）。管状系は機能的には驚嘆すべき構造であるが、電気生理学者にとつては悩みの種となっている。塩類細胞に電極を刺して膜電位を測るうにも、さらにはパッチクランプにより塩類細胞膜のイオン輸送体の性質を調べようにも膜構造の複雑さに阻まれ信頼のおけるデータが得にくいからである。 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPaseの量が並外れて多いことを考えると、神経細胞以上に細胞内がイオンになつており、それが駆動力となつて陰イオンの排出（海水型塩類細胞による $\text{Cl}^-$ の分泌）や陽イオンの取り込み（淡水型塩類細胞による $\text{Na}^+$ の吸収）などが起こると考えられるが、実際の程度がイオンなのかは不明である。このため淡水型塩類細胞による $\text{Na}^+$ の取り込み機構に関しては、後述するように、有力な仮説が2つ提唱され決着していない。



図2 塩類細胞内に張り巡らされた管腔系 tubular system  
細胞膜が複雑にくびれ込んできた管腔系構造で、表面積の飛躍的な増加をもたらし、多数のイオン輸送体の配置を可能にしている。黒色部が外部に通じている管腔部に相当する。管腔系の発達程度は塩類細胞のイオン輸送能と密接に関連していると推定される。塩類細胞の周辺部やピット近傍にのみ管腔系がみられる場合もある。写真提供：内藤延子 (Hirose *et al.*, 2003)。

以上が塩類細胞に共通な血管側（側底部）の構造であるが、環境水に接している頭頂部の構造は塩類細胞の種類によって大きく異なる。海水型塩類細胞の多くはアクセサリー細胞に取り囲まれて存在し、これらの細胞集合体は頭頂部にピットないしは Crypt とよばれるくぼみを形成し、外部に開口している。塩類細胞のピット部分に  $\text{Cl}^-$  の排出にかかわる CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) 等の輸送体（後述）が密に存在する。

ピットの内腔に向かって塩類細胞から少数の微絨毛がのびている場合があるが、これは表面積を広げ CFTR 等の輸送体を多数配置するためのしくみと考えられる。微絨毛という吸収効率を上げるための構造とのみ考えられがちであるが、脳脊髄液をつくり脳室内に送り込んでいる脈絡叢の上皮細胞の頭頂部には多数の微絨毛が生え、分泌効率を上げている。ピットの役割ははっきりしないが、 $\text{Cl}^-$  のカウンターイオンである  $\text{Na}^+$  の排出を助けるための構造である可能性が高い。すなわち、ピット内に  $\text{Cl}^-$  が排出されると電気的中性を保つためにそれに見合った量の  $\text{Na}^+$  が細胞間隙ルートで外に引き出されやすくなると考えられる。塩類細胞とアクセサリー細胞の間の結合はルーズで  $\text{Na}^+$  の通り道になっていると考えられているが、間隙のいずれもがピット内に開口してい

ることもこの推論を支持する。Sakamoto and Ando (2002) はトビハゼを用いて、海水と淡水の間の移行によって  $\text{Ca}^{2+}$  依存的にピットが開閉するという興味深い現象を見出している。

淡水型塩類細胞の多くは単独で存在し、頭頂部に比較的多くの微絨毛を有する。塩 ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) の吸収が主要な任務と考えられるがメカニズムは不明である。 $\text{Ca}^{2+}$  の吸収も塩類細胞の重要な仕事であるが (McCormick *et al.*, 1992), 同じ淡水型塩類細胞がすべてのイオンを取り込んでいるのか、 $\text{Ca}^{2+}$  の吸収に特化した塩類細胞が別にあるのかははっきりしない (Lin and Hwang, 2001)。輸送体やチャネルのクロニングと局在部位の決定が待たれる。

### 3. ホルモン系による制御と可塑性

魚類の浸透圧調節にはたす種々のホルモンの役割が調べられ、海水適応には成長ホルモンが重要で、淡水適応にはプロラクチンが不可欠であることが明らかにされている。海に下るサケ等では、成長ホルモンによって塩類細胞の増加や  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase 活性の向上が起こり、海水適応の準備が進む。脳下垂体から分泌された成長ホルモンはまず肝臓、鰓、腎臓等に作用し、インスリン様成長因子 (IGF-I) の産生を亢進させ、その作用を介して間接的に塩類細胞の分化・増殖を制御している可能性が高い (Moriyama *et al.*, 2000; Sakamoto and Hirano, 1993)。コルチゾルも海水適応を助けるホルモンとして知られる。脳下垂体を切除した海水キリフィッシュにコルチゾルを投与すると  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase 活性の向上がみられる。グルココルチコイド受容体が塩類細胞に局在することも示されている。脳下垂体を切除したキリフィッシュは淡水中で生存できなくなるが、プロラクチンにより淡水適応能が回復する (Pickford and Phillips, 1959)。

これらの事実は、塩類細胞の分化・増殖がホルモン系の制御下にあることを物語っているが、ホルモン系とは別に塩類細胞自身が浸透圧のセンシングと応答システムを有することが示されている。金子らは広塩性魚テイラピアの卵黄嚢を巾着状に切り離し、淡水ないしは海水につけることにより、ホルモン系や神経系の作用を受けない条件下で塩類細胞の分化を調べる実験系を確立した (Shirashi *et al.*, 2001)。その応用により、塩類細胞はそれ自身で外界の浸透圧に応答し淡水型や海水型に変化する可塑性を有することを明らかにした。あらかじめプログラムされた生活環境にもとづく降海や淡水移行の場合は成長ホルモ



ンやコルチゾルないしはプロラクチン等のホルモンにより前もって準備をしておき移行をスムーズにするとともに、突然の外界の変化に備えるために塩類細胞自身も独自に変化するしくみを有するのは理にかなっている。卵黄嚢上皮の塩類細胞も海水中ではアクセサリー細胞と細胞複合体を形成している。このことは塩の排出機構（後述）を考えるうえで興味深い。また海水から淡水への移行にとまない、塩類細胞でイオン輸送体の劇的な再配置が起こることも観察されている（Marshall *et al.*, 2002）。

#### 4. 塩類細胞の分化増殖機構

塩類細胞で多量に発現する遺伝子とその転写調節因子が同定できれば、塩類細胞の分化誘導機構の解明につながる。Cutler and Cramb (2001) は、塩類細胞のワーカーの1つである  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase のサブタイアのクローニングをウナギを用いて精力的に行ったが、塩類細胞特異的に発現しているサブタイアを同定するにいたっていない。網羅的な解析にはゲノムが読まれているモデル動物が最適であり、フグやゼブラフィッシュやメダカが候補となる。なかでも稚魚を用いた *in situ* ハイブリダイゼーションと遺伝学的解析が可能なゼブラフィッシュは魅力的な材料であり、近年ゼブラフィッシュを用いて塩類細胞や鰓の分化機構の解明を目指す研究が盛んになりつつある。ゼブラフィッシュでは  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase の  $\alpha$ -サブユニットだけでも9種類存在する（図3）。これら

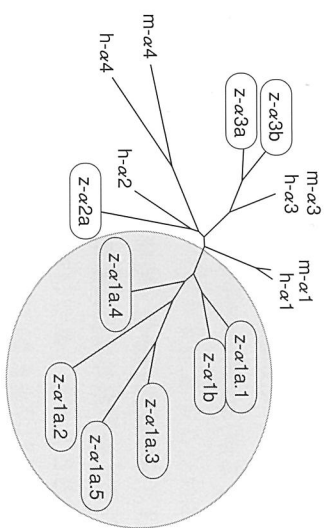


図3  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase の分子系統樹  
ゼブラフィッシュのゲノム情報にもとづき、9種類の  $\alpha$ -サブユニットを同定し、相互関係を Clustal W によって図示した（図の提供：江壽正浩）。魚類に特徴的なサブユニットがみられ興味深い（楯円で囲んだ部分）。発現部位に関しては、Web サイトの ZFIN (<http://www.zfin.org>) を参照のこと。h: human, m: mouse, z: zebrafish.

のうちのどのサブタイアが塩類細胞で発現しているかがわかれば、その遺伝子のプロモータを利用して塩類細胞を Green fluorescent protein (GFP) 等で標識したゼブラフィッシュをつくり、塩類細胞の分化機構を解析することが可能になる。そうすれば上記ホルモンによる制御との関連で分子レベルでの理解が進むものと期待される。また、浸透圧調節機構の解明には広塩性のメダカが有用になる（ゼブラフィッシュは海水中では生きられないが、メダカの多くは淡水と海水の両方に適応できる）。

#### 5. 塩類細胞の分子論

##### 5.1 海水型塩類細胞による NaCl 排出の分子機構

体液よりも3倍近く浸透圧が高い海水中では、体内の水分が失われる。これを補うために海水魚は海水を飲み、そこに含まれる多量の塩（NaCl）を捨てることにより結果的に水を飲んだのと同じ状態にするという海水適応戦略をとっている。この仕事（塩排出）をしているのが鰓の海水型塩類細胞である。似たような仕事をする組織として海鳥やウミガメの塩類腺 salt gland や軟骨魚類の直腸腺 rectal gland があり、それらの上皮細胞を用いた分子生物学的な研究の進展と相まって、図4に示すような分子メカニズムが提唱されている。

$\text{Cl}^-$  は塩類細胞経由で分泌され、 $\text{Na}^+$  はアクセサリー細胞と塩類細胞の間の間隙経由で排出されと考えられている。 $\text{Cl}^-$  は、まず塩類細胞の側底部に局在する  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$  共輸送体によって細胞内に取り込まれる。このときの駆動力は  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase によって供給される。すなわち  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase によってつくられた  $\text{Na}^+$  の濃度勾配によって  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$  共輸送体が駆動される。この系の連続運転のためには、細胞内に貯まる  $\text{K}^+$  をリサイクルする必要がある。Suzuki *et al.* (1999) は、海水ウナギと淡水ウナギの鰓のサブトラクション・クロニンジにより、このための  $\text{K}^+$  チャネルを同定し、海水条件下で塩類細胞の側底部に強く発現が誘導されることを示した。細胞内に入った  $\text{Cl}^-$  は、ついで頭頂部の CFTR 経由で外界に通じるポット内に排出される。CFTR は ABC トランスポーター・ファミリーの一員で、模式図5に示すように膜12回貫通型の輸送体で細胞内領域に2カ所 ATP-binding cassette (ABC) とよばれる ATP 結合ドメインを有する。

サメやエイなどの軟骨魚では、体液中に、約200 mM の NaCl に加え、多量の尿素とトリメチルアミノオキサイドが含まれ、海水よりも少し高めの浸透圧

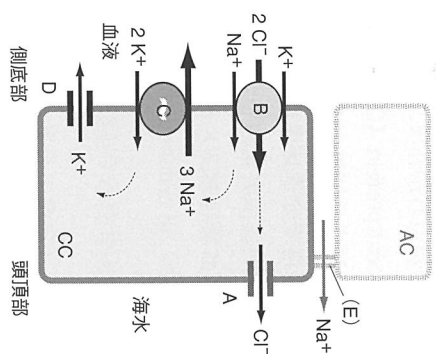


図4 海水型塩類細胞の働き

Cl<sup>-</sup>の排出に関与する輸送体が示されている。これらの分子群のほかに、少なくともウナギでは、尿素輸送体が備わっており尿素の排出も行っている。A: CFTR Cl<sup>-</sup> channel, B: Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/2Cl<sup>-</sup> cotransporter, C: Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, D: K<sup>+</sup> channel, E: tight junction, AC: accessory cell, CC: chloride cell.

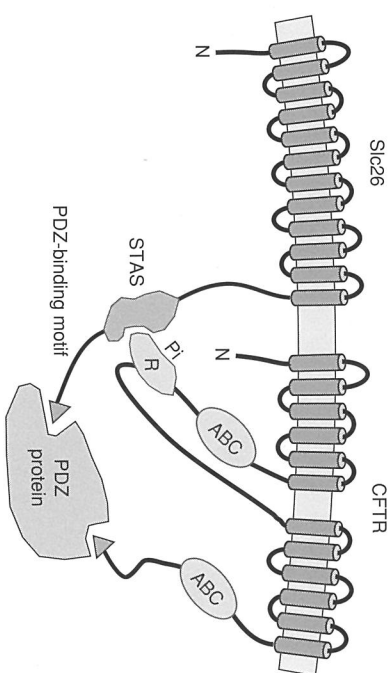


図5 輸送メタポールの例

輸送体の多くはタンパク質相互作用にかかわるドメインや配列を有し、複合体をつくって効率よく機能している。図の例では、Slc26ファミリーに属するCl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>交換輸送体がSTASドメインとCFTRのRドメインがリン酸化に依りて相互作用し、活性が増強される様子を示している。両者はC末端の短いPDZ結合モチーフを介してPDZタンパク質とも相互作用している。この輸送メタポールの重畳酸イオンの分泌に重要な働きを担っている (Gray, 2004)。ABC: ATP-binding cassette, CFTR: cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, PDZ: a motif first found in PSD-95/Dlg/ZO-1 proteins, Pi: リン酸残基, R: regulatory domain, Slc: solute carrier family, STAS: sulfate transporter and antisigma factor antagonist.

となっている。したがって軟骨魚の場合は、硬骨魚のような脱水の心配はないが、海水中のNaCl濃度が500 mM近くもあるため、NaCl排出に特化した直腸腺を備えている。単純に考えると軟骨魚には直腸腺があるので塩類細胞は不要のように思えるが、実際には軟骨魚の鰓にも多数の塩類細胞が存在する。塩類細胞は塩の排出以外にもpHの調節等の機能をもちになっており、直腸腺の上皮細胞では代償しきれないためであろう。では塩類細胞にNaClの排出を任せないでわざわざ直腸腺を発達させた理由は何であろうか。軟骨魚の塩類細胞では管状系があまり発達していない。NaClの効率的な排出のために必要な管状系やルーズな細胞間隙は尿素の漏出を起しやすく避ける必要があったと考えられる。この制約を克服するために登場したのが直腸腺ではなからうか、別の解釈では、塩類細胞は生物の進化の過程ではもとも別の仕事の本務であったが、硬骨魚になってからは塩の分泌が主要な任務になり、それにともない直腸腺が不要になった可能性もある。今後集積が進むであろうゲノム情報等にもとづく分子進化学的アプローチにより解答が得られるものと期待される。

## 5.2 淡水型塩類細胞によるイオン取り込み機構

鰓からのイオン (Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup>) の取り込みは淡水魚の生存基盤となっているだけに古くから注目され、生理学的な解析がなされてきた。現在、図6のようなモデルが提唱されているが、候補分子がクローニングされていなかったり、あるいはその局在部位が確定していなかったりで、分子機構を説明するにいたっていない。特に、Na<sup>+</sup>に関しては当初Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger (NHE) で説明されていたが、淡水中に微量しか存在しないNa<sup>+</sup>を濃度勾配に逆らって取り込むには駆動力がたりないのではないかと考えた方が主流となり、NHE説に代わって、ENaC/V-ATPase説が有力となった。ENaC (epithelial Na<sup>+</sup> channel) は哺乳類の腸などでNa<sup>+</sup>の吸収にかかわっていることが明らかになっている。V-ATPaseはH<sup>+</sup>汲み出しポンプとして働くゆえ、ENaC/V-ATPase説もH<sup>+</sup>と交換にNa<sup>+</sup>を取り込む点では結果的にNHE説と同じであるが、ATPによるエネルギー供給がある点で駆動力的に優れている。しかしながら、魚類の鰓からENaCをクローニングする試みは成功しておらず、EST (expressed sequence tag) データベース上にもそれらしき配列がみつからない。しかもV-ATPaseが塩類細胞とは別の細胞に発現していることを示唆する結果や、同じ塩類細胞でも頭頂部ではなく側底部にV-ATPaseが局在するこ

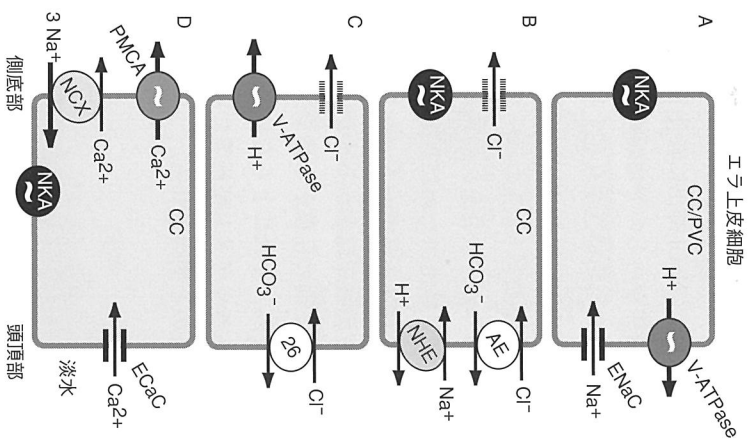


図6 淡水型塩類細胞の働きを説明するためのモデル  
 $\text{Na}^+$  (A, B) と  $\text{Cl}^-$  (B, C) および  $\text{Ca}^{2+}$  (D) の取り込みを説明するための模式。いかは決着していない。またこれらのイオンが同じ細胞によって取り込まれているのか、それとも別々なのか不明である。AE: anion exchanger, CC: chloride cell, ECaC: epithelial  $\text{Ca}^{2+}$  channel, ENaC: epithelial  $\text{Na}^+$  channel, NCA:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  exchanger, NHE:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$  exchanger, NKA:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase, PMCA: plasma membrane  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase, PVC: pavement cell, 26: SLC26 family member (図5)。～印はATPによって駆動されることを示す。

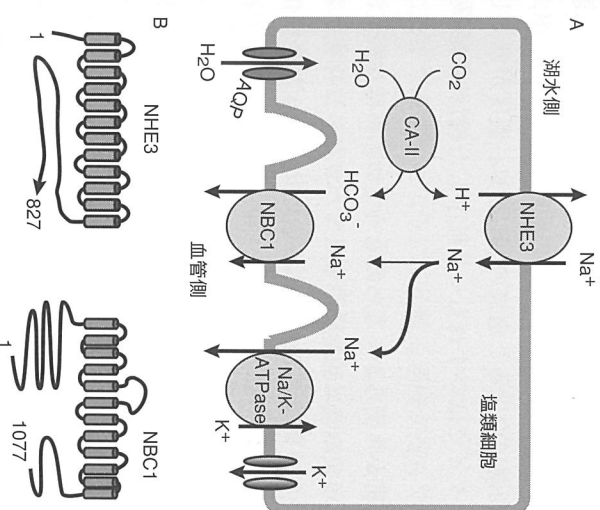
とを示すデータが得られ、混雑としているのが現状である。Hirata *et al.* (2003) は次に述べる恐山ウグイの解析から、NHE説が再考に値することを強く示唆した。

### 5.3 塩類細胞と酸-塩基調節

哺乳類では酸塩基調節は主として腎臓で行われ、体液のpHが中性に保たれているが、魚類では鰓が酸塩基調節の中心になっていることが知られている。この調節系の解析にうってつけの魚(恐山ウグイ)が本州北端の下北半島にある宇曽利湖(pH 3.5)に棲んでいる。恐山ウグイは中性にも酸性にも適応できる。酸性下では塩類細胞が増え濾胞を形成することから、鰓のなかでも塩類細胞が中心的作用をはたしていることが示唆されている(Kaneko *et al.*, 1999)。広瀬らは金子らのグループと共同で、酸性下で発現が著しく増強する

図7

恐山ウグイの酸性適応機構



(A) 図に示す輸送体は、酸性下で強く誘導されてくることが、酸性と中性ウグイの鰓を用いたサフトラクトシン・クローニンゲン等により明らかにされた(Hirata *et al.*, 2003)。さらに局在部位も抗体染色により決定された。湖水(pH 3.5)に面した頭頂部で、NHE3が $\text{H}^+$ を外に出し、代わりに $\text{Na}^+$ を取り込むことにより、体液の酸性化を防ぐと同時に $\text{Na}^+$ 濃度を適正に維持することができ、問題は駆動力で、湖水と体液の間には4桁近い $\text{H}^+$ の濃度差があり、その濃度勾配に逆らって $\text{H}^+$ を汲み出すのは容易ではない。しかし、塩類細胞のなかで局所的に $\text{H}^+$ を生成させNHE3に供給できれば、湖水中の $\text{H}^+$ 濃度が高くて $\text{H}^+$ を排出することは可能になる。そこで $\text{H}^+$ の生成にかかわる酵素Carbonic anhydrase (CA-II) についても調べてみたところ、これも酸性下の塩類細胞で著しく増えることが明らかにされた。もう1つ、巧妙な関係プレーがなされている。NHE3とは反対の血管側に位置する $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPaseの働きにより、細胞内の $\text{Na}^+$ 濃度が低くなり、 $\text{Na}^+$ が流入しやすい状況を作り出されているのである。さらに注目すべきは、 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPaseの働きを電荷にのみ着目してみると、点である。このことは陰イオンが発で外に押し出されやすくなることを意味し、CA-IIの作用によって生じた重炭酸イオン $\text{HCO}_3^-$ は、 $\text{Na}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ 共輸送体(NBC1)によって血液側に排出され、中和剤として働く。(B) NHE3とNBC1の構造の概要。膜貫通部分は筒状に表わしてある。数字はアミノ酸残基数でC末端の三角印はPDZ結合モチーフを示す(図5参照)。

遺伝子を同定し、それらの産物(タンパク質)の局在部位を免疫組織化学的に決定することにより、図7のような塩類細胞を中心とする酸性適応機構を提唱した(Hirata *et al.*, 2003)。塩類細胞の頭頂部にあるNHE3が要となっており、駆動力は $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPaseとCarbonic anhydrase-II (CA-II)によって供給され

る。この系では、 $H^+$ の排出と交換に $Na^+$ を取り込むことができるので、酸性の淡水下で生きていくためには一石二鳥の戦略といえる。実際、通常の淡水魚をpH 3.5の宇曽利湖につけると血液のpHと $Na^+$ 濃度が低下し死んでしまうのに対し、恐山ウグイではいずれも一旦低下した後、ほぼ元のレベルに回復し生存し続ける。

恐山ウグイの解析から明らかになったもう1つの興味深い点は、中性に適応させたウグイでは塩類細胞は濾胞を形成せずバラバラに存在するが、この場合でも頭頂部に低レベルではあるが抗体染色ではっきりと可視化できるだけのNHE3が発現していることである。淡水での $Na^+$ の吸収にNHE3がかかわっていることを強く示唆する。さらに最近、Choe *et al.* (2005)のグループは海水と淡水の間を往き来できる軟骨魚アカエイ *stingray* を用いて、海水から淡水への移行によって (i) 塩類細胞が増えると同時に局在部位がフィラメント上から2次鰓弁上へ変わる、(ii) 塩類細胞の頭頂部にはNHE3が発現しており、淡水移行によってその量が増える、(iii) NHE3と $Na^+, K^+$ -ATPaseは同じ細胞 (塩類細胞) に高レベルに発現するが、これらの細胞はV-ATPaseに富む細胞とは重ならないことを明らかにした (しかもV-ATPaseは頭頂膜には存在しない)。これらの事実は、NHE3が淡水中で $Na^+, K^+$ -ATPaseを駆動力源として、 $Na^+$ を取り込む仕事をしているとするNHE説を強く支持する。

#### 5.4 輸送メタボロンのtransport metabolism

塩類細胞中のイオン輸送体は単独で働いているのではなく、他のタンパク質や輸送体と複合体をつくり効率よくイオン輸送を行っている。たとえば、赤血球膜では $Cl^-/HCO_3^-$ 交換輸送体 (AE1) とCA-IIが結合して存在し、CA-IIによって生成される $HCO_3^-$ をAE1が効率よく輸送できるようになっている (McMurtrie *et al.*, 2004)。これらの複合体は、一連の代謝反応をなう酵素複合体をメタボロンとよぶことにちなんで、輸送メタボロンとよばれる。AE1-CA-IIのほか、NHE-CA-IV, CFTR-Slc26 など多くの輸送メタボロンが報告され、それらの結合にかかわる特徴的なドメインも同定されている (図5: Gray, 2004)。塩類細胞に多量に発現している輸送体も同様な輸送メタボロンを形成していると推定され、輸送メタボロンの研究に格好の材料になると思われる。各種輸送体をSolute carrier family (Slc: ヒトの場合SLC, Hediger *et al.*, 2004) の一員として番号をつけて整理する方式が普及しつつあるので、従来の

慣用名との対応はTransport Classification Database (<http://tcdb.ucsd.edu/>)等を参照されたい。

#### 5.5 塩類細胞の多機能性

塩類細胞はこれまでみてきたように、比較的理解が進んでいる海水型、分子レベルでの解析が待たれる淡水型、恐山ウグイにみられる酸性型など形態や機能および局在部位や存在様式などの点で多様性に富む。アフリカのケニアにあるアルカリ性のマガディ湖 (pH 10, 580 mOsm) に棲むティラピア *Alcolapia grahami* には、海水型に似たアルカリ型塩類細胞があるのではないかと思われる。これらの塩類細胞はそれぞれ特有の機能をなうために分化したものであるが、多機能性である点も注目値する。たとえば、海水型塩類細胞の主要な機能はNaClの排出であるが、以下に述べるように尿素の排出にも一役買っている。

魚類の多くは、窒素代謝の最終産物をアンモニアの形で鰓から環境水中に捨てている。哺乳類のように有毒なアンモニアを尿素に変えて無毒化する必要がないのでコスト面で優れた方法である。しかしプリン塩基の代謝によって尿素も無視できない量できるので、その排出手段も必要である。多量の尿を排泄する淡水魚の場合は、尿素もそれと一緒に排出できるのでさほど問題にならないが、水分保持の観点から微量の尿しか排泄できない海水魚の場合は、なんらかの手立てが必要になる。Mistry *et al.* (2005)は、サフトラクシヨシ・クローニングとフグゲノム情報を活用して、広塩性のウナギから2種類の尿素輸送体をクローニングし、そのうちの1つは海水ウナギの腎臓の近位尿管に発現し、糸球体濾過液から尿素を再吸収し、血液を介して鰓に送り、もう1つは塩類細胞の側底膜 (血管側) に存在し、尿素を外界に排出する働きをしていることを明らかにした。魚類ではアンモニアや尿素などの窒素代謝物は鰓から排出されることが生理学的測定によって明らかになっているが、これらの結果とよく一致する。海水中では、糸球体濾過液中の水分の大部分は再吸収され、わずかの尿しか排出されない。この水分再吸収にともない尿素の濃度が相対的に高まり、浸透圧の関係で一定レベル以上の水分の吸収がしにくくなる難点を克服するために、尿素を吸収し鰓に送って排出するという方式を発達させたものと考えられる。

淡水型塩類細胞は $Ca^{2+}$ の取り込みも行っている可能性が高いが、同じ塩



類細胞が一価イオン ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) と  $\text{Ca}^{2+}$  の両方を取り込んでいたのか, Lin and Hwang (2001) が提唱するように  $\text{Ca}^{2+}$  の取り込みに特化した塩類細胞が別に存在するのかは,  $\text{Ca}^{2+}$  の輸送にかかわると推定される頭頂部の ECaC と側底部の PMCA (plasma membrane  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase) のクローニングと局在部位の同定を待たなければならない。

## 6. 鰓の塩類細胞と腎の尿管細胞との連携

淡水から必要なイオンを濃度勾配に逆らって取り込むのはエネルギー的に大変である。しかも淡水中では, 受動的に体内に流入する水分を除去するために大量の尿を放出しなければならない。尿と一緒に排出されるイオンを極力少なくするために, 尿管細胞には再吸収のためのイオン輸送体が配置されている。竹井らのグループは, 海水テトラピアには発現していない  $\text{Cl}^-$  輸送体 OmCIC-K が淡水テトラピアでは遠位尿管細胞の側底膜に多量に発現していることを明らかにした (Miyazaki *et al.*, 2002)。腎臓での再吸収効率を高め鰓の塩類細胞の負担を軽くする戦略と考えられる。

$\text{Cl}^-$  の鰓からの取り込みがいくつかの淡水魚と広塩性魚類で測定されているが, ウナギの場合ほかの魚にくらべて異常なまでに  $\text{Cl}^-$  の取り込み量が少なく, どのようにして淡水中で体液のイオン組成を保っているのかは大きな謎とされてきた (Kirsch, 1972; Grosell *et al.*, 2000)。自然界では餌に含まれる塩分がまかなっているとも考えられるが, 餌を食べない実験室条件下でも比較的長く生きることと考えると何か特別なしくみを備えているようである。Nakata *et al.* (2005) は 2 種類の硫酸イオン輸送体 ( $\text{NaSi-1}$ ,  $\text{Sat-1}$ ) をウナギの腎臓からクローニングし, それらの局在部位と発現調節を調べた際に, 両輸送体は腎の近位尿管細胞の頭頂部と側底部に局在し, 淡水中では多量に発現しているがウナギを海水に移すとすみやかに消失することを見出した。当初は, 海水中には硫酸イオンが 20 mM 近く含まれるので再吸収する必要がなく, 淡水中では再吸収によってプロテオグリカン等の細胞外マトリックスタンパク質の合成に必要な硫酸イオンを確保しているものと解釈していたが, 淡水ウナギの血中の硫酸イオン濃度を念のために測定して驚いた。なんと海水ウナギの 20 倍近い 40 mM もあったのである。淡水ウナギでは硫酸イオンがかなりの割合で体液浸透圧の維持に寄与しており ( $[\text{Cl}^-] : [\text{SO}_4^{2-}] = 2 : 1$ ), その分  $\text{Cl}^-$  を鰓から吸収する必要がなくなること物語っている。ウナギに関する上記の謎が解け

るとともに, エネルギーコストからみて優れた淡水適応機構であり, 海で生まれたウナギの稚魚がわざわざ河川に上って成長するわけも納得できる。種々の水環境に適応するために塩類細胞の機能を極限まで高めるとともに, 塩類細胞の負荷を減らして生存競争を有利にするシステムの導入を図るなど, 生物の進化や適応戦略には目を見張るものが多い。

## 文献

- Bartels, H. and I. C. Potter (2004) Cellular composition and ultrastructure of the gill epithelium of larval and adult lampreys: implications for osmoregulation in fresh and seawater. *Journal of Experimental Biology* 207: 3447-3462.
- Choe, K. P., A. Kato, S. Hirose, J. B. Claiborne and D. H. Evans (2005) NHE3 in an ancestral vertebrate: primary sequence, distribution, localization, and function in gills. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, submitted.
- Cutler, C. P. and G. Cramb (2001) Molecular physiology of osmoregulation in eels and other teleosts: the role of transporter isoforms and gene duplication. *Comparative Biochemistry and Physiology* 130A: 551-564.
- Evans, D. H., P. M. Piermarini and K. P. Choe (2005) The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Review* 85: 97-177.
- Gray, M. A. (2004) Bicarbonate secretion: it takes two to tango. *Nature Cell Biology* 6: 292-294.
- Grosell M., C. Hogstrand, C. M. Wood and H. J. Hansen (2000) A nose-to-nose comparison of the physiological effects of exposure to ionic silver versus silver chloride in the European eel (*Anguilla anguilla*) and the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* 48: 327-342.
- Hediger, M. A., M. F. Romero, J. B. Peng, A. Rolfs, H. Takamaga and E. A. Bruford (2004) The ABCs of solute carriers: physiological, pathological and therapeutic implications of human membrane transport proteins Introduction. *Physiological Reviews* 44: 465-468.
- Hirata, T., T. Kaneko, T. Ono, T. Nakazato, N. Furukawa, S. Hasegawa, S. Wakabayashi, M. Shigekawa, M. H. Chang, M. Romero and S. Hirose (2003) Mechanism of acid adaptation of a fish living in a pH 3.5 lake. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 284: R1199-R1212.
- Hirose, S., T. Kaneko, N. Naito and Y. Takei (2003) Molecular biology of major components of chloride cells. *Comparative Biochemistry and Physiology* [B] 136: 593-620.
- Kamiya, M. and S. Uchida (1968) Changes in activity of sodium-potassium-activated adenosinetriphosphatase in gills during adaptation of the Japanese eel to sea water. *Comparative Biochemistry and Physiology* 26: 675-685.
- Kaneko, T., S. Hasegawa, K. Uchida, T. Ogasawara, A. Oyagi and T. Hirano (1999) Acid

- tolerance of Japanese dace (a cyprinid teleost) in Lake Osorezan, a remarkable acid lake. *Zoological Science* 16: 871-877.
- Keys, A. B. and E. N. Willmer (1932) "Chloride secreting cells" in the gills of fishes, with special reference to the common eel. *Journal of Physiology* 76: 368-378.
- Kirsch, R. (1972) Kinetics of peripheral exchanges of water and electrolytes in the silver eel (*Anguilla anguilla*) in fresh water and in sea water. *Journal of Experimental Biology* 57: 489-512.
- Lin, L. Y. and P. P. Hwang (2001) Modification of morphology and function of integument mitochondria-rich cells in tilapia larvae (*Oreochromis mossambicus*) acclimated to ambient chloride levels. *Physiological and Biochemical Zoology* 74: 469-476.
- Marshall, W. S., E. M. Lynch and R. R. Cozzi (2002) Redistribution of immunofluorescence of CFTR anion channel and NKCC cotransporter in chloride cells during adaptation of the killifish *Fundulus heteroclitus* to sea water. *Journal of Experimental Biology* 205: 1265-1273.
- McCorrick, S. D., S. Hasegawa and T. Hirano (1992) Calcium uptake in the skin of a freshwater teleost. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 89: 3635-3638.
- McMurtre, H. L., H. J. Cleary, B. V. Alvarez, F. B. Loisel, D. Sterling, P. E. Morgan, D. E. Johnson and J. R. Casey (2004) The bicarbonate transport metabolon. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 19: 231-236.
- Mistry, A. C., A. Kato, Y. H. Tran, S. Honda, T. Tsukada, Y. Takei and S. Hirose (2004) FHL5, a novel actin-binding protein, is highly expressed in eel gill pillar cells and responds to wall tension. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 287: R1141-R1154.
- Mistry, A. C., G. Chen, A. Kato, K. Nag, J. M. Sands and S. Hirose (2005) A novel type of urea transporter, UT-C, highly expressed in proximal tubule of seawater eel kidney. *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 288: F455-F465.
- Miyazaki, H., T. Kaneko, S. Uchida, S. Sasaki and Y. Takei (2002) Kidney-specific chloride channel, OmCIC-K, predominantly expressed in the diluting segment of freshwater-adapted tilapia kidney. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99: 15782-15787.
- Moriyama, S., F. G. Ayson and H. Kawachi (2000) Growth regulation by insulin-like growth factor-I in fish. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 64: 1553-1562.
- Nakada, T., K. Zandi-Nejad, Y. Kurita, H. Kudo, A. Mercado, D. B. Mount and S. Hirose (2005) Roles of Slc13a1 and Slc26a1 sulfate transporters of eel kidney in sulfate homeostasis and osmoregulation in freshwater. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, in press.
- Perry, S. F., A. Shahsavarani, T. Georgalis, M. Bayaa, M. Furimsky and S. L. Thomas (2003) Channels, pumps, and exchangers in the gill and kidney of freshwater fishes: their role in ionic and acid-base regulation. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology* 300: 53-62.
- Pickford, G. E. and J. G. Phillips (1959) Prolactin, a factor in promoting survival of hypophysectomized killifish in fresh water. *Science* 130: 454-455.
- Reid, S. D., G. S. Hawkins, F. Galvez and G. Goss (2003) Localization and characterization of phenamil-sensitive  $\text{Na}^+$  influx in isolated rainbow trout gill epithelial cells. *Journal of Experimental Biology* 206: 551-559.
- Sakamoto, T. and T. Hirano (1993) Expression of insulin-like growth factor I gene in osmoregulatory organs during seawater adaptation of the salmonid fish: possible mode of osmoregulatory action of growth hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 90: 1912-1916.
- Sakamoto, T., K. Uchida and S. Yokota (2001) Regulation of the ion-transporting mitochondrion-rich cell during adaptation of teleost fishes to different salinities. *Zoological Science* 18: 1163-1174.
- Sakamoto, T. and M. Ando (2002) Calcium ion triggers rapid morphological oscillation of chloride cells in the mudskipper, *Periophthalmus modestus*. *Journal of Comparative Physiology [B]* 172: 435-439.
- Shirai, N. (1972) Electron-microscope localization of sodium ions and adenosine triphosphatase in chloride cells of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Journal of the Faculty of Science, University of Tokyo, Section IV* 12: 385-403.
- Shiraishi, K., J. Hiroi, T. Kaneko, M. Matsuda, T. Hirano and T. Mori (2001) *In vitro* effects of environmental salinity and cortisol on chloride cell differentiation in embryos of Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*, measured using a newly developed yolk-ball incubation system. *Journal of Experimental Biology* 204: 1883-1888.
- Stenslokken, K. O., L. Sundin and G. E. Nilsson (1999) Cardiovascular and gill microcirculatory effects of endothelin-1 in atlantic cod: evidence for pillar cell contraction. *Journal of Experimental Biology* 202: 1151-1157.
- Suzuki, Y., M. Itakura, M. Kashiwagi, N. Nakamura, T. Matsuki, H. Sakuta, N. Naito, K. Takano, T. Fujita and S. Hirose (1999) Identification by differential display of a hypertonicity-inducible inward rectifier potassium channel highly expressed in chloride cells. *Journal of Biological Chemistry* 274: 11376-11382.
- Uchida, K., T. Kaneko, K. Yamauchi and T. Hirano (1996) Morphometrical analysis of chloride cell activity in the gill filaments and lamellae and changes in  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activity during seawater adaptation in chum salmon fry. *Journal of Experimental Zoology* 276: 193-200.
- Wong, C. K. and D. K. Chan (1999) Isolation of viable cell types from the gill epithelium of Japanese eel *Anguilla japonica*. *American Journal of Physiology* 276: R363-R372.

2

海洋生命系のダイナミクス

## 海洋生物の機能

生命は海にどう適応しているか 竹井祥郎 編



東海大学

東京大学海洋研究所／海洋生命系のダイナミクス②

# 海洋生物の機能

生命は海にどう適応しているか

竹井祥郎 編

東海大学出版会