

ノトセニア亜目魚類をとりまく環境と進化

大田竜也

総合研究大学院大学助教授生命体科学専攻

数奇な運命を経て、特殊なバイオ・システムを作りながら生きのびてきた、ノトセニア亜目の魚類。ときに0°C以下にまで下がる海水中で生き続けるためのメカニズムなどが分子レベルで研究される一方、種の保全といったマクロレベルの問題も持ち上がってきている。

南極海で生きるスズキ類ノトセニア亜目の硬骨魚類（以下、ノトセニアとする）は、その棲息環境の変化にともない、際だってユニークな進化を遂げ、ほかの生物にはみられないシステムを作り上げてきた。各国の研究者は、この特異的なメカニズムとその進化の過程を解明しようと、さまざまなアプローチで研究を行っている。

大陸移動により変化した環境

約2.5億年前の地球には、一つの巨大大陸、パンゲアがあった。その一部であっ

た Gondwana 大陸は、ジュラ紀に「アフリカ大陸－南アメリカ大陸」と「南極大陸－オーストラリア大陸－インド亜大陸」へと分裂し、新生代に入ると、南極大陸がオーストラリア大陸から離れた。このような大陸移動にともない、それぞれの大陸や海洋の環境条件は大きく変わることになった。南極の孤立化とともに生じた大陸を周回する周極流は、暖かな海流が大陸周辺へ流れ込むことを妨げ、比較的温暖だった南極大陸の気候を寒冷なものへと変えていった。そこでは、環境の変化に適応できなかった多くの生物

が消し去られ、適応し生きのびた生物の一部が、新しく開けた場に放散していった。

偶然の産物だった、ノトセニアの凍らないシステム

ノトセニアは、南極海という極寒の極限環境に適応した生物の一つである。浮き袋をもたず底生あるいは近底生であったと考えられている祖先種にとって、他の大陸の大陸棚から隔離された状況では、変わりつつある環境に適応するしか、生きのびる道がなかったのかもしれない。しかし、なぜ新しい環境で繁栄できたのであろうか？

その要因の一つは、ノトセニアの体液中に含まれる「耐凍結糖ペプチド (AFGP)」にあると考えられている。南極大陸近辺では、含まれる塩分などの効果により、海水の温度が-1.9°C近くになる。哺乳類などは、エネルギー消費により熱を発生して体温を維持することができるが、いわゆる変温動物では、そうはいかない。ノトセニアのような魚類では、生体分子の合成機械としてはたらく酵素や細胞を構築するタンパク質が、低温でも機能するように進化することが、生きのびる条件の一つとなった。さらに、酸素や栄養などの分子が体のすみずみにまで行きわたるよう、血液などが凍結しないための循環器系の改変も必須であった。そのなかでノトセニアは、偶然にも AFGP という分子を獲得し、それを利用して体液が

凍らないようにするシステムを備えた。

AFGPのような耐凍結タンパク質や耐凍結ペプチドは、極限環境に生息する数多くの生物で独立に進化してきている。ノトセニアの AFGP の起源については、イリノイ大学のド・フリーズ教授とチェン准教授のグループが、次のような進化過程を明らかにした。

ノトセニアでは、トリプシノーゲン様プロテアーゼ (TLP) という酵素の遺伝子が重複され、同じ基本構造をもつ遺伝子が二つ（あるいはそれ以上）生じた。一つは本来の機能をもち続ける一方、他のものは、もともとあった9個の塩基で構成されるオリゴヌクレオチド*1を複数回重複させることにより、特定のアミノ酸の反復配列 (Ala-Ala-Thr) からなるペプチドの基本構造を獲得した（これは「AFGP-TLP キメラ遺伝子」とよばれ、実際に、このような構造をもった遺伝子が存在する）。

AFGP-TLP キメラ遺伝子は、その後、TLP に由来する配列の大部分を失い、最終的に現在の AFGP 遺伝子が完成した。残った TLP 遺伝子由来の塩基配列は「遺伝子が発現するための装置」として利用された。このためか、AFGP はすい臓で作られた後、腸に分泌され、腸内で「氷の核」が発達するのを妨げる。同時に、腸壁の血管から体内へ再吸収されることで、血液などにより全身に行きわたる。

オリゴヌクレオチド重複は進化の原動力

AFGP の進化で重要な役割を果たしたオリゴヌクレオチドの重複は、抗体を作り出す遺伝子（免疫グロブリン遺伝子）でもみられる。あるノトセニアの種の免疫グロブリン遺伝子（膜型免疫グロブリン遺伝子）では、アミノ酸の情報を担う DNA 断片（エクソン）の利用方法（スプライシングのパターン）に変化がみられ、そのためにはほかの硬骨魚類よりも免疫グロブリンタンパク質の構成単位（ドメイン）が一つ少ない。しかし、短くなった部分を埋め合わせるかのように、その部分がオリゴヌクレオチドの重複で長くなっている。

また、あるノトセニアの種の別の免疫グロブリン（分泌型免疫グロブリン）には、



図1 Gondwana大陸の分裂後、中緯度地方にあった南極大陸は、南に移動して、2500～3500万年前に他の大陸から孤立した。

特殊な構造（ヒンジ様構造）が存在するが、この部分でもオリゴヌクレオチドが重複していることがわかっている。ヒンジ様構造は免疫グロブリンの柔軟性を増すといわれており、ノトセニアのヒンジ様構造も、低温下で柔軟性を上げるのに役立つのではないかとされている。ただし、ヒンジ様構造は細菌などもつタンパク質分解酵素の標的となる可能性が高い。そのため、病原菌との攻防において、その構造を急速に変化させることが免疫上有利であると考えられ、オリゴヌクレオチドの重複による構造変化が役に立ったと思われる。

このように、ノトセニアにおけるオリゴヌクレオチドの重複は、進化の重要な原動力だったといえる。こうした進化がノトセニアゲノムの特性なのかどうかという点は興味深いですが、その検証には、さらなるデータが必要とされ、今後の研究に委ねられることになる。

コオリウオの白い血液

ノトセニアには、さらに驚くべきことがある。ノトセニアのコオリウオ科に属する魚では、血中に赤血球がほとんどみられず、またみられたとしても赤血球にヘモグロビンが含まれないのである（写真1）。こうした現象は、ヘモグロビン遺伝子を失った結果生じたものであることが、ノースイースタン大学のデトリック教授によって明らかにされている。なぜ、このような変化が生じたのか。「低温になることで血液の粘性が増し、赤血球を失うことで粘性を下げた」とも、「低

温になるにつれ液体中の酸素含有量が増え、赤血球を維持する必要がなくなった」とも考えられる。

環境やほかの生物との関係が変化する過程で、一部の機能がなくても生きていくことができるようになると、その機能に関わる遺伝子を突然変異によって失っても生物の適応度に影響することはない。こうした突然変異をもつ遺伝子は、「中立的に種内でたまたま広がって、集団全体で固定する」ことがある。では、コオリウオ科の祖先種でも、ヘモグロビン遺伝子が中立的に失われたのであろうか？ヘモグロビンをもたないコオリウオには、鱗がなく皮膚の下の毛細血管が密になったり、血液の流量が増すように循環器系の変化が生じたものもある。

こうしたことを考え合わせると、ヘモグロビン遺伝子の欠失が、中立的に生じたとは信じがたい。ヘモグロビン遺伝子の欠失が、進化上の適応変化であったのか、あるいは祖先集団が小さかったために「ヘモグロビンが作られないという異常な遺伝子」が集団へ広がってしまったのか。理由はいろいろ考えられるが、どれが正しいかを判断するには、集団遺伝学的な観点から進化を研究し、過去の集団の大きさなどを調べ、各説を検証していかなければならない。

ノトセニアの集団遺伝学

ヘモグロビンを失った要因を探るなど、ノトセニアの進化を明らかにするには、集団遺伝学的な観点から進化を研究することが大切である。ところが、ノト



写真1 ノトセニアの仲間、コオリウオ（鰓ぶたを除いている）。ヘモグロビンをもたないため、エラが真っ白にみえる。

ノトセニアの進化

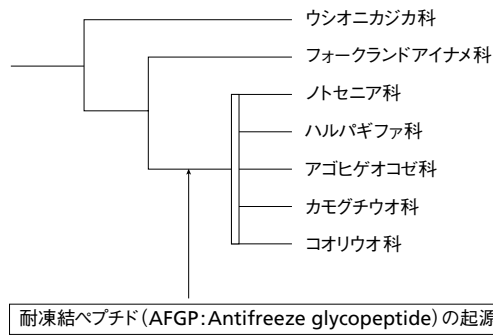


図2 ノトセニアの進化とAGFPの起源

ノトセニアは体液中に特殊なペプチド（耐凍結糖ペプチド:AGFP）をもつことにより、氷点下の海水中でも生存することができる。AGFPは、TLP遺伝子の重複と、「ACAGCGGCA」の配列からなるオリゴヌクレオチドの重複という偶発的なイベントが生じた結果もたらされたものであった。

セニアの集団遺伝学的な研究は、限られた種において、一部のミトコンドリア遺伝子やマイクロサテライト^{*2}の解析が行われているだけであった。

一般に、分子進化学的あるいは集団遺伝学的に生物の過去を探るには、異なる進化様式を示す遺伝子を解析することが役に立つ。たとえば、主要組織適合遺伝子複合体（MHC）^{*3}の解析は、ヒトの進化について重要な知見をもたらしている。われわれもノトセニアの進化を明らかにするためにMHCの解析を進めている。詳細は省くが、MHC遺伝子がノトセニアの進化を探るためにも役立つようなことがわかりつつある。しかし、MHC遺伝子座の数が個体によって異なり、塩基配列の情報を注意深くみないと集団遺伝学的な解析が困難だということもわかってきた。まずはノトセニアのMHC遺伝子の全体構造を明らかにすることが大切であり、現在、ゲノム・ライブラリーなどの遺伝資源を利用して研究を進めているところである。

問題は、ミクロからマクロへ

科学的な研究が進む一方で、ノトセニアは1960年代半ばから漁業の対象として

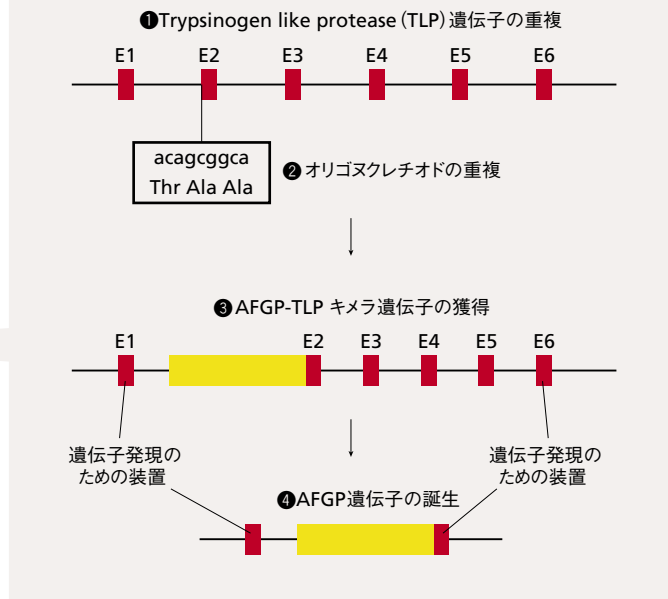
注目を浴び、1970～2000年にかけて、急激な漁獲量の増大、違法操業を含めた乱獲といったマクロレベルでの問題が生じている。ノトセニアの保全には、個々の種における集団構造や遺伝的な多様性を探りつつ、同時にクジラ、アザラシ、オットセイ、オキアミなどを含めた南極海の生態系、地球温暖化などの環境問題を総合して取り組んでいく必要がある。ただし、こうした取り組みには、各国の政治や経済を理解したうえでないと解決できない問題も含まれている。

同様の問題が、ノトセニアだけでなく、ほかの多くの生物にもみられる。今求められるのは、生物の進化や生命現象をしっかりと把握しながらも、生物をとりまく環境、特にヒトと自然の結びつきを理解し、より実質的な形で貢献できるような人材である。今後、私自身も、生物の過去・現在を調べるのみならず、その未来にまで貢献できるように成長できればと願っている。

*1 オリゴヌクレオチド

DNAの構成成分をヌクレオチドという。オリゴヌクレオチドは、数個から数十個のヌクレオチドが、結合し連なったもの。

AGFP遺伝子の起源



*2 マイクロサテライト

1～5塩基ほどの短い配列を反復単位とする反復配列をいう。遺伝子解析のマーカーとして利用される。

*3 主要組織適合遺伝子複合体（MHC）

免疫細胞であるT細胞に、病原体等の情報（抗原ペプチド）を提示するタンパク質。MHC遺伝子は同じ生物種内でも、きわめて多くの多型があることが知られている。



大田竜也（おおた・たつや）
中学生のときにショウジョウバエの遺伝実験を行って以来、遺伝的な視点で生物をとらえることに興味を持っている。個々の遺伝子の突然変異が、どのような表現型の変化をもたらすか、複雑なシステムを構築してきたのか？このような進化問題を、ノトセニアの適応などを例に、分子進化学の観点から解明することを目指している。

Part 2 新たな学問領域

基礎生物学から環境問題を探る

井口泰泉

総合研究大学院大学教授基礎生物学専攻／自然科学研究機構基礎生物学研究所教授

環境と分子レベルの生命現象とが結びつき、新たなコンセプトが生まれようとしている。そのなかで、微量でホルモン作用をかく乱する環境ホルモンの影響が遺伝子レベルで解明されつつある。

人間を含め、生物は水や酸素、光、温度など、環境から大きな恵みを受けている。ところが人間だけは、より豊かな生活を求めてさまざまな活動を行い、大規模な環境汚染を引き起こしてしまった。その影響は野生生物へも波及し、深刻な被害をもたらした。たとえば、アメリカの五大湖は1940年代からPCBの汚染で知られている。顕著になったのは1980年ごろで、湖周辺でPCBに汚染された魚を頻りに食べていた親から生まれた子どもに、知能低下の症状が見られた。PCBは壊れにくい絶縁体だが、神経系に発育阻

害をもたらす作用をもっていたのである。この事件を教訓に、湖の一つ、スペリオル湖近くのダルスにあるアメリカ環境保護庁の研究所では、五大湖の生物調査や水棲生物への化学物質の影響評価が行われるようになった。

水棲生物毒性学とはじめ

あるとき、私は、すでに退官した研究者、ロナルド・マウント（Donald I. Mount）博士の話を聞く機会を得た。博士自身の研究の歴史と環境問題を重ねた、以下のような話が印象的であった。

第二次世界大戦中の1940年代は、工場や家庭の排水を処理するという考えがなかった。アメリカでは1953年に、魚の大量死の通報システムが作られたが、水棲生物を対象とした毒性学はなかったという。そんななか、1963年にニューオーリンズのミシシッピ川で魚の大量死が起きた。原因は多量に散布され、工場からも大量にもれ出た農薬だった。

この事件を発端に、博士の研究人生と水棲生物毒性学が始まった。博士は、レイチェル・カーソンの『沈黙の春』に出てくる、「鳥が落ちる」ところを見たという。その後、1965年に「水質を守る法律」ができ、1970年代によく、生死を指標とした毒性学（水棲生物の飼育水にどのくらいの物質が入ると死ぬのかを検討する）が始まるようになった。博士はその後、前述のダルスの研究所の立ち上げに携わり、水棲生物への毒性影響を調べる方法論の確立に貢献された。

ホルモン作用を持つ化学物質と社会

環境に放出された物質には、人間や動物のホルモン受容体に結合して、ホルモンに似た作用を引き起こしたり、本来のホルモン作用を阻害するものも多くある。こうした物質は総称して「環境ホルモン（内分泌かく乱物質）」と呼ばれるが、女性ホルモンの受容体に結合することが疑われる物質だけでも2000種くらいあることがわかっている。

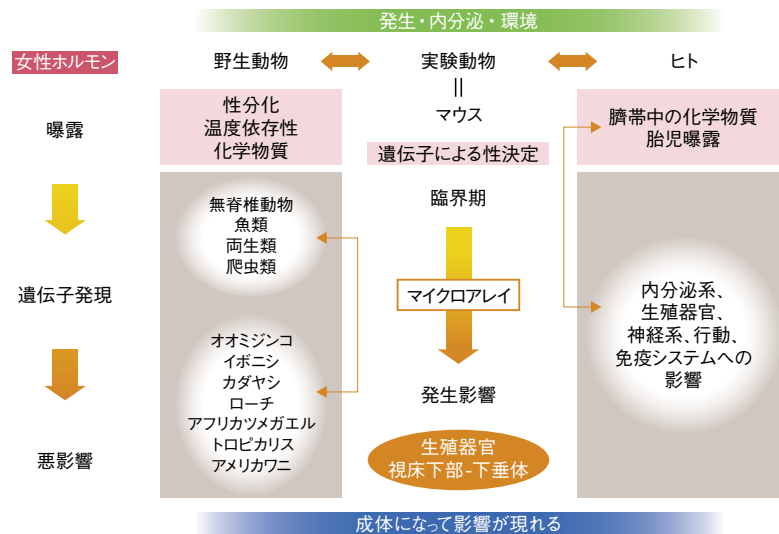


図1 環境中に放出されたさまざまな化学物質は、ヒトを含め、生物に予想外の悪影響を与えることがある。とくに、低濃度ながら、発生や分化の時期に女性ホルモンのように作用する物質が問題視されており、実験動物を用いた遺伝子発現解析などによって、その影響や作用メカニズムが検討されている。

この10年、環境ホルモンが人間や野生生物にどのような影響を与えるかということが、大きな問題にされてきた。人や野生生物に直接、悪影響を及ぼす物質は「化学物質の審査規制に関する法律」により、すでに規制されているのだが、弱い作用や低濃度の影響については検討されてこなかった。「直接死ぬことがなければ安全だ」と解釈されてきたわけだが、実は、それは正しくない。

たとえば、遺伝子組み換え作物の規制、狂牛病の恐れのある肉の輸入規制、輸入作物の残留農薬の規制といった取り組みは、より安全な生活の保障と、確率的には極めて低いながらも起こりうる事態の可能性をさらに下げることが目的としている。環境ホルモン問題もまた、同じ状況にある。

ヨーロッパ連合では、化学物質の安全性の試験を、製造者や輸出入を請け負う業者が責任を持って行うことを義務付けた「REACH (Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals)」という法律が作られ、施行も間近になっている。一方で、わずかにしろ何らかの問題が指摘される物質は、安全性が保障されるまで使用しないという「予防的原則」を適用することも一般化しつつある。環境問題には、作用メカニズムは科学的に解明されるべきだという側面と、その成果をいかに社会に還元すべきかという二つの側面がある。社会への還元という点では、実験を行う科学者よりも、法律学者や社会学者の意見が有効である場合が多い。

発生過程のいつ、どのように作用するのか？

ここで、私たちの研究について述べたい。私たちは、女性ホルモンやホルモン様の化学物質が、生物の発生過程のどの時期に、どのくらい作用しているかということと、そのときにどのような遺伝子が機能しているのかを検討している。これらは、1950年代に始まった私の恩師の世代の研究をルーツにしている。まず、妊娠中のマウスや生まれたばかりのマウスに女性ホルモンを与えると、雌ではやがて膣がんや子宮がんが発生することが



図2 実験に用いられている、さまざまな生物。それぞれの女性ホルモン受容体の遺伝子が解析されることにより、生物としての系統・進化や性分化のしくみなども明らかにされることが期待されている。

1960年代にわかった。その10年後には、1940年から70年代に、流産を防ぐために妊婦に処方された合成女性ホルモン(DES)が、低い頻度ながら、生まれた女兒に膣がんや子宮形成などの「DESシンδροーム」を引き起こしていたことも明らかになった。

現在、私たちは、胚から発生する過程にあるマウスに、特定のタイミング(臨界期)で女性ホルモンが作用すると、膣の細胞で女性ホルモン受容体が永久的にリン酸化され、細胞の増殖に関連する遺伝子(上皮成長因子関連遺伝子)のスイッチをオンにする指令が出続けることを明らかにしている。さらに、女性ホルモンがどのような遺伝子のスイッチを調節しているかという点についても、遺伝子のオンとオフのようす(遺伝子発現)を網羅的に解析できるマイクロアレイを用いて調べている。

環境ホルモンの疑いのある物質の多くは、女性ホルモン受容体に結合して、女性ホルモンのように作用してしまう。私たちは、野生動物の女性ホルモン受容体がヒトとマウスでどう異なるのかを明らかにするために、さまざまな動物の女性ホルモン受容体遺伝子を取り出し、女性ホルモン類似物質との作用メカニズムなども検討している。この研究は、女性ホルモン受容体遺伝子の塩基配列を基にしているため、生物としての系統や進化を

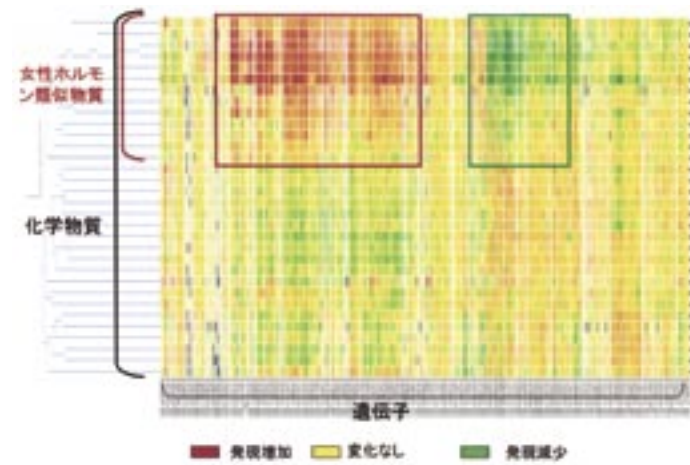
調べることもつながる。

さらに、各国の研究者とともに、さまざまな動物種の遺伝子ライブラリーを保存して共同利用する「Gene Zoo (遺伝子動物園)」も作りつつある。これまでに、爬虫類のアメリカワニ、ナイルワニ、カメなどの受容体遺伝子が鳥類に極めて近いことを突き止め、現在は、両生類のオオサンショウウオ、イモリ、数種のカエル、ローチ、カダヤシ、トゲウオ、雌雄同体のマングローブキリフィッシュについて、それぞれの女性ホルモン受容体の遺伝子を解析しているところである。また、巻貝のイボニシには女性ホルモンが結合する受容体がないことも明らかにし、脊椎動物の祖先であるナメクジウオ(脊索動物)に同様の受容体があるかどうかを解析中である。

性分化や病気と環境要因

環境ホルモンは動物の性比を乱すともいわれているが、実は、多くの動物では、雌雄を決める仕組みそのものがわかっていない。たとえば、アメリカワニでは生息温度の高さが、雄になるか、雌になるかを決定している(温度依存性性分化という)。卵を33°Cで育てると雄に、30°Cでは雌になるのである。ただし、このときに微量の女性ホルモンが卵に入ると、雄になる温度でも雌になることがわかっていて、オオミジンコについては、ふつつ

図3 トキシコゲノミクス、エコトキシコゲノミクスの例。どのような化学物質によって、どの遺伝子の発現に影響が及ぼされるのかが、マイクロアレイを用いて網羅的に解析できる。



は雌が雌を産む単為生殖で増えるが、ある物質が存在すると雄を産むようになることがわかり、私たちはその物質を特定することに成功した。現在は、これらの遺伝子を整理し、ワニの温度依存性性分化やミジンコの性分化に関わる遺伝子の解明に取り組んでいる。

これまで、病気の原因という病原体や遺伝子ばかりが取り上げられ、環境要

因が重大視されることはほとんどなかった。しかし、最近のさまざまな研究成果は環境要因も病気の要因として重要であることを示唆しており、その認識もようやく一般化しつつある。環境問題を分子生物学から探るため、私たちは新たに、化学物質の影響を遺伝子発現の強弱によって解析する手法(トキシコゲノミクス、エコトキシコゲノミクスなどと呼ばれる)を



井口泰泉(いぐち・たいせん) 学術用語だった「環境中にあるホルモン様物質」を一般にもわかりやすい「環境ホルモン」と訳し、早い時期に、その危険性を指摘したことでも知られる。河川に生息するオスのコイを調査し、精巣に多くの異常がみられることや、女性ホルモンの刺激がないと作られないタンパク質がみられることを明らかにし、社会に大きな反響を与えた。

立ち上げつつある。基礎生物学を応用することで、環境と生命現象との関わりを理解し、地球環境の保全や生物多様性の保存に貢献していくこと。それが私の研究目的であり、夢である。

マウスの赤ちゃんとの日々

中村武志

総合研究大学院大学基礎生物学専攻4年



基礎生物学研究所(以下、基生研)において、2000年に設立されたばかりの統合バイオサイエンスセンターは、外から見るとまるで要塞。岡崎市内にはそれほど高い建物がないので、9階もあるこの建物は奇妙にもみえる存在です。私が在籍している分子環境生物学研究部門(井口研究室)では、私たちを取り巻く化学物質の影響について、マウス、アメリカワニ、イモリ、オオミジンコ、ナメクジウオなどのさまざまな生物種を用いて、研究を続けています。そのなかで、私は「胎児期の女性ホルモン投与と、成熟後のガン化の誘導」について検討しています。

通常、細胞の増殖は卵巣で生産されている女性ホルモン(主にエストロゲン)によって制御されているのですが、生まれたばかりのマウスに女性ホルモンを注射すると、その後、卵巣を摘出して体内のエストロゲンがない状態にしても、細胞が増殖し続けることがわかってきました。一方で、成熟したマウスに女性ホルモンを注射しても、細胞増殖は一過性にしか生じないこともわかっています。

出生前後に、どのようなメカニズムによって、女性ホルモン作用に恒久的なスイッチが入るのか、なぜ細胞が不可逆的に増殖するようになるのかを、分子レベルで解明することが私の研究の目的です。

日常的に、生まれたばかりのマウスを使いますが、動物室で飼育や管理、注射などをするのはとても大変です。とくに、夏場は湿度が上がると、ひどい動物臭のなかで飼育室を掃除するのは一苦労です。もちろん、生物学を学ぶ上で、生物と接していくのは大切なことなのですが……。

基生研にいる大学院生たちは、酒好きも多く、研究者らしい(?) 個性的な人間が多いように思います。研究室間の交流も盛んで、学生間の結束も強く、学生主体でセミナーや講演会を開催することもあります。まわりに飲食店がほとんどなく、生活は多少不便ですが、基生研には研究するための最高の環境が整っています。