

## 論文の内容の要旨

水圏生物科学 専攻  
平成9年度博士課程 進学  
氏 名 笹井清二  
指導教官名 塚本勝巳

論文題目 Ontogeny and ecophysiology of chloride cells in the Japanese eel  
(ウナギの塩類細胞に関する生理生態学的研究)

ウナギ属魚類はウナギ目15科141属の中で唯一降河回遊型の生活史を持ち、生活史のある特定の時期に淡水域と海水域の間を行き来する。このため、ウナギは環境の様々な塩濃度に対する優れた適応能を有している。こうした浸透圧調節能には、鰓、腎臓、消化管など様々な器官が関係する。とりわけ鰓表皮に存在する塩類細胞はイオン輸送に関して極めて重要な役割を担っている。塩類細胞には多くのミトコンドリアと良く発達した管状構造が認められ、その管状構造上には、イオン輸送に関わる $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPaseが存在する。塩類細胞は海水中で体内に過剰となった塩類を排出し、淡水中ではイオンの取り込みに関与していると考えられている。古くから浸透圧調節のモデル生物として、養殖ウナギを用いた多くの生理学的研究がなされてきた。しかし、野外で採集したウナギを対象として、生態学的観点から浸透圧調節機構や塩類細胞の発達について研究した例はほとんどない。

本研究の目的は、まずウナギの初期生活期における塩類細胞と鰓の個体発生過程を、胚からレプトケファルス、シラスウナギまで発育段階を追って明らかにすることにある。次にウナギの回遊行動に伴う塩類細胞の動態を、河川遡上期のシラスウナギ、定着期の黄ウナギおよび降河回遊期の銀ウナギを用いて明らかにする。さらに、河口域における数時間周期の急激な塩濃度変化に対する個体の行動と鰓上の塩類細胞の応答を、テレメトリーによる追跡実験と室内の生理実験を併用して明らかにすることも目的とした。以上を総合して、ウナギのライフサイクルにおける塩類細胞の動態と役割を考察し、通し回遊行動の進化と浸透圧調節機能の獲得過程の関係についても総合的に議論する。

## 1. 初期生活期における塩類細胞の個体発生

人為催熟により得られた胚と孵化仔魚のwhole-mount試料を、 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPaseに対する抗体を用いて免疫組織化学的に染色し、塩類細胞を検出した。胚では卵黄嚢上皮に、また卵黄吸収の進んだ孵化仔魚では体表のほぼ全域に $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase免疫活性を示す塩類細胞が多数認められた。天然海域で採集された全長17 mmと22 mmのレプトケファルスでは、4対の鰓弓が認められるものの鰓弁はまったく発達しておらず、鰓表皮にも塩類細胞は認められなかった。全長32 mmのレプトケファルスでは、分化し始めた一次鰓弁の上皮に $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase抗体反応が認められ、初めて塩類細胞の存在が確認された。その後、塩類細胞の数はレプトケファルスの成長による一次鰓弁の発達に伴って増加した。変態の完了したシラスウナギでは、二次鰓弁の分化がみられ、伸長した一次鰓弁上には多数の塩類細胞が認められた。参考としてマアナゴの鰓の発達過程をみると、変態期間中に二次鰓弁の急速な分化が認められ、鰓は変態に伴って呼吸と浸透圧調節の場として完全に機能化するものと考えられた。これよりウナギにおいても孵化直後からレプトケファルス期までは卵黄嚢上皮と体表上に存在する塩類細胞が主に浸透圧調節に関わり、鰓は副次的な役割を果たすにすぎないが、約3週間の変態期間内に起こる鰓の機能化に伴って塩分排出の場は体表から鰓に急激に移行・局在していくものと考えられた。

## 2. 回遊に伴う塩類細胞の機能分化

淡水と海水中での塩類細胞の形態的变化を明らかにするため、淡水中で飼育した養殖ウナギを淡水および海水に14日間馴致した（それぞれ、淡水群、海水群とよぶ）。それぞれの環境に十分適応したウナギの鰓の $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase活性は、海水群で淡水群の2倍近い値を示した。塩類細胞は一次鰓弁と二次鰓弁に認められ、環境塩分に対してそれぞれ異なる応答を示した。すなわち、一次鰓弁上の塩類細胞は数、大きさ共に海水群で大きかったのに対し、二次鰓弁上の塩類細胞では両群に顕著な差は認められなかった。このことより、まず、ウナギの鰓には2型の塩類細胞が存在することが確認され、一次鰓弁上の細胞は高張な外部環境で塩分を排出する海水型の塩類細胞であると考えられた。

海水域で採捕した河川遡上前のシラスウナギを淡水に移すと、一次鰓弁上の塩類細胞の数は変化しなかったが、細胞の大きさは移行後1日目から減少し、14日目には対照群（海水群）の57%になった。一方、二次鰓弁上には明らかな塩類細胞は観察されなかったものの、 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase抗体反応を示す部位が認められた。次に、河川内で採捕した黄ウナギと銀ウナギの鰓の $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase活性を比較すると、銀ウナギは黄ウナギより最大で2.8倍高い値を示した。塩類細胞は、黄ウナギでは一次鰓弁上と二次鰓弁上共に認められたが、銀ウナギでは二次鰓弁上にはほとんどみられず、しかも一次鰓弁上の細胞は淡水中にもかかわらず、数、大きさ共に黄ウナギより増加していた。

以上の結果から、一次鰓弁上の塩類細胞が海水中で活性化されるのは明らかであり、この細胞が海水中で塩類の排出に関わっているものと示唆された。一方、二次鰓弁上の塩類細胞は淡水生活期の黄ウナギにのみ認められたことから、これは淡水におけるイオンの取り込みに関与

しているものと考えられた。また、黄ウナギから銀ウナギに至る成長過程で観察された一次、二次鰓弁上の塩類細胞の分布の変化と鰓の $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase活性の上昇は、降海前のウナギが淡水中ですでに海水適応能を有することを示しており、これらは成熟の開始に伴う降海と海水中の産卵回遊に備えた変化であると考えられた。

### 3. 河口域の急激な塩分変動に伴う塩類細胞の応答

数時間周期で塩分が急激に変化する河口域に生息するウナギが、どのように浸透圧調節しているのか明らかにするため、河口域においてバイオテレメトリー法を用いたウナギの追跡実験を行い、同時にウナギが経験した環境塩分を計測した。河口域で採集した3個体の黄ウナギに超音波発信器を装着して約10日間追跡した結果、日中は物陰に潜み、夜間にわずか数メートルから数十メートルの狭い範囲を活動する典型的な定着型の行動パターンを示すことが明らかとなった。これらの個体が経験した環境塩分濃度は、干潮時の0.1ppt（ほぼ淡水）から満潮時の32.5ppt（95%海水）と、1日のうちに2回ずつ自らの体液より低張の値から高張の値へと大きく変化した。

これら河口の黄ウナギは、一次鰓弁上に大きな塩類細胞を多数持つ海水型の塩類細胞の分布を示した。このウナギに河口域の潮汐による塩分変動をシミュレーションして、実験的に6時間周期で淡水と2/3海水の環境を与え、鰓の塩類細胞の変化と血中浸透圧を観察したところ、淡水移行群、淡水・海水再移行群いずれも塩類細胞は一次鰓弁上にもみ多数みられる海水型で、対照群との差は認められなかった。また、血中浸透圧は各区とも295-333 mOsm / kg ·  $\text{H}_2\text{O}$ の範囲に留まり、これは通常の生理的变化の範囲内にあると考えられた。すなわち、河口域の急激な塩分変化に対してもウナギがこれを補償するような移動を示さなかったこと、また塩類細胞の分布や体液浸透圧にも大きな変化が認められなかったことを考えると、ウナギは塩類細胞の分布や機能を変化させて大きな環境塩分の変動に長期的に適応するシステムとは別に、体液浸透圧のわずかな変化を感知して速やかに且つ短期的に応答するなんらかの生理機構を備えているものと考えられた。

### 4. 産卵回遊と塩類細胞

沿岸域を離れた銀ウナギの採捕報告は過去50年間でみても極めて少ない。そこで東シナ海において1993~1999年まで7年間にわたる採集調査を実施した。冬季の夜間、手掬い網で産卵回遊中のウナギの採集を試みたところ、男女群島周辺海域（52尾）と五島列島の姫島近海（20尾）において、計72尾の銀ウナギを採集することが出来た。魚体はブロンズ色の光沢を呈し、拡大した目（eye index：3.2-8.0）と黒く大型化した胸鰭などすべて銀ウナギの特長を備えていた。来遊時期は11月から3月にわたり、盛期は12月と1月であった。河川における銀ウナギの降海時期が9月から10月であることを考えると、これらの個体は沿岸から産卵回遊に出発して間もない個体であると推定された。また、河川の銀ウナギ（生殖腺重量指数：1.1-2.5）と比較してより発達した生殖腺（1.3-3.5）を持っていた。

これらのウナギの鰓には一次鰓弁上に発達した塩類細胞が認められた。二次鰓弁上の塩類細胞の数は個体差が大きいものの、鰓弁の組織切片上の1mmの区間に平均4.9個であり、河川（6.5）および河口域の銀ウナギ（2.6）の値と有意差はなかった。これらのウナギの淡水適応能を調べるため、12日間淡水中に移行させたところ、血中浸透圧は対照の海水群で327.9 mOsm / kg · H<sub>2</sub>Oであったのに対し、淡水群では307.9 mOsm / kg · H<sub>2</sub>Oを示した。しかし、両者の値は河川、河口域の黄ウナギや銀ウナギと同程度の生理的範囲内であった。塩類細胞の数は一次、二次鰓弁上の塩類細胞共に海水群と淡水群の間に差は認められなかったものの、一次鰓弁上の塩類細胞の大きさは淡水群で有意に減少した。これらのことから、外洋の産卵場に向かう途中の個体でも広塩性を保持していることが明らかとなった。しかし、生殖腺重量指数が大きい個体ほど二次鰓弁上の塩類細胞の数は少ない傾向が認められ、成熟初期では広塩性を示すものの、成熟の進行に伴って徐々に二次鰓弁上の細胞が消失し、淡水適応能を失っていくものと推察された。

以上、ウナギの浸透圧調節に関わる塩類細胞の個体発生と、実際の回遊行動に伴う塩類細胞の応答を明らかにすることが出来た。今後の課題として、レプトケファルス体表皮における塩類細胞の有無を確認すること、また電子顕微鏡により、短期的な塩分変化に対応する塩類細胞の微細構造の変化を捉えることが重要である。また、他のウナギ目魚類の塩類細胞の分布を精査することで、ウナギ目の中で唯一淡水域に生息域を拡大することを可能にしたウナギの通し回遊の成立過程を明らかにすることができるものと考えられる。