

成体のゼブラフィッシュとメダカにおける呼吸・摂食運動における
頭部骨格系の運動機序の生体観察、および歯の立体構造の X 線マイ
クロ CT による高解像度解析

**Live imaging of the sequence of skeletal movement during respiration
and feeding, and high resolution analysis of three-dimensional
structures of teeth in adult zebrafish and medaka by using X-ray micro
computerized-tomography**

藤田 恭平^a、中山 創平^a、山本 珠実^a、Pricila Khan Moly^a、上杉 健太郎^b、磯田 恵里佳^a、
伊藤 真理子^a、田島 一剛^a、原 真弓^a、松下 淑恵^a、山崎 権彦^a、八田 公平^a、
Kyohei Fujita^a、Sohei Nakayama^a、Tamami Yamamoto^a、Kentarō Uesugi^b、Pricila Khan Moly^a、
Erika Isoda^a、Mariko Itoh^a、Kazutake Tashima^a、Mayumi Hara^a、Yoshie Matsushita^a、Norihiko
Yamasaki^a、Kohei Hatta^a

^a兵庫県立大学大学院生命理学研究科生体情報学 I 分野

^b高輝度光科学研究センター (JASRI)

^a Graduate school of Life Science, University of Hyogo

^b Japan Synchrotron Radiation Research Institute (JASRI)

X 線マイクロ CT 法を用い、成体のゼブラフィッシュとメダカにおける全身の骨格、頭部骨格系、歯の 3 次元観察を行った。さらに、X 線イメージングによって呼吸・摂食時の歯、顎、鰓蓋などの協調的運動の生体解析を行った。その結果、口から水を取り込んだ後、鰓から排出する際の、顎と鰓蓋などの骨格要素の位相のずれた協調的な動きを解析することができた。

Using X-ray micro computerized-tomography, we analyzed three dimensional structures of the skeletal elements in the body, head and teeth. Furthermore we analyzed coordinate movements of teeth, jaws, branchial mantles during respiration and feeding by X-ray live-imaging. We could analyze coordinated movements of jaws, branchial mantles while fish uptake water from mouth and eliminate from gills.

背景と研究目的：

前回、ゼブラフィッシュとメダカの稚魚を使った X 線屈折コントラストマイクロ CT の解析を行った (2007B1795) 結果、二種類の魚類の稚魚において全く異なる歯の立体構造が示された。今回は骨化が最大限に起こっている成体を用いて、より明確に歯の立体構造を観察した。さらに、頭部骨格系の動きを二次元で X 線ライブイメージング解析し、顎、鰓、鰓蓋、歯などの骨格要素の協調的運動を可視化し、その機序を明らかにすることを試みた。

実験：

兵庫県立大学・播磨科学公園都市キャンパスの生体材料センターで飼育している、発生 3 ヶ月目の野生型のゼブラフィッシュとメダカの成体をオス・メス 2 匹ずつ用意し、外径 10mm、厚み 1mm、長さ 60mm のチューブに入れた状態で、腹部より下を 4%アガロースゲルで固定して測定中に動かないようにし、チューブの先端に飼育水を入れ、ペリスタポンプ (IWAKI PST-100) で常に循環させながら、ピクセルサイズ 10 μ m で、頭部骨格運動を X 線ライブイメージング解析した。測定は、通

常の呼吸時と、餌である甲殻類のブラインシユリンプを与えた摂食時の2種類をおこなった。X線マイクロCTのサンプルは、4%PFAで固定した後、チューブに入れて蓋をして体軸周りに回転させながらピクセルサイズ6.4 μm で測定した。

結果、および、考察：

X線マイクロCTで得られたスライス画像から3D再構築をおこなった結果、2種間において、歯の空間的配置、数的、形態的相違が顕著に見られた (Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5)。

X線イメージングでは、得られた動画から顎、鰓の動きの軌跡を追うことができた (Fig. 6, Fig. 7, Fig. 8)。呼吸運動を行っている顎、鰓に関する動作速度や運動周期の解析の結果、呼吸時の下顎、鰓の動きの周期には位相差があり(ゼブラフィッシュとメダカにおいて各々、約1/8、1/5)、下顎が開いた後、遅れて鰓が開くことがわかった。また、下顎の動きは開く時よりも閉じる時の方が、各々、約2.4倍、1.5倍早いことがわかった。



Fig. 1 ゼブラフィッシュ成体における歯の立体構造 (背側から見た図、前方：上)

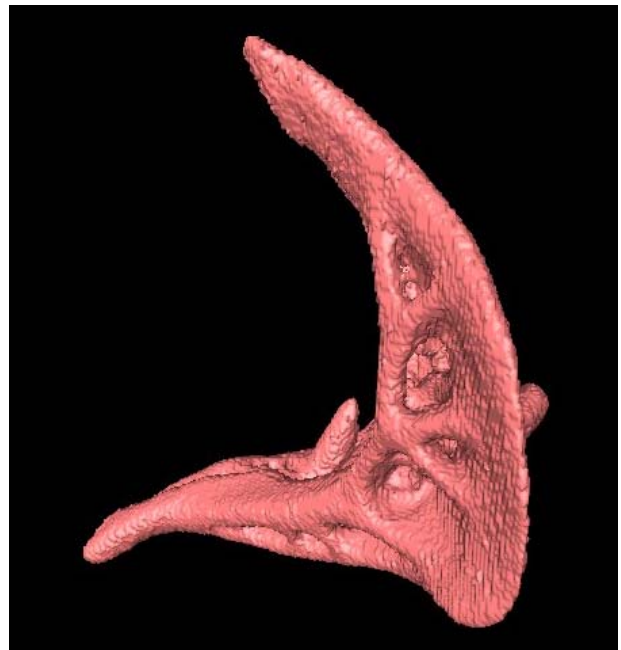


Fig. 2 ゼブラフィッシュ成体における歯の立体構造 (左側方から見た図、前方：左、背側：上)

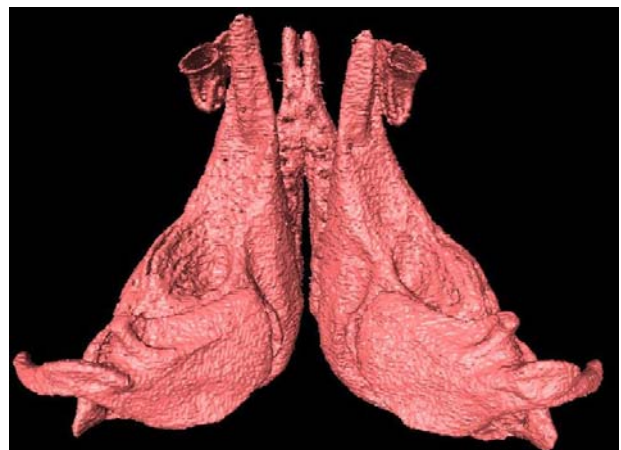


Fig. 3 メダカ成体における歯の立体構造 (背側から見た図、前方：上)

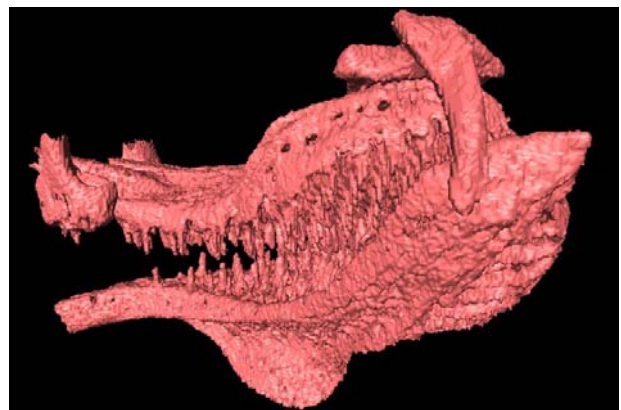


Fig. 4 メダカ成体における歯の立体構造 (左側方から見た図、前方：左、背側：上)

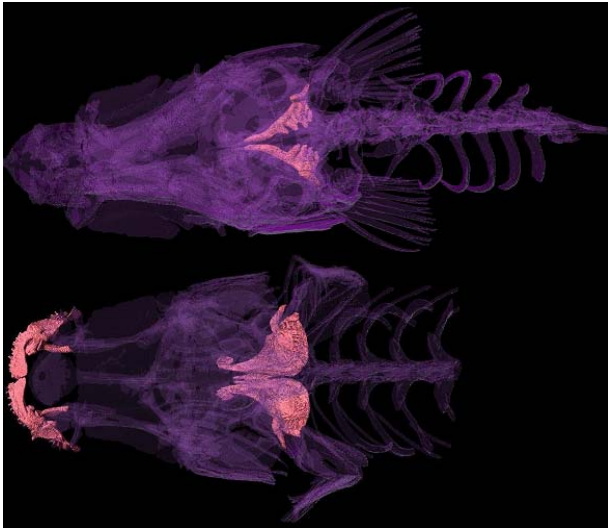


Fig. 5 2種の成体の背側から見た頭部骨格 (上:ゼブラフィッシュ、下:メダカ、前方:左)

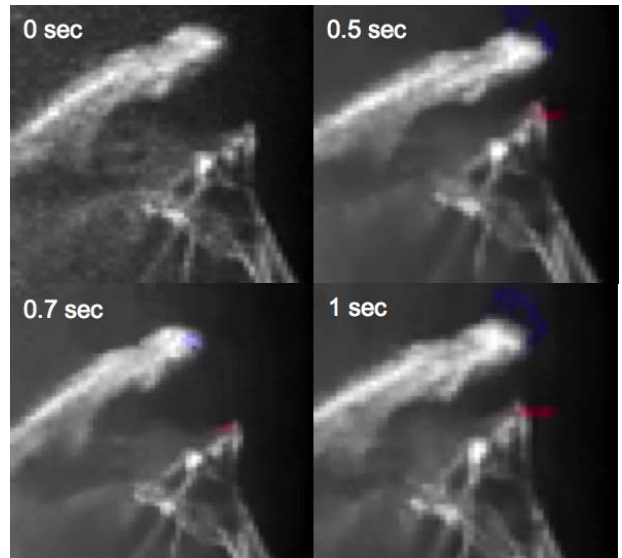


Fig. 7 ゼブラフィッシュ成体の上顎と下顎の経時変化

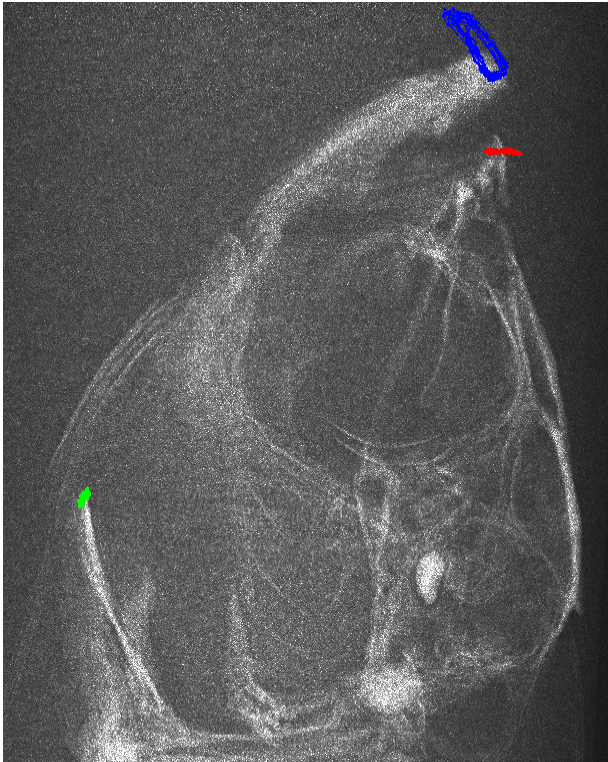


Fig. 6 ゼブラフィッシュ成体の呼吸時における頭部骨格運動の軌跡 (赤:上顎、青:下顎、緑:鰓条骨)

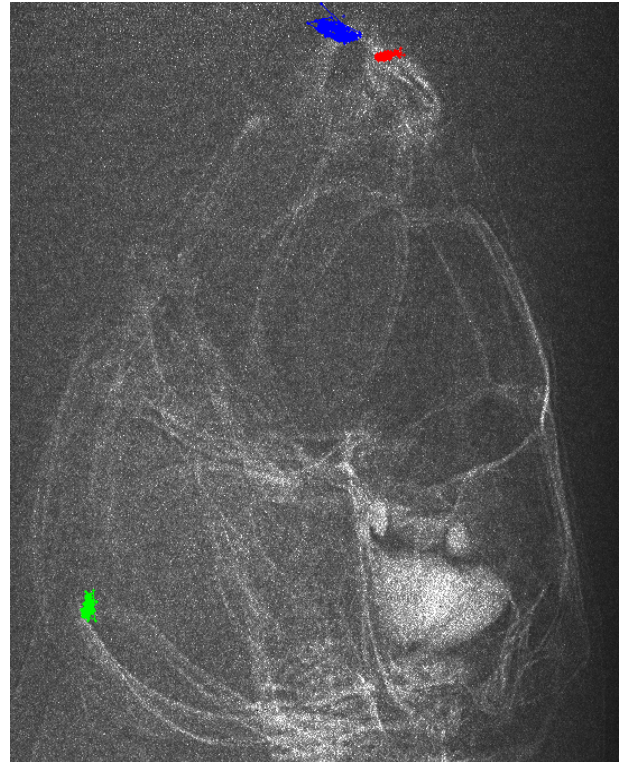


Fig. 8 メダカ成体の呼吸時における頭部骨格運動の軌跡 (赤:上顎、青:下顎、緑:鰓条骨)