

**咽頭歯の形態の多様性と適応戦略：
脊椎動物の摂食行動の X 線ライブイメージング解析
Diversity and adaptation of the pharyngeal teeth morphology:
X-ray live imaging of the vertebrate feeding behavior**

原田達典^a、池永隆徳^a、田島一剛^a、上杉健太郎^b、山本珠実^a、
モリー プリシラ カーン^a、中島洋平^a、八田公平^a

Tatsunori Harada^a, Takanori Ikenaga^a, Kazutake Tashima^a, Kentaro Uesugi^b, Tamami Yamamoto^a,
Moly Pricila Khan^a, Yohei Nakajima^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)

^aGraduate school of Life Science, University of Hyogo

^bJapan Synchrotron Radiation Research Institute (JASRI)

アブストラクト

多くの魚は喉の奥に咽頭歯と呼ばれる特殊な歯を持っており、その形態は種によって異なるが機能はよく分かっていない。咽頭歯の摂食における機能を解析するため、成体のゼブラフィッシュとメダカにおける摂食行動を、ビームラインBL20B2において高速X線ライブイメージングによって観察した。その結果、両種において、摂食行動に伴い、咽頭歯の激しい前後運動が起こる事が初めて観察された。

Abstract

Most of teleost fish have pharyngeal teeth in their posterior pharynx and their morphology is diversified. To understand their functions, feeding behaviors of the adult zebrafish and medaka were observed by X-ray live imaging at beamline BL20B2 in SPring-8. It was demonstrated for the first time that the pharyngeal teeth of both species were moving rapidly along the rostro-caudal axis during their feedings.

背景と研究目的：

より単純な脊椎動物の実験モデルとして近年確立した小型魚類、ゼブラフィッシュとメダカは、体長(約3 cm)や体型は似ているが、歯の形態や形成場所が異なっている。例えば、メダカの顎には上下に歯があるが、ゼブラフィッシュの顎には歯が全くない。また、多くの魚類は「咽頭歯 pharyngeal teeth」と呼ばれる歯を喉の奥に持つ(文献1~4)。私たちのX線マイクロCTによる研究によれば、ゼブラ

フィッシュは第5鰓弓の腹側のみに大きな歯を約24本持つが、メダカは1400本以上の細かい歯を背側と腹側の両方に複数の鰓弓にわたって持つ事が示されている。また、魚を上向きに固定した装置を用いた生体X線観察により、呼吸時に咽頭歯が動作しないことが明らかになった(文献4)。今回は、新しくデザインした水槽内で魚を固定せず、より自然に近い遊泳状態で高輝度X線高速スキャンを行い、摂食中に咽頭歯を前後軸に沿って急激に

震わせる様子を捉えることに初めて成功した。

実験・解析方法：

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生後7～8ヶ月の野生型のゼブラフィッシュとメダカを用いた。アクリル製の小さな水槽A（8mm×8mm×40mm）およびB（40mm×40mm×8mm）においてメダカ、ゼブラフィッシュ個体を泳がせ、自然な状態に近い摂食行動を2次元X線（20keV）ライブイメージングにより30Hzで観察した（Fig. 1）。Aでは頭部のみ（視野；8mm×8mm）、Bでは比較的自由に泳ぎ回る状態（視野；45mm×25mm）をX線でイメージングした。水には飼育水を用い、ペリスタポンプ（IWAKI PST100）で水槽内を絶えず循環させた。また、水源にはエアー

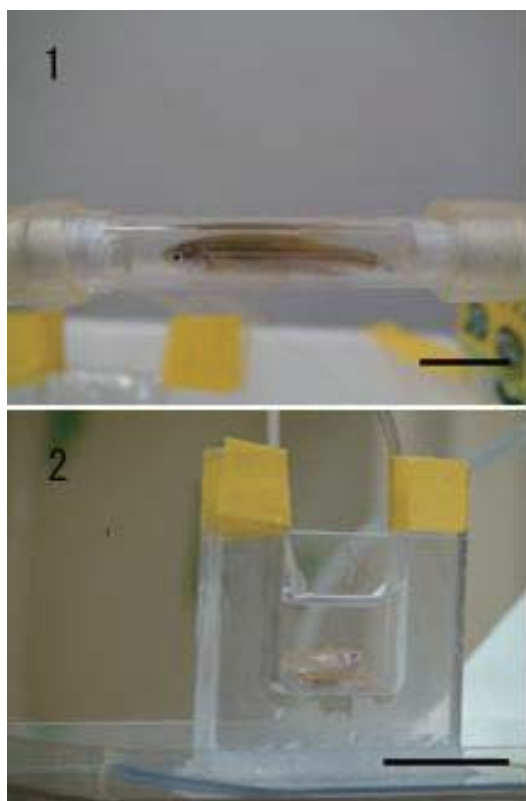


Fig.1：実験に用いた装置

（1:水槽A、バーは10mm。2:水槽B、バーは40mm。）ポンプとヒーターを用い、通常の飼育状態と同じ条件（28.5℃）を整えた。エサは30%ゼ

ラチンにオキアミ液（純水5mlにオキアミ粉末1gを混ぜたもの）とX線で影が見えるように金粉（3～5ミクロン、球形、純度99.5%、0.4g[株式会社ニラコ]）を混ぜて固めたもの（30%ゼラチン：オキアミ液=2ml：2ml、計4ml）を今回新たに考案し、ペリスタポンプによって送り込んで摂食させ、咽頭や腸に入ったエサの動きを解析できるようにした。エサの大きさは水中を循環する間にふやけて変化するため、規定できなかつた。なお、観察は魚の側面からのみ行った。得られた一連の画像は画像解析ソフトImage JとPhotoshopを用いて解析を行った。

実験結果：

水槽Aでは、両種とも識別可能な大きさの餌を摂食する動きは観察できなかった。しかし、最終的に腸内に蓄積したものと、咽頭歯にこびりついたと考えられる金粉が観察できたため、識別できない程度に小さく砕けた餌を食べていたと考えられる。

ゼブラフィッシュでは餌に近付いた直後に咽頭歯後端が上方へ吊り上げられるようにして上向き、すぐに元に戻るという運動が起こった（Fig. 2a - c）。前後する回数は最大で一度に7往復、最小で2往復と規則性は見られなかった。その速度は平均5.5mm/s、後方への移動距離は平均0.44mmだった。また、平常時に口を平均0.43mm開いて呼吸するのに対し、咽頭歯動作時には平均1.2mm開いていた。さらに、口と咽頭歯には開口時に後方へ移動し、閉口時に前方へ戻るといった関連性が見られた。

メダカでは、近くの餌に向かって体と顎を動かすと同時に背側咽頭歯の激しい前後運動が見られた（Fig. 2d - f）。最大で一度に10往復、最小で1往復と、ゼブラフィッシュと同様に前後する回数に規則性は見られなかった。その速度は平均6.4mm/s、後方への移動距離は

平均 0.48mm だった。

一方、水槽 B では、両種共に明確な摂食行動を観察できた (Figs. 3, 4)。ゼブラフィッシュでは、まず吸引により餌が咽頭歯直前にまで輸送された。その後、咽頭歯の前後運動が起こり、それに伴い餌は徐々に腸内へと輸送された。一方、メダカも同様に、まず吸引により餌が咽頭歯直前にまで輸送された。その後、急激な咽頭歯の前後運動が起こり、それに伴い餌は徐々に腸内へと輸送された。また、大きな餌に関しては吸引→前後運動→吐き出す→吸引→・・・といった行動を繰り返し、小さくしながら食べていると推測された。この一度吸引した餌を何度も吐き出すといった行動はメダカに特有でゼブラフィッシュにおいては見られなかった。

なお、この視野では解像度が低く、咽頭歯動作時の速度や距離といった詳細なデータを導き出すことはできなかった。だが、特にメダカでは腸に蓄積した金粉入りの餌が腸の構造を把握できるほどの像をもたらしていたため、更に解像度を上げれば腸の表面構造を内視鏡のようにとらえることが期待できることも分かった (Fig. 5)。

考察及び今後の課題：

今回ゼブラフィッシュとメダカの摂食行動の X 線ライブイメージングに初めて成功し、両種共に咽頭歯を使用し摂食を行っていることが分かった。前後運動に伴い餌が徐々に腸内へと輸送されていくことから、その主な役割はエサの輸送補助と考えられる。両種の行動の違いは、メダカが前後運動の際、頻繁に餌を吐き出しながら輸送するのに対し、ゼブラフィッシュは前後運動の際に吐き出すことなく輸送することである。今回の観察では観察方向が側面からのみであったため前後運動のほかに、左右の咽頭歯の内側への収縮や外側への拡張といった運動の有無は確認できな

かった。また、両種ともに咽頭歯の役割に、餌の輸送以外に餌の種類によって咀嚼が含まれるかどうかは明らかになっていない。

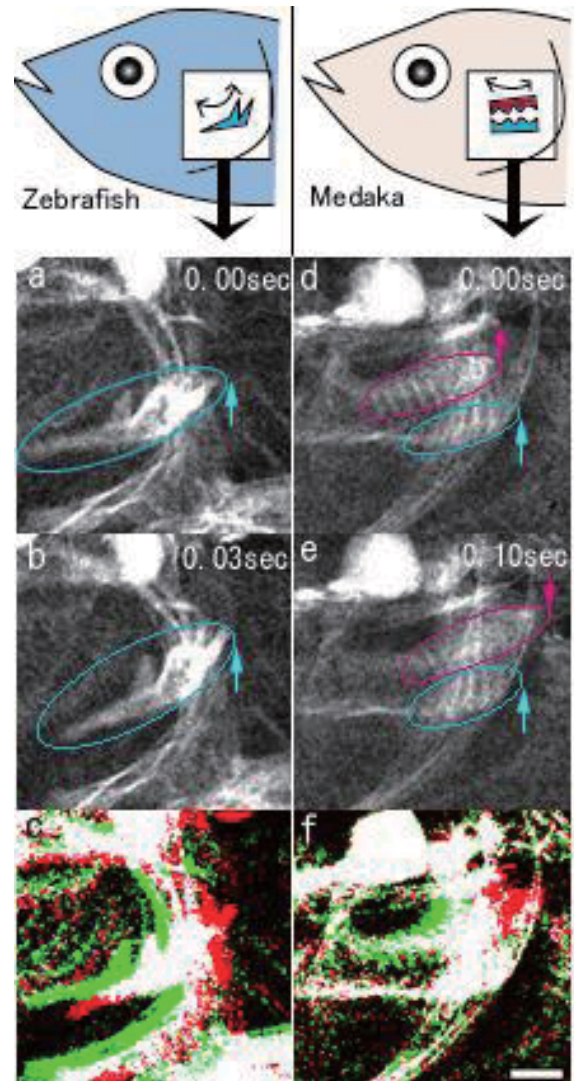


Fig.2：咽頭歯の前後運動

(a, b, c はゼブラフィッシュ、d, e, f はメダカを示す。青枠は腹側咽頭歯を、矢印はその後端を示し、赤紫枠は背側咽頭歯を、矢印はその後端を示す。c と f の図はそれぞれ a と b、d と e の図を重ね合わせたもの。緑色は最も前方に歯が位置した時、赤色は最も後方に歯が位置した時の画像で、白色は赤色と緑色が重なった部分を示す。バーは 0.5mm。)

今後、1：識別可能な餌を摂食する様子の高倍率撮影、2：背側からのライブイメージ

ングを可能にするセットアップ、3：餌の種類を変えたときの歯の動きの変化の観察等が必要である。

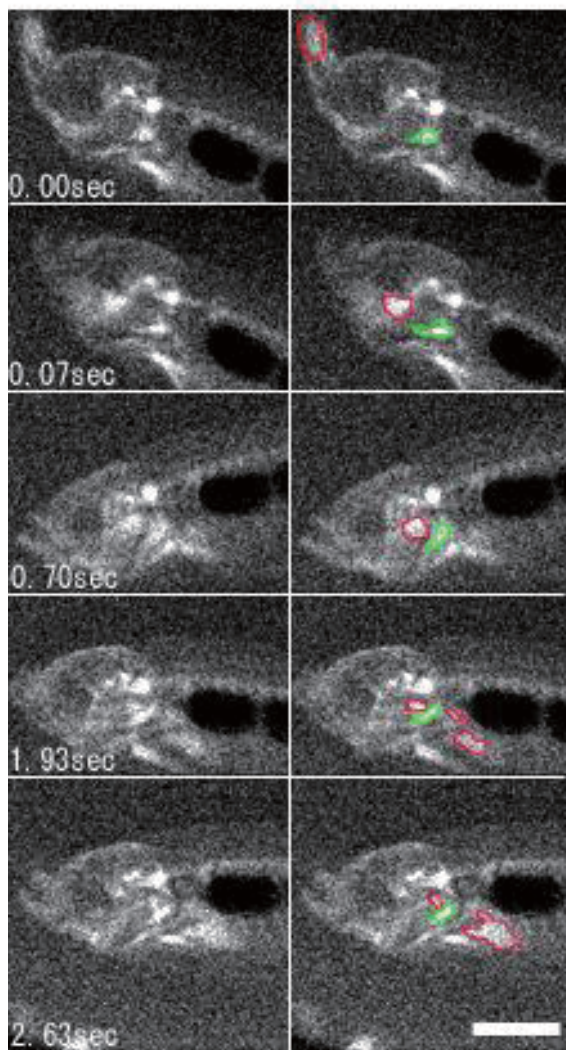
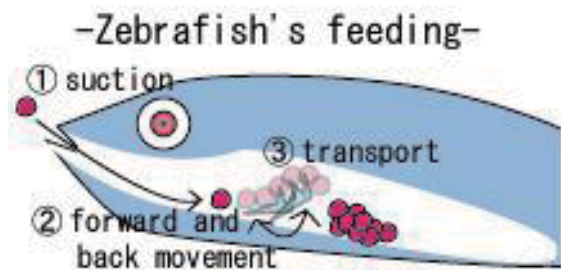


Fig.3：ゼブラフィッシュの一連の摂食行動
(赤紫色は金粉入りの餌、緑色は咽頭歯を示す。バーは3mm。)

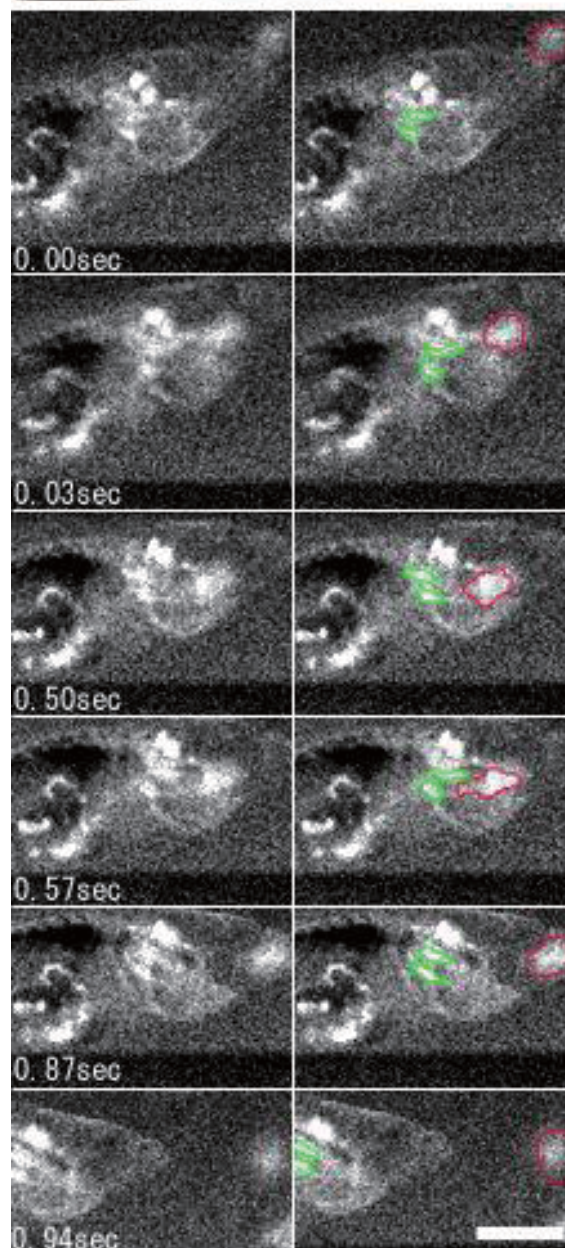
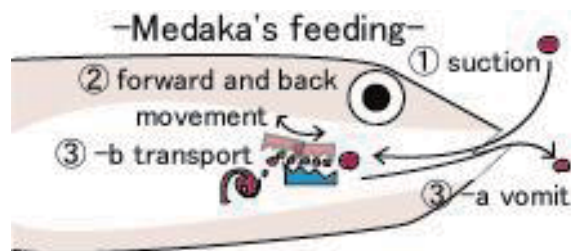


Fig.4：メダカの一連の摂食行動
(上模式図中の③-a と③-b は餌の行き先に二通りあることを示す。色枠については Fig.3 を参照。バーは3mm。)

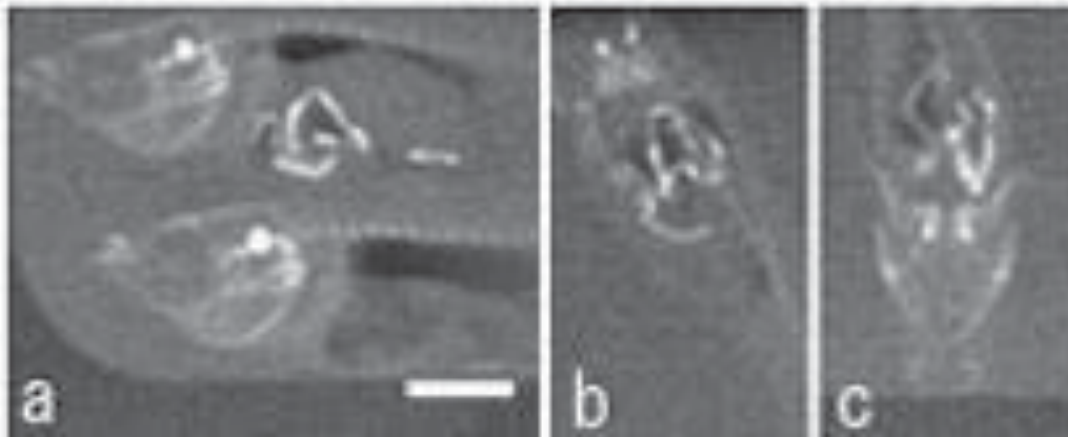


Fig.5：メダカの腸構造を表す像（a：上は金粉入りの餌を食べた魚、下は食べていない魚。b, c：金粉入りの餌を食べた同一の魚（aとは別）についてそれぞれ背面、腹面を示す。バーは3mm。）

文献：

1. Hatta K, BreMiller R, Westerfield M, Kimmel CB: Diversity of expression of Engrailed-like antigens in zebrafish. *Development* 112: 821-832, 1991.
2. 山本珠実・吉田圭佑・橋本琢人・籠島靖・上杉健太郎・竹内晃久・鈴木芳生・伊藤真理子・磯田恵里佳・八田公平：ゼブラフィッシュとメダカの摂食・呼吸に関わる頭部骨格の立体構造：歯の発生過程における X 線屈折コントラストマイクロ CT 解析 (2007B1795). 平成 19 年度メディカルバイオ・トライアルユース成果報告書. pp.14-15, 2008
3. 山本珠実・Moly Pricila Khan・橋本琢人・籠島靖・上杉健太郎・竹内晃久・鈴木芳生・藤田恭平・原真弓・中山創平・伊藤真理子・磯田恵里佳・田島一剛・松下淑恵・八田公平：屈折コントラスト X 線マイクロ CT 解析による脊椎動物初期胚の脳における細胞核の観察。メディカルバイオ・トライアルユース課題実施報告書. 2008A1753.

4. 藤田恭平・中山創平・山本珠実・Moly Pricila Khan・上杉健太郎・磯田恵里佳・伊藤真理子・田島一剛・原真弓・松下淑恵・山崎権彦・八田公平：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. メディカルバイオ・トライアルユース課題実施報告書. 2008A1754.

論文発表状況・特許状況：
なし