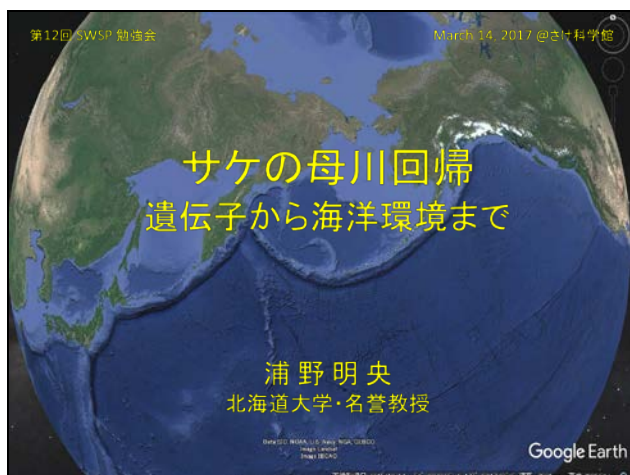
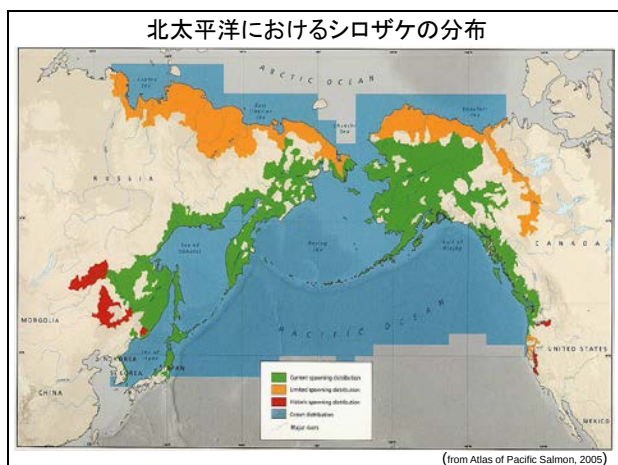
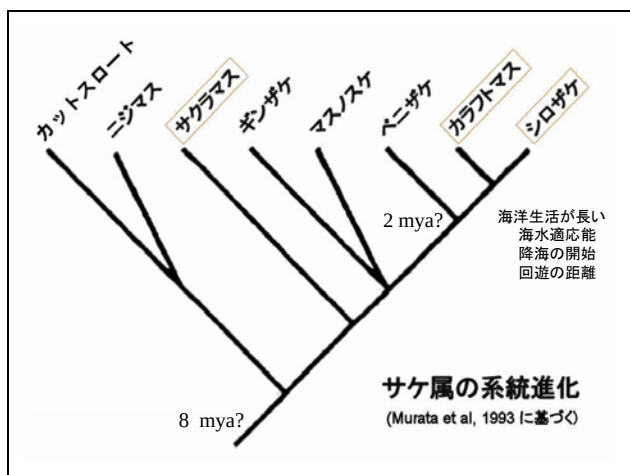




サケはなぜ生まれた川に帰ってくるの  
だろう？

本能で、生まれ育った安心できる  
ふる里に、恋をするために帰って  
くるのである。

本能＝遺伝的にプログラムされた欲求  
<< 遺伝子プログラム？>>



冬の北洋は、二酸化炭素などの温室効果ガスを吸収していると考えられている。これは：①・気体は水温が低いほど水によく溶け込む、②・低気圧の墓場とも言われる冬の北洋はよくかきまぜられるということによる。

二酸化炭素濃度の上昇は、春になると、植物プランクトンの増殖、ひいては動物プランクトンの大増殖、すなわち**スプリングブルーム**を引き起こす。サケはこの動物プランクトンを摂食するので、海が産み出した栄養を陸に運ぶ役割を持つことになる。海洋の温暖化はこの循環に抑制的に働く恐れがある。（サケと海洋環境の関係）

Q サケはなぜ生まれた川に帰ってくるのだろう？

A **本能**で、生まれ育った安心できるふる里に、恋をするために帰ってくる。

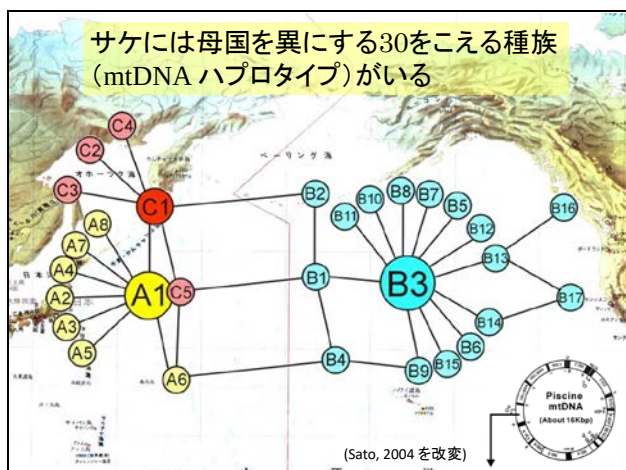
サケの母川回帰は、本能的な欲求にもとづく遺伝的にプログラムされた行動、すなわち**本能行動**だとされているが、遺伝子プログラムについては、ほとんど分かっていなかった。演者は、それを明らかにするとともに、海洋環境の変動、とくに温暖化が、それにどのような影響を与えるかを知ろうとして研究を進めてきた。

遺伝子の塩基配列にもとづく解析では、太平洋サケ、学名はサケ属 (*Oncorhynchus*)、の共通祖先が出現したのは 800 万年ほど前だろうという。それが、左の図にあるように順に分岐し、200 万年ほど前にベニザケ、カラフトマス、シロザケの祖先が出現したとされている。中でもカラフトマスとシロザケは、海洋に依存する生活期間が長い種として分化したが、それは稚魚のうちに海水に適応できるようになり、0+で降海できるようになったことが大きい。（mya, million years ago）

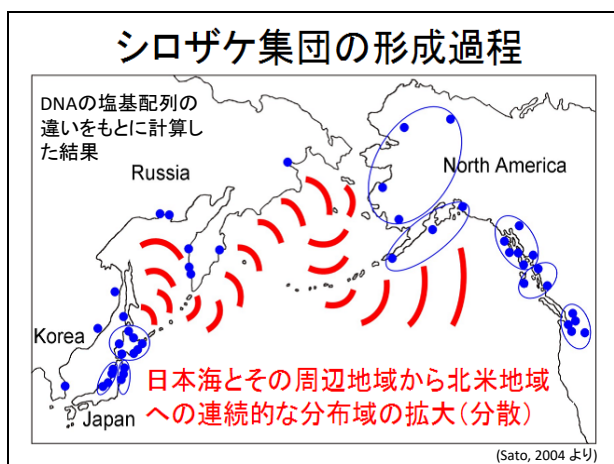
Augerot, X.: Atlas of Pacific Salmon. University of California Press (2005), p.69 の図。

シロザケは、最も広い範囲に分布している太平洋サケであり、回遊する距離もサケ属の中では最も長距離にわたると述べられている。

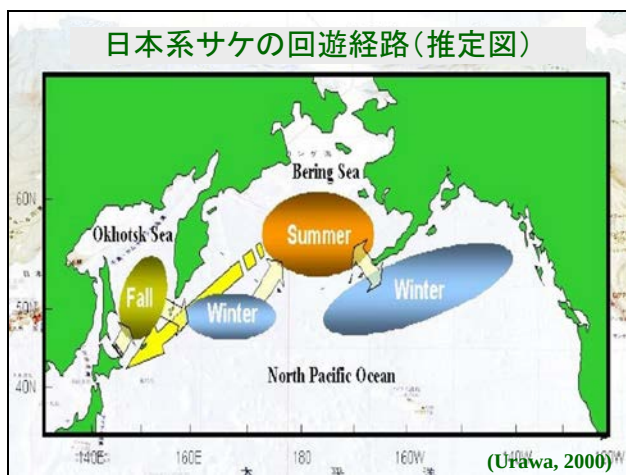
（この図を他で使用する時は、引用許可を取って下さい。）



環北太平洋の 50 近くの河川で捕獲された 2,500 尾ほどのシロザケから得られた試料を用い、得られたミトコンドリア DNA の調節領域前半 (右下の挿入図、矢印が出ている部分) の塩基配列を解析したところ、30 種類のハプロタイプが存在した。それらハプロタイプ間の関係を分析したところ大きく 3 つのグループ (A, B, C) に分かれた。そのうちグループ A は日本系のサケに特有のハプロタイプであった (Sato, 2004)。このことを利用して、北洋で捕獲したサケの中から、日本系のサケを識別することが可能になった。



上に述べた解析結果および試料を入手した地点の地理的な分布 (図中の小さな青丸) をもとに、北太平洋に広く分布するシロザケ集団の歴史的な形成過程を推定したところ、シロザケは日本海周辺地域を起源とし、ロシアを経て北米地域にまで連続的に分布域を拡げていった、すなわち分散したと考えられるという結果が得られた。(Sato, 2004)



図のような日本系シロザケの回遊経路の推定図が Urawa (2000) によって示された。以降、これが確かであることを支持する研究が数多く得られている。

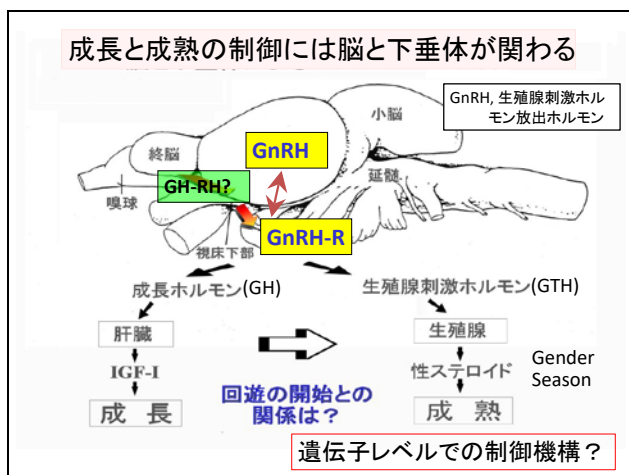
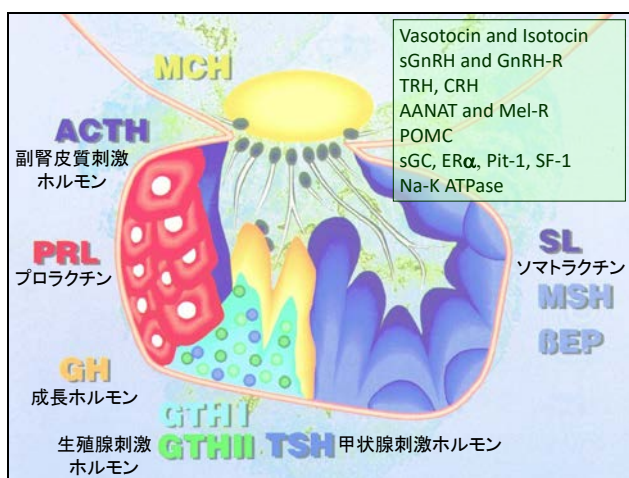
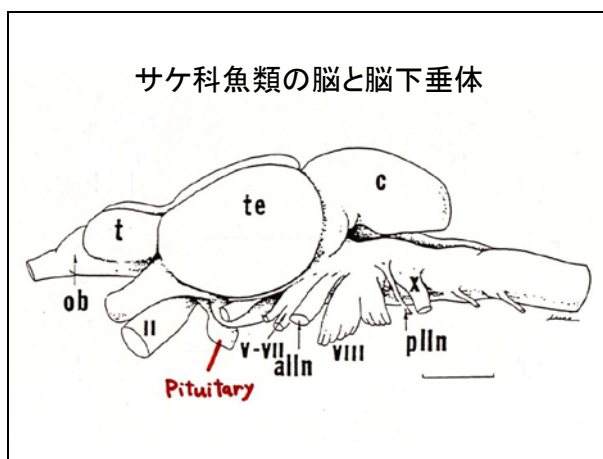
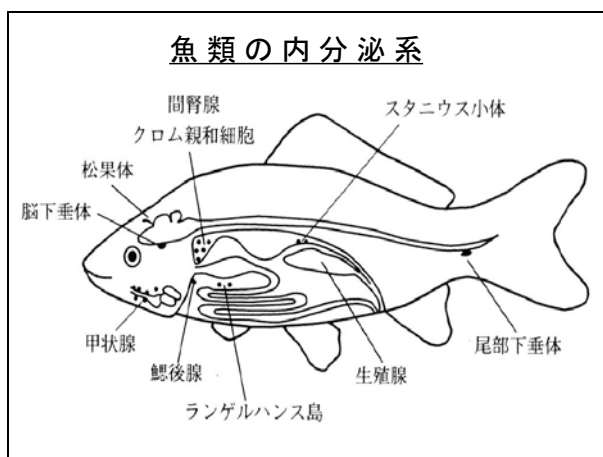
興味深いのは、北太平洋に広くシロザケ集団が分散していった歴史的とも言うべき過程と、現在の回遊経路が重なっているように見えることである。



Croot, C. and Margolis L.: Pacific Salmon. UBC Press (1991) Plate 11 のコピーに加筆した。

北洋のまだ未成熟な成長中の成体 (Young Adult) は、下垂体の成長ホルモン (GH) によって肝臓からの分泌が高まるインスリン様成長因子 (IGF) の作用で成長する (Somatic Growth)。やがて産卵のために母川に回帰してきた個体は、脳からの生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の刺激で分泌された下垂体の生殖腺刺激ホルモン (GTH) により性成熟 (Sexual Maturation) し、婚姻色を見せる。(図は成熟雄 Matured Male)





魚類から哺乳類に至る脊椎動物の**内分泌系**は、基本的  
に同じであるが、魚類は特有の内分泌器官としてスタニ  
ウス小体と尾部下垂体をもつ。

産卵回遊（母川回帰）の制御機構に関わる主要な内分  
泌器官は、（脳）下垂体と生殖腺であるが、下垂体は生  
殖腺刺激ホルモンによって生殖腺の機能を調節してい  
るので、両者を一体として考え**下垂体－生殖腺系**とい  
う。なお、一般には、雄の生殖腺である精巣からは雄性  
ホルモン（アンドロゲン）、雌の卵巣からは雌性ホルモ  
ン（エストロゲン）が分泌されている。

頭骨から取り出したニジマスの脳の側面図。脳の下  
方には（脳）下垂体（Pituitary）が接している。他の魚  
種と比べて、視覚情報を処理し行動につなげる中枢であ  
る視葉（te）がよく発達している。ob、嗅球；t、終脳；  
c、小脳。ローマ数字は脳神経の番号。II は第2脳神経  
ではあるが、通常は視神経という。

視神経が脳内に入り込む部位から下垂体上方にかけ  
ての脳底部は、**視床下部**とよばれる部位である。

シロザケ下垂体内におけるホルモン分泌細胞の分布

サケに限らず、真骨魚の下垂体内では、それぞれのホ  
ルモンを分泌する細胞が特定の部位に集まっている。

**ACTH** 副腎皮質刺激ホルモンーコルチゾルの分泌促進

**PRL** プロラクチンー魚類の淡水適応ホルモン。

**GH** 成長ホルモンー成長促進および海水適応。

**GTHI (=FSH)** 生殖腺刺激ホルモンⅠー濾胞の刺激

**GTHII (=LH)** 生殖腺刺激ホルモンⅡー黄体の形成、最  
終成熟の促進

**TSH** 甲状腺刺激ホルモンー甲状腺ホルモン分泌促進

**SL** ソマトラクチンー体液のpH調整、酸性化防止

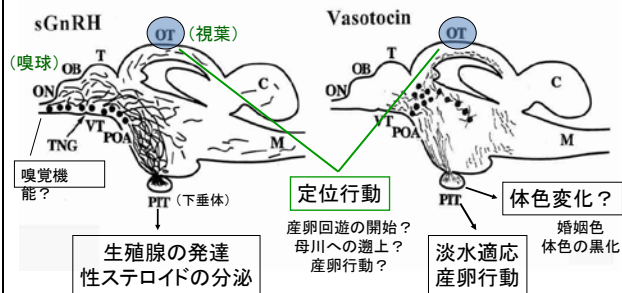
下垂体ホルモンの合成・分泌は、脳内とくに視床下部  
にあるニューロンが分泌する**神経ホルモン**によって制  
御されている。産卵回遊の開始には、図にある成長を制  
御する系から成熟を制御する系への転換があることが  
予想される。成長制御系の最上位にある神経ホルモンは  
成長ホルモン放出ホルモン（GHRH）、成熟制御系のそ  
れは**生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）**である。

なお、ホルモン、例えば GnRH が作用を現すために  
はその受容体（GnRH-R）の発現も必要である。（神経  
ホルモンの多くは、遺伝子がコードするペプチド）

## 神経ホルモンを分泌するニューロンとその投射

脳内のいろいろな場所と下垂体に線維が投射している

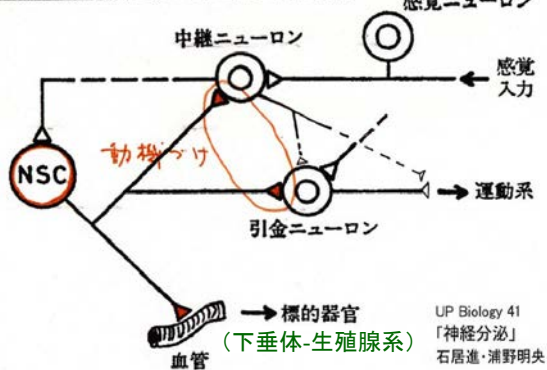
### 神経系と内分泌系の機能の同調



産卵回遊（母川回帰）は、生殖行動の一環で、その制御には GnRH が関わっていると考えられる。GnRH ニューロンが、下垂体だけでなく、脳内のいろいろな部位に神経線維を投射しているからである（図中の小さな黒丸はニューロンの細胞体、実線は線維）。なお、バソトシン（vasotocin）を産生しているニューロンも、同様に脳内のいろいろな部位と下垂体に投射している。

GnRH もバソトシンも、ニューロンの電気活動を制御するので、神経系と内分泌系の機能を同調させて生殖に関わる行動を制御している可能性がある。

## 神経分泌細胞 (NSC) の多元支配



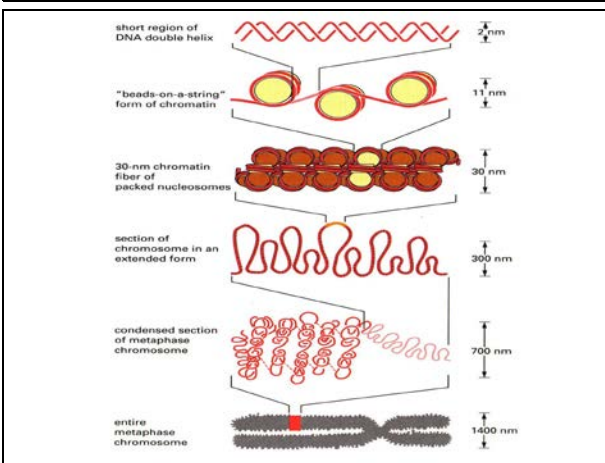
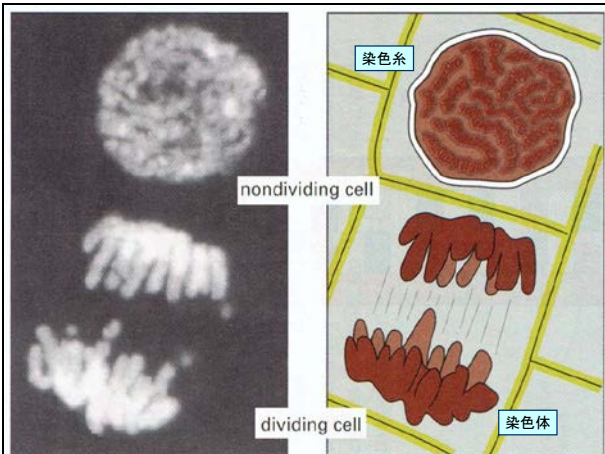
上に述べた神経ホルモンを分泌しているニューロン、すなわち**神経分泌細胞**が投射している脳内の部位には、感覚系も運動系も含まれている。その中には、感覚情報を統合して**定位行動**のための司令に変換している**視葉**も含まれている。このような形態学的な特徴から、神経分泌細胞は、脳内の多くのニューロンを、行動の発現に向けて**動機づけ**、活動レベルを高めているのではないかと考えられる。

## <バックグラウンド：遺伝子とその発現の制御>

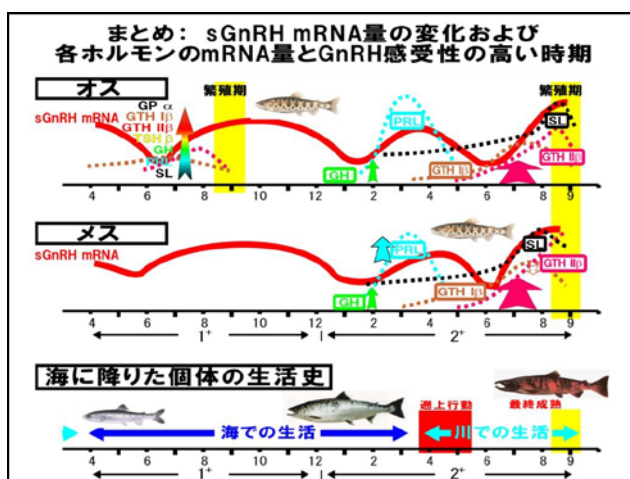
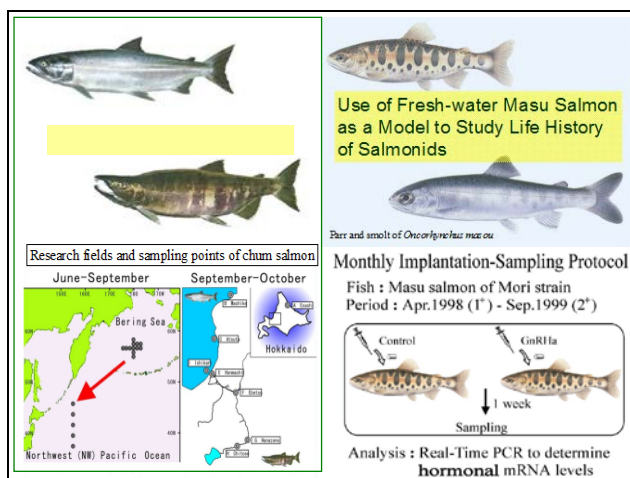
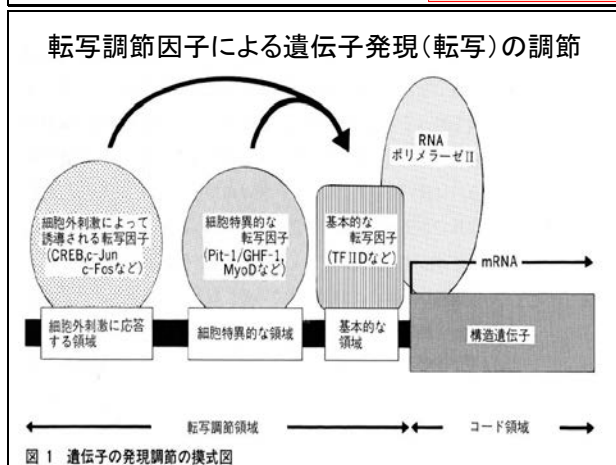
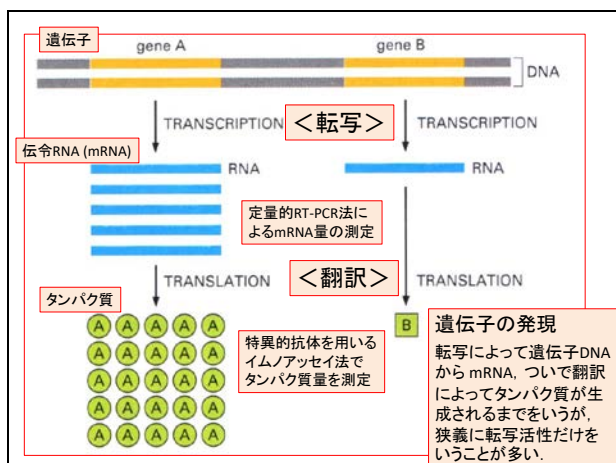
本能行動とされている母川回帰の遺伝子プログラムを解明する第一歩は、生殖活動の制御に関わるホルモン遺伝子の発現を解析することである。

タンパク質のアミノ酸配列をコードしている遺伝子の本体は、染色体を構成している DNA の特定の一部である。図の下半分のように染色体が顕微鏡下に見える時は、DNA が凝集しており、遺伝子は働けない。遺伝子が発現できるのは、上半分のように DNA がほぐれている時である。

図は、二本鎖の DNA が、順に規則正しく高次構造をとり、最終的には染色体として見えるようになるまでを示している。







二本鎖 DNA の特定の部位を占める遺伝子 (gene) A と B のそれぞれから、アミノ酸配列をコードしている遺伝子の塩基配列に忠実に伝令 RNA (mRNA) として写し取られる (転写). 次いで mRNA の配列にしたがってタンパク質が合成される (翻訳).

遺伝子からタンパク質が生成されるまでを遺伝子の発現 (gene expression) というが、タンパク質の定量よりは mRNA 量の測定の方が、6 桁以上も感度がよく簡便なので、転写活性を遺伝子の発現と称することが多い. なお、転写活性は遺伝子によって異なる.

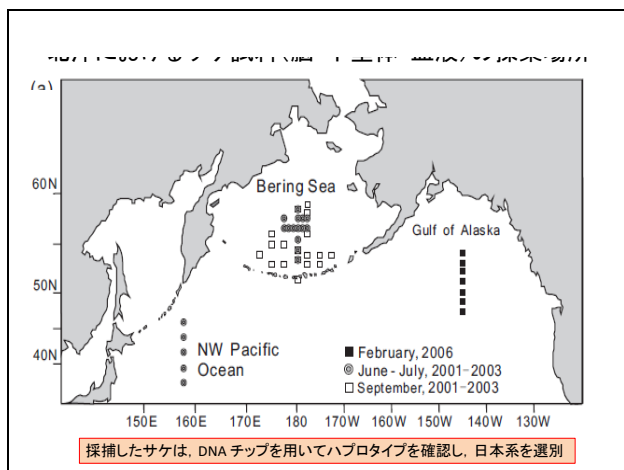
遺伝子によって転写活性が異なるのは、タンパク質をコードしている領域の上流にある **転写調節領域** の塩基配列が、遺伝子によって異なるためである.

転写調節領域には、**転写調節因子** とよばれるタンパク質のそれぞれが認識して結合する領域がある. ほとんどの遺伝子のコード領域のすぐ上流には基本的な領域がある. そこに基本的な転写因子が結合すると、そこから DNA の配列にしたがって RNA を合成する **ポリメラーゼ** が転写を開始する. その働きが、さらに上流にある領域に結合する因子によって調節される.

産卵回遊途上のサケは、図の左側下方にある場所でサンプリングしてきたが、生活史を追って連続的にサンプリングすることは不可能であるし、実験的な処理をすることもできない. それを補うために、図の右側にあるように、**モデル系**として、回遊する能力を保持している森系のサクラマスを用いた. サクラマスを用いた研究では、毎月 GnRH 投与とサンプリングを行い、生活史にともなうホルモン遺伝子の発現の変動を調べるとともに、GnRH の下垂体への作用の季節変動を解析した.

図は、**モデルに用いたサクラマス雄雌**における脳内の GnRH mRNA と下垂体のホルモン mRNA 量の季節変動およびホルモン遺伝子の発現の GnRH 感受性の変動を、相対的に示したものである.

太い赤の実線は、サケ GnRH (sGnRH) mRNA 量の変動で、性や年齢 (図の X 軸) に関わりなく、春と秋の繁殖期に向けての年 2 回、sGnRH 遺伝子の発現が高まる. 雄と雌の違いは、1 歳雄の下垂体ホルモン mRNA 量が、早熟雄の出現に対応するかのよう大きく高まることである. 2+の雄雌両方で、春に PRL 遺伝子、秋に LH 遺伝子の GnRH 感受性が高まっている.



北洋を回遊するシロザケからの試料の採取を、図にある地点で行った。ベーリング海におけるサンプリングは 2001 年から 2003 年の 3 年にわたって行ったが、幸いなことに、この 3 年の間に大きな海洋環境の変動はなかった。（若竹丸、開洋丸、北星丸に乗船）冬のアラスカ湾でのサンプリングは、1 回しかチャンスがなかった。

なお、サンプルを採集したサケについては、DNA チップを用いてハプロタイプを確認し、遺伝子の発現の解析には、日本系のサケの試料を用いた。

回帰親魚は、10 月上旬に北見枝幸、厚田、石狩、石狩河口、江別、花園、千歳ふ化場でサンプリングした。

### シロザケの捕獲方法

北洋からふ化場に至る各場所で、写真のように捕獲方法は異なったが、いずれの方法でも、ストレスホルモンである副腎皮質ホルモンのコルチゾルの血中濃度に異常な上昇は見られなかった。

左上：若竹丸における延縄の投縄

右上：開洋丸におけるトロールの揚網

左下：北見枝幸のサケ定置網

右下：花園のインディアン水車



開洋丸の**トロール網**のコッド・エンド。漁獲された魚は魚種ごとに選別され、それぞれの魚種ごとに定められた方法で計測される。



開洋丸の研究室におけるサンプリング風景。





### 船上での DNA チップによるハプロタイプの解析

水産庁のブラグシップである開洋丸の船上では、採血した血液を遠心して血球を沈殿させた後、DNA を抽出、一連の分子生物学的な操作を行うことができる。

写真下部に見えているスライドグラス上にマイクロアレイ（DNA チップ）が設定されている。

3 週間ほどの調査航海中に 1,000 尾近くのサケのハプロタイプを調べることができた。



### 刺し網による回帰親魚の捕獲

江別漁協の協力により、千歳川が石狩川に合流する地点で溯上途上のサケを捕獲した。なお、石狩川の河口では石狩漁協の協力のもとに、汽水域のサケを刺し網で捕獲した。



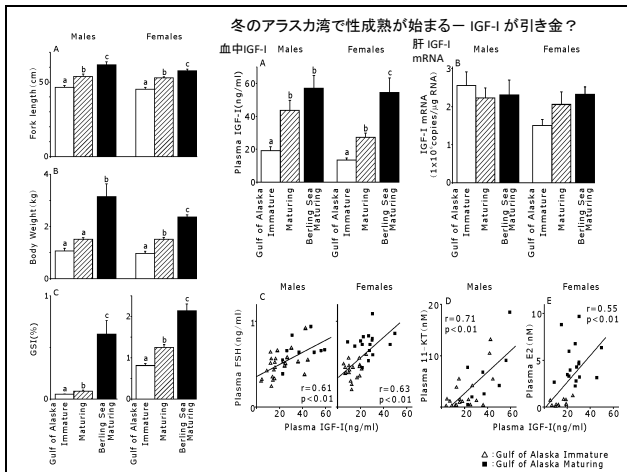
### フィールドでのサンプリング その1

準備を整え、サケガ揚がってくるのを待つ院生たち。



### フィールドでのサンプリング その2

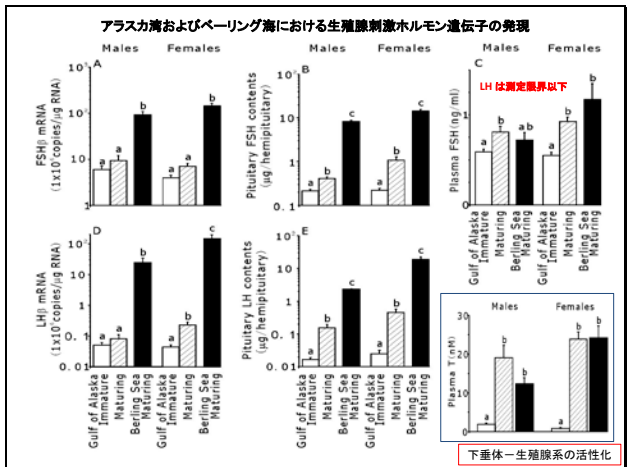
揚がってきたサケは、体長・体重の測定、採血、断頭して脳と下垂体を摘出・凍結、耳石や鱗の採集、肝重量および生殖腺重量の測定、必要な組織の固定といった順に処理される。1 尾のサケの処理に平均して 3 分を要する。サンプリングする尾数は、雄雌それぞれ最低 7 尾を目標とした。



## 冬の阿拉斯カ湾のサケから得られた結果 その1

サケは、生殖腺重量/体重 (GSI)などを基準に、Immature (未熟) 群と Maturing (成熟途上) 群に分け、ベーリング海の Maturing 群と比較した。

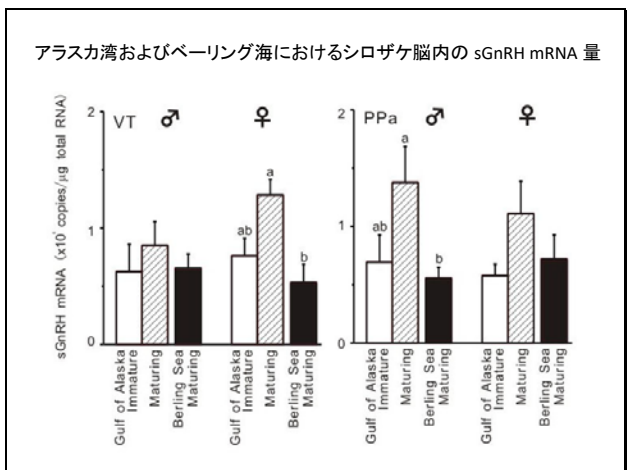
左側の図は、生殖腺が発達し始めた maturing 群は、immature 群より尾叉長と体重が大きい、すなわち成長がよいことを示している。成長を促進するインスリン様成長因子 (IGF-I) の血中濃度をみると、maturing 群 > immature 群であった (右上)。また生殖腺の成熟を開始させる下垂体ホルモンの FSH や性ステロイドの血中濃度は IGF-I 濃度に比例していた (右下)。



## 冬の阿拉斯カ湾のサケから得られた結果 その2

図は、下垂体から分泌される生殖腺刺激ホルモン FSH および LH の遺伝子発現 (左側)、下垂体含量 (中央)、および血中濃度 (右側) を示す。阿拉斯カ湾の maturing 群の下垂体で、すでに生殖腺を刺激する FSH の合成と分泌が高まっていた。それにより生殖腺が刺激され、テストステロン (T) の分泌も高まっていた。

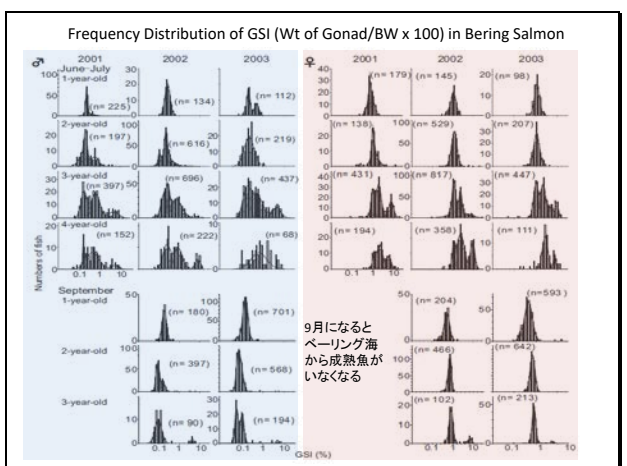
最終成熟を促進する LH の血中濃度は、測定限界以下だったので、FSH と LH の分泌機構に違いがあり、この時期には FSH だけが分泌されると考えられる。



## 冬の阿拉斯カ湾のサケから得られた結果 その3

生殖の制御に関わる終脳腹側部 (VT) および視索前核前部 (PPa) において、sGnRH mRNA 量が、阿拉斯カ湾の maturing では immature より多かった。ベーリング海の immature では、それが低下していた。

阿拉斯カ湾のサンプルからの結果は、阿拉斯カ湾で高まった sGnRH ニューロンの活動により、下垂体からの FSH の分泌と生殖腺の発達の促進が起こること、続いてベーリング海で sGnRH ニューロンの活動が低下することを示している。(春のサクラマスに対応?)

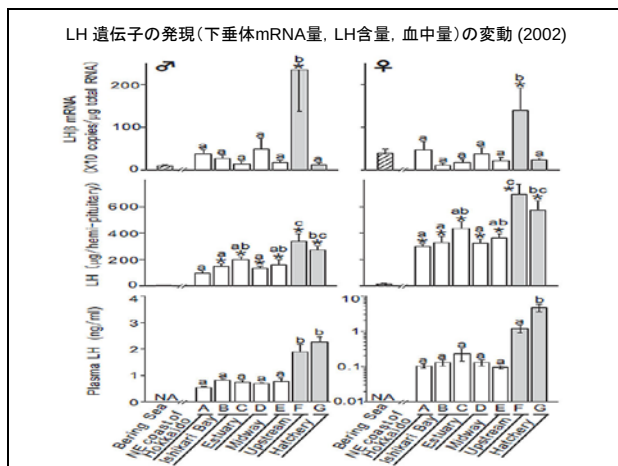
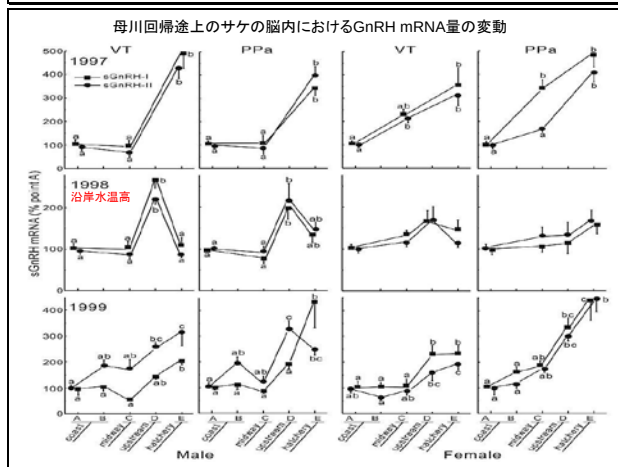
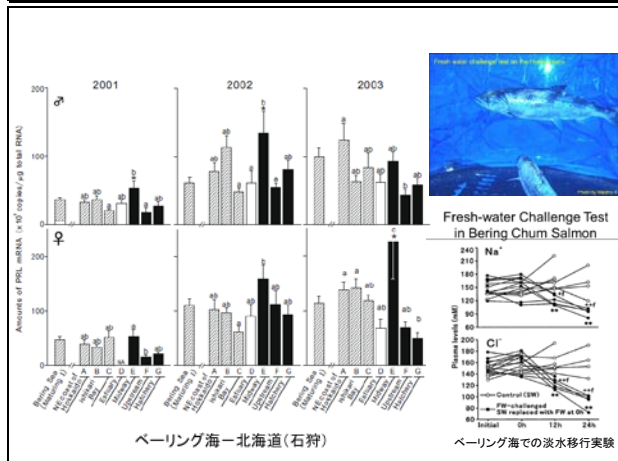
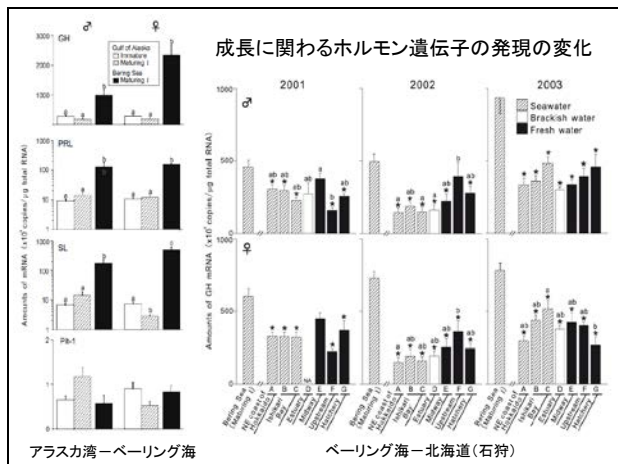


## ベーリング海で捕獲したシロザケの GSI の度数分布

GSI (生殖腺重量/体重 x100) は成熟度の簡便な指標である。2001 年～2003 年にベーリング海の調査航海で捕獲した雄雌のサケの GSI を、年齢毎に度数分布表示した。

6 月～7 月に捕獲した 3 歳魚および 4 歳魚にはかなりの数の生殖腺が発達した個体が見られるが、9 月になると成熟魚はいてもごく僅かになる。ほとんどの成熟魚は 8 月末までには母川に向かっての産卵回遊を開始しているであろう。





## 成長ホルモンファミリーの遺伝子発現

成長ホルモン (GH), プロラクチン (PRL), ソマトラクチン (SL) は、共通の祖先をもつので成長ホルモンファミリーと言われ、それらの遺伝子発現を調節する転写因子に Pit-1 がある。図の左側は、アラスカ湾およびベーリング海でのそれらの遺伝子の発現で、Pit-1 遺伝子以外はいずれもベーリング海で発現が高まっている。

図の右側は、ベーリング海からふ化場までの GH mRNA 量の変動で、2001~2003 年まで、いずれの年もベーリング海より母川で低値となっている。

## プロラクチン (PRL) 遺伝子の発現変動

PRL は、魚類の淡水適応ホルモンであるが、前図左側にあるように、その遺伝子発現はアラスカ湾からベーリング海に移動した時に 10 倍ほど高まる。ベーリング海からふ化場の間では、母川に溯上する前に発現が高まる傾向がある。

PRL 遺伝子の発現が、アラスカ湾からベーリング海に移った時に高まっているので、淡水に適応できるか確かめたところ、右側の折れ線グラフにあるように血中の Na<sup>+</sup>と Cl<sup>-</sup>の濃度が、淡水レベル (●) に低下した。

## 石狩湾 (coast) から千歳ふ化場 (hatchery) に至る間の sGnRH mRNA 量の変動

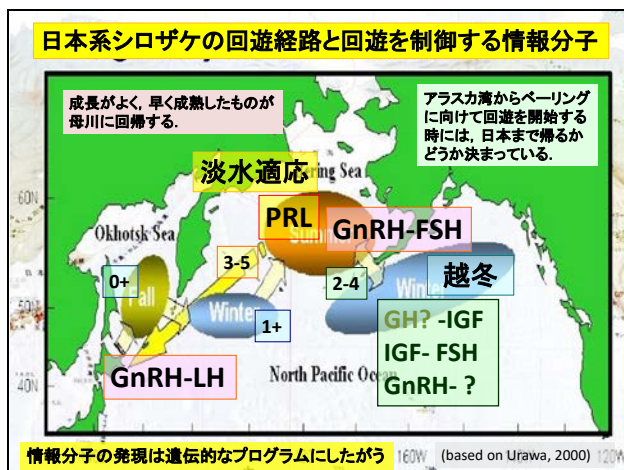
終脳腹側部 (VT) および視索前核前部 (PPa) における sGnRH 遺伝子の発現を、1997~1999 年の 3 年にわたって解析すると、1997 年と 1999 年はふ化場に近づくにつれて発現が高まっていたが、沿岸の表面水温が高かった 1998 年は変動のパターンが異なっていただけでなく変動幅も小さかった。(5 枚ほど後の図参照)

注：サケでは、全ゲノムの重複のため、GnRH 遺伝子も含めて多くのホルモン遺伝子が倍加している。

## 生殖腺刺激ホルモン (GTH II = LH) 遺伝子の発現

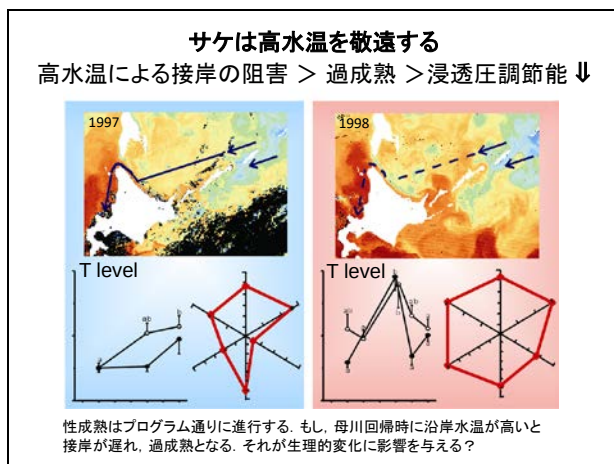
LH は最終性成熟を促進する下垂体ホルモンであるが、上図にある GnRH 遺伝子の発現の上昇に対応するかのよう、下垂体 mRNA 量、下垂体の LH 含量、血中量が高まっている。

(試料は 2002 年のものであるが、この年の沿岸水温の分布パターンは 1997 年に似ている。)



## 日本系シロザケの回遊経路に解析結果を重ねると

- ・ 冬のアラスカ湾 IGF-1 による成長促進  
IGF-1+GnRH による *FSH* の発現?  
性ステロイドホルモンの分泌増大
- ・ ベーリング海 *PRL* 発現 ⇒ 淡水適応能  
*GH* 発現 ⇒ 体成長  
⇒ 回遊行動の動機づけ
- ・ 母川への溯上 & 最終成熟 *PRL* ⇒ 淡水適応  
*GnRH* ⇒ LH ⇒ 最終成熟 ⇒ ステロイド  
ステロイド ⇒ 繁殖行動  
(イタリック は遺伝子を示す)

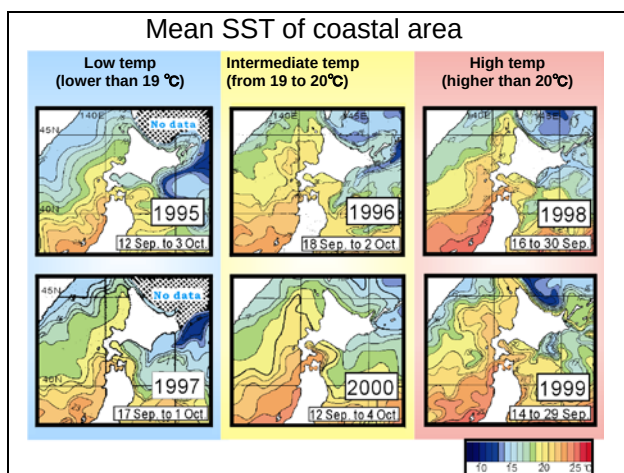


沿岸の表面海水温が高い → GnRH 遺伝子の発現?

図にあるようなことが考えられる:

- 対馬暖流が強いと知床の沖合に暖水塊
- 冷水魚であるサケの接岸を阻害
- 成熟はプログラム通りに進行
- 過熟状態で溯上 (右側のレーダーチャート)
- 生理的变化, 例えば淡水適応, への影響

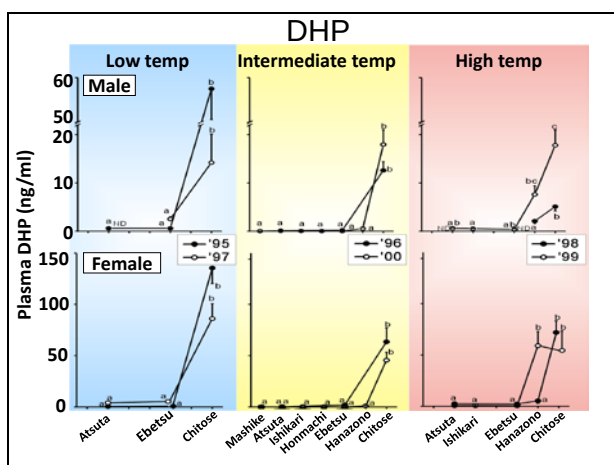
青い背景は海水温が低い年, 赤い背景は海水温が高い年



1995年～2000年の平均表面海水温 (SST)

- 石狩湾のSST < 19°C 低水温
- 石狩湾のSST 19°C ~ 20 °C 中間
- 石狩湾のSST > 20°C 高水温
- として生物的データを比較

(海上保安庁の実測データを基に作図)



## 血中DHP濃度の溯上にともなう変動

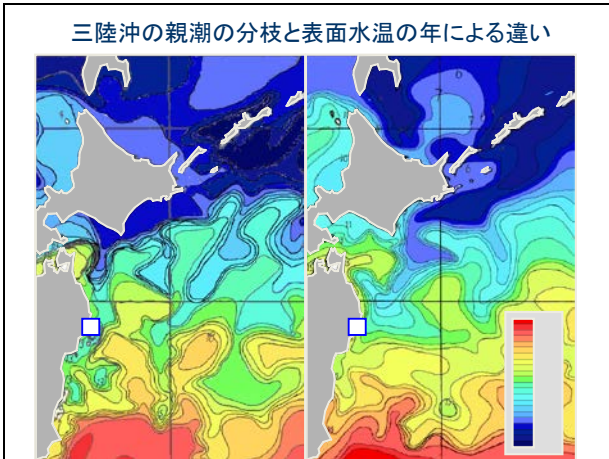
1995年～2000年の測定結果を前図にあわせて並べた.

DHP (17,20b-dihydroxy-4-pregnen-3-one) 最終成熟を誘起するステロイドホルモン

海水温が高い年 (赤い背景) は, 血中DHP濃度の上昇幅が小さいが, この結果は sGnRH mRNA 量の変動パターン (5 枚ほど前の図) と整合する.



三陸沖の親潮の分枝と表面水温の年による違い



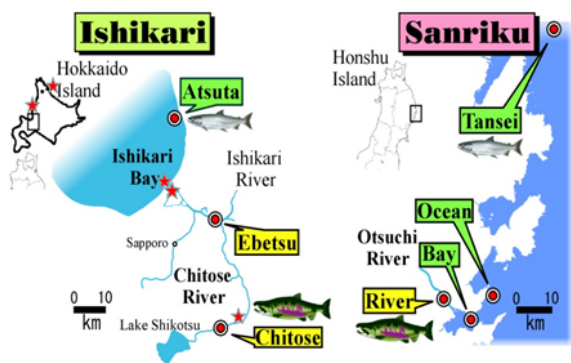
### 三陸では

黒潮の勢力が強いと、三陸沖には暖水塊ができる。その一方で、親潮の分枝が三陸沿岸に接近できず、沿岸の表面海水温が高いままという状況になる。

図は、左側が 1992 年で、暖水塊が生じていた。一方右側の海水温が低い年には、親潮の第一分枝が沿岸に接近していた。

図中の小さな四角は、東大・海洋研究所（当時）の臨海研究センターがある大槌の位置を示す。

### Sampling locations



### 大槌におけるサンプリング地点は

River 典型的なリアス式海岸の湾奥に、大槌川が流れ込んでいる。河口のウライでサケを捕獲している。塩濃度は淡水域と言ってよい。

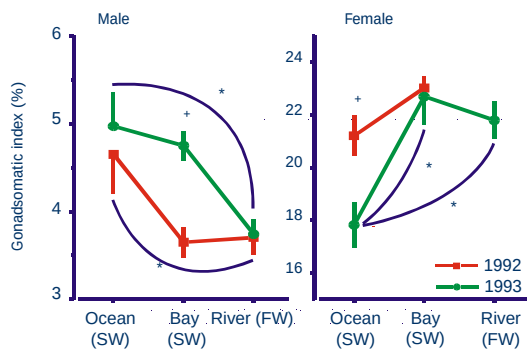
Bay 湾の中程に設置がある。海水域。

Ocean 湾口ではあるが外洋に面した設置。海水域。

Tansei (Off-coast) 閉伊崎沖、淡青丸で延縄。海水域。

大槌川河口までの距離が厚田から千歳までに相当。

Changes in gonadosomatic index during the final stages of spawning migration in 1992 and 1993



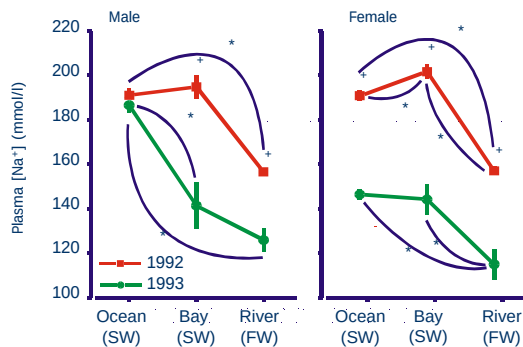
### 母川回帰ともなう GSI (gonadosomatic index) の変化

赤い線は 1992 年（表面水温 高）、緑色の線は 1993 年（表面水温 平年）。

暖水塊があった 1992 年は雄雌ともに 1993 年より成熟が進んだ状態で捕獲された。

精巣は成熟が進むと精子だけとなり重量が減少するので、GSI が低下している。一方、卵は成熟とともに重くなるので GSI が増加している。

Changes in plasma  $[Na^+]$  during the final stages of spawning migration in 1992 and 1993



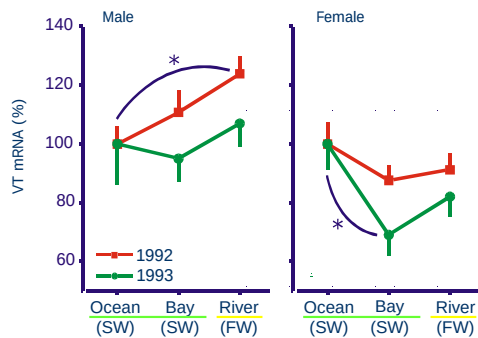
沿岸水温が高い年：血中  $[Na^+]$  が石狩と似た変動

### 母川回帰ともなう血中塩濃度 ( $Na^+$ ) の変化

暖水塊があった 1992 年は、雄雌いずれも塩濃度が 200 mmol/L という高濃度で湾内に入ってきたが、1993 年は海水中にいる時から、淡水に入ることを予見するかのように、塩濃度が低下していた。

性ステロイドホルモンは、浸透圧調節能を低下させることが知られている。1992 年に見られた高塩濃度は、成熟が進んだ状態、というよりは進み過ぎた状態でサンプリングされたということかもしれない。

Changes in VT mRNA during the final stages of spawning migration in 1992 and 1993



## 母川回帰にともなうバソトシン mRNA 量の変化

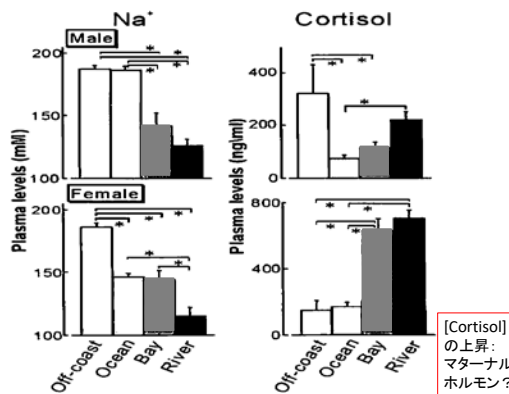
バソトシン (VT) は、視床下部のニューロンが作る神経ホルモンの1つで、視葉を含む脳内の多くの部位と下垂体に送られる。下垂体では ACTH の放出を促進するが、末梢作用は魚種や生理状態によって異なる。

雄雌いずれでも、海水温が高い1992年に発現レベルが高いのは、海水温が高いことがストレスになっているからかもしれない。(注: ACTH はストレスホルモンである副腎皮質ホルモンのコルチゾルを分泌させる。)

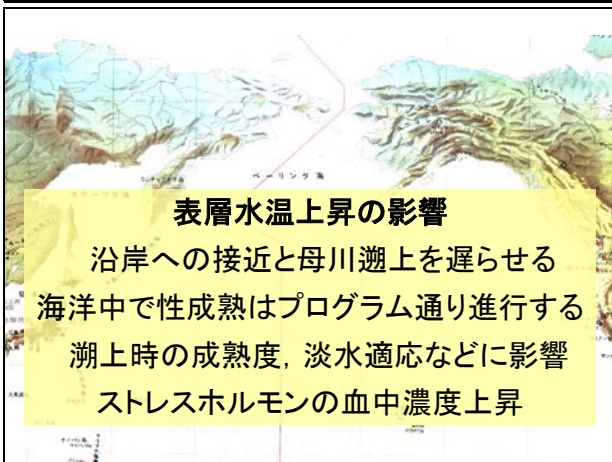
## 1993年に三陸に回帰したサケ血中の Na<sup>+</sup>およびコルチゾルの濃度

血中コルチゾル濃度の上昇が、上に示したバソトシン mRNA 量の上昇に対応しているように見える。最終成熟期の血中コルチゾル濃度の上昇は、千歳のサケでも見られる。

Na<sup>+</sup> 濃度の変動には、上に示したものに加えて、溯上直前の海洋中の高いレベルが示されている。千歳に溯上するサケでも、石狩湾から石狩川に入る直前に、血中 Na<sup>+</sup>レベルが高まる。



[Cortisol] の上昇: マターナルホルモン?



冷水魚のサケが、環境の変動、とくに海水温の上昇にどのように対応するかを知ることは重要であろう。

左図に示したのは、今回示した研究結果から考えられる例である。

<終>