

私たちの研究室では、受容体の変異に伴い発現するゼブラフィッシュの遊泳行動の変化に興味を持ち、現在研究を進めています。今回短期在外研究として、モナッシュ大学マレーシア校で2023年9月11日から2024年2月1日の間で研究する機会をいただきました。マレーシア校にはゼブラフィッシュの行動解析の専門家である小川諭先生とティラピアの行動解析の専門家である曾我朋子先生がいらっしゃいます。また魚類の神経内分泌の専門家である Ishwar Parher 先生もいらっしゃいます。この在外研究では、これらの先生方から魚の遊泳行動の各種解析方法と行動解析後の研究手法を学ぶことを目的としました。

2019年には世界中で8人に1人が精神障害を抱えながら生活していることが報告されています。精神障害のなかでは不安障害とうつ病性障害が最も多い割合を占めています。またCOVID-19の流行により、不安障害とうつ病性障害はわずか1年でそれぞれ26%と28%増加したことも報告されています。不安障害では、パニック発作や過呼吸などの身体症状、またうつ病では、不眠や食欲不振などの身体症状のほか、自殺念慮や自殺企図が生じます。日本では、2008年度の不安障害やうつ病性障害に対する疾病費用は約5兆5000億円と推計されています。

不安障害やうつ病性障害の原因やメカニズムとしては、これまでにモノアミン仮説、炎症仮説、神経可塑性仮説などが提唱されていますが、そのメカニズムはまだ完全には解明されておりません。また不安障害やうつ病性障害には、抗うつ薬や抗不安薬などの向精神薬が治療に用いられますが、その服用により頭痛や吐き気、不眠や性欲減退などの副作用や依存症が発現するなどの問題点があることも指摘されています。

家畜などの動物もヒトと同様に、過密な飼育環境や不適切な取り扱い、社会的な隔離などのストレスや恐怖によって、過剰な警戒心や逃避行動、自傷行為、食欲不振や無気力、興味の低下などの不安障害様やうつ性障害様行動を示します。その治療には人間と同様の薬物治療が行われることもありますが、副作用として、眠気、食欲低下、尿の残留や排尿障害、てんかん閾値の低下などが生じることが報告されています。そのため不安障害やうつ病性障害の原因となる分子メカニズムの解明は、これらの諸問題を解決するための喫緊の課題となっています。

不安障害様やうつ性障害様行動の分子メカニズムの研究には、これまで多くのモデル動物が使用されてきました。モデル動物のひとつであるゼブラフィッシュはヒトと同じ脊椎動物であり、多くの組織が哺乳類と同等の機能をもっています。脳組織に関しても詳細な神経回路接続の差異は認められるものの、大まかな領域区分はヒト、マウスと共通していることがすでに示されています。また2013年にはゼブラフィッシュの全ゲノム情報が解読され、その結果ヒトとの塩基配列の相同性は約70%であること、またヒトの疾患に関連する遺伝子の約80%を有することが明らかとなりました。すなわちゼブラフィッシュは、ヒト疾患の分子メカニズムを解析するためのモデル動物として有用であることが近年認識されてきています。不安やうつ行動に関しては、ゼブラフィッシュは恐怖、不安といったストレス刺激を受け取ると、水面付近での遊泳を忌避する bottom dowering、腹部を水底に接地させて遊泳を停止する freezing、高速で遊泳方向を何度も頻繁に変更する erratic behavior と呼ばれる特徴的な不安様遊泳行動を示すことが明らかとなっています。これらの行動をパラメーターとして測定することで、ゼブラフィッシュの不安障害様やうつ性障害様行動を定量化する試みがなされてきています。

不安障害やうつ性障害を含む精神障害には遺伝因子が関与することが明らかになりつつあります。これまでにセロトニン・トランスポーター遺伝子などいくつかの遺伝因子が報告され

ています。またさらに近年のゲノム編集技術の発達により、これまで不安との関連性が指摘されてこなかった遺伝子に関しても、遺伝子改変動物に不安様行動の障害が観察される場合があります。ゼブラフィッシュにおいてもゲノム編集が行えるようになり、ヒトの精神障害の原因遺伝子に対する相同遺伝子を変異させたゼブラフィッシュを作成することが可能となっています。

モナッシュ大学では、私の帰国後の研究の展開に役立てるため、まずゼブラフィッシュを用いた新規の行動解析の系の立ち上げに携わりました。ゼブラフィッシュは群れを好む魚種であり、群れから離して単独で新たな環境にさらすことはゼブラフィッシュにとってストレスとなります。そしてこの操作は一種の社会的隔離のモデルと考えられています。水槽の真ん中にガラス版で仕切りを入れ水槽を左右に区画分けした状態で、片方の区画には複数のゼブラフィッシュを入れもう片方には隔離したゼブラフィッシュ1匹を入れると、隔離側の区画の正常なゼブラフィッシュは複数のゼブラフィッシュがいる区画へと近づきます。しかしながらこの処理によって複数のゼブラフィッシュの区画へ近づかない傾向を示す遺伝子改変ゼブラフィッシュは、周囲への興味を失っているタイプの精神障害をもっている可能性があります。このようにあるタイプの精神障害とその原因遺伝子を検出するためには、この実験系は有用なものです。実際に携わってみると、この実験系のコントロールの取り方や毎回の実験結果をもとにどのように系を最適化するなど、論文を読むだけでは得られないものがたくさんありました。この経験は帰国後、現所属研究室でゼブラフィッシュの行動実験に携わっている学生さんを指導するうえで、とても有益なものとなっています。ゼブラフィッシュに加えてティラピアについても研究を見せてもらう機会をいただきました。ティラピアは集団内で社会的階層をもち集団内に序列があります。その序列の成因の一種と予想されるホルモンの影響を測定する方法などを見学することができ、こちらも現在の研究にとってとても有意義なものとなるとともに、観察したい情動行動の種類によって適した魚種を選択する必要があることも学びました。

滞在期間の後半では、行動解析後の研究の進め方の例を見学させていただきました。行動の異常が観察された場合、その異常が脳内の神経活動のどこが変化しているのかを突き止める必要があります。その変化の場所と細胞を特定しどのようにその細胞活動が変化しているのかどうかを調べないと、該当する精神障害に有効な化合物の開発につなげることができません。どの神経活動に変化が起こっているのかは、障害を示すゼブラフィッシュと野生型ゼブラフィッシュの神経細胞の興奮様式の相違を調べることから始まります。神経細胞の興奮の指標として使用されている初期応答遺伝子の発現や活性化因子の応答を脳切片上で検出する *in situ* hybridization 法や免疫組織化学法を用いて、障害を示すゼブラフィッシュと野生型ゼブラフィッシュ脳内のどの部位のどの細胞に、変化が起こっているのかを画像解析ソフトや統計解析ソフトを使用して調べるところを、間近で見学できたことはありがたいことでした。また生きたゼブラフィッシュ脳内のカルシウムイメージングの測定も見学することができたことは幸運でした。このイメージングは脳内の神経細胞の活性化をカルシウム濃度の上昇として捉え、その上昇パターンをリアルタイムに観察できる技術です。この技術は特殊なゼブラフィッシュとその測定顕微鏡を所持している研究室でしか見ることができないものです。

今回の滞在で研究の進め方やその解釈、また実験結果のディスカッションは先生方との話し合いで学びましたが、実際の実験は大学院生に教えていただきました。行動研究については専門

外であった私に、懇切丁寧に教えてくれた彼らには感謝しかありません。彼らとは実験の合間に将来のこと、私の研究のことなどいろいろなことを話しました。今の研究を土台に、次は異なる国でポスドクとして参加して違ったことをやってみたいなど、彼らとの話はとても楽しいものでした。その場に明治大学の学生を連れてきて、一緒に話ができればどんなに楽しいものになったろうかとも思いました。

今回学んだことも含めて、所属研究室の大学院生が小川先生にオンラインでご指導いただきながら行った研究の一部を、明治大学農学部研究報告としてまとめることができました（第73号 第3号 69-77、2024）。今後も今回お世話になりました先生方とのコラボレーションを発展させていければと思います。

マレーシアでの滞在生活は、とても楽しいものでした。モナッシュ大学はクアラルンプールから少し離れたセランゴール州にあります。都会からは少し離れているため、生活はしやすく研究をするのにはよい環境です。多民族、多宗教国家なのでいろいろな人がおり日本では味わえない刺激がたくさんです。毎日がとても面白いものでした。滞在の宿舎をお貸しいただいた大家さんには本当によくしていただきました。大家さんの助けなしにはこのような楽しい滞在とはなりませんでした。感謝です。

最後にこのような貴重な体験をする機会を与えてくださった明治大学の関係者の皆様に感謝申し上げます。特に渡航前のビザの件ではたくさんの方に大変お世話になりました。おかげさまで自分の研究のみならず研究室の学生への指導に有益な知識、技術をたくさん得ることができました。これからこれらの知識、技術を生かしていきたいと思います。ありがとうございました。