

- Y, Harada M, Shimizu I, Asahara T, Hamada H, Tomita S, Molkentin JD, Zou Y and Komuro I: P53-induced inhibition of hif-1 causes cardiac dysfunction during pressure overload. *Nature*. 446: 444-448, 2007.
- 8) Minamino T, Orimo M, Shimizu I, Kunieda T, Yokoyama M, Ito T, Nojima A, Nabetani A, Oike Y, Matsubara H, Ishikawa F and Komuro I: A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nat Med*. 15: 1082-1087, 2009.
- 9) Shimizu I, Minamino T, Toko H, Okada S, Ikeda H, Yasuda N, Tateno K, Moriya J, Yokoyama M, Nojima A, Koh GY, Akazawa H, Shiojima I, Kahn CR, Abel ED and Komuro I: Excessive cardiac insulin signaling exacerbates systolic dysfunction induced by pressure overload in rodents. *J Clin Invest*. 120: 1506-1514, 2010.
- 10) Shimizu I, Yoshida Y, Katsuno T, Tateno K, Okada S, Moriya J, Yokoyama M, Nojima A, Ito T, Zechner R, Komuro I, Kobayashi Y and Minamino T: P53-induced adipose tissue inflammation is critically involved in the development of insulin resistance in heart failure. *Cell Metab*. 15: 51-64, 2012.

## 2 アフリカメダカは老化とともにパーキンソン病に罹患する

松井 秀彰

新潟大学研究推進機構超域学術院脳病態解析分野

### Aged African killifish suffers from Parkinson's disease

Hideaki MATSUI

*Department of Neuroscience of Disease, Center for Transdisciplinary Research, Niigata University*

#### 要 旨

本シンポジウムでは小型魚類を使ったパーキンソン病の病態研究について概説するとともに、モザンビークに棲息する超短命のアフリカメダカが老化とともにパーキンソン病に罹患することを紹介する。小型魚類は利用者が著増しているモデル動物であり、そのいくつかの利点を議論する。小型魚類は基礎生物学のみならず、疾患研究にも利用可能であり、様々な疾患への適用が期待される。

キーワード：小型魚類、パーキンソン病、メダカ、ゼブラフィッシュ、アフリカメダカ

Reprint requests to: Hideaki MATSUI  
Department of Neuroscience of Disease  
(in Brain Research Institute), Center for  
Transdisciplinary Research, Niigata University,  
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,  
Niigata 951-8585, Japan.

別刷請求先：〒951-8585 新潟市中央区旭町通1-757  
新潟大学脳研究所 A, B 棟 112 号室 脳病態解析分野  
松井 秀彰

## 緒 言

本シンポジウムでは小型魚類を使ったパーキンソン病の病態研究について概説するとともに、モザンビークに棲息する超短命のアフリカメダカが老化とともにパーキンソン病に罹患することを紹介する。しかし、後者は現在投稿中の内容であるため、本稿ではパーキンソン病を例に、小型魚類を用いた疾患研究の利点について主に紹介していくことを御了承いただきたい。

## 最 初 に

小型魚類はその扱いやすさや稚魚が比較的透明に近い特性から、発生学等の基礎医学のモデル動物としての歴史は長い。海外では多数がゼブラフィッシュを用いており、日本では加えてメダカを用いることも多い。しかしながら盛んに疾患研究に用いられたのはここ10年前後のことである。

筆者らは2006年頃に小型魚類をパーキンソン病モデルとして利用し始めた。

その当時は小型魚類を神経精神疾患モデルとして用いる研究室は少なかったが、その理由の一つにマウスに比して遺伝子のノックアウト技術が発展していなかったことがあげられる。しかし近年の遺伝子工学の発展、基礎医学の進展、共焦点顕微鏡の普及、行動解析の進展等があるため、現在ではより疾患モデルとして利用することが容易となっている。

それでは小型魚類を用いた疾患研究は、マウス、ショウジョウバエ、培養細胞、ヒト試料、等々の他の研究対象を用いた研究と比べてどのような利点があるのだろうか？

## 利 点

### 1. 脊椎動物である

魚を食するときに背骨があることから明白な様に、魚は脊椎動物であり、メダカやゼブラフィッシュももちろん脊椎動物に含まれる。このことは同じ小型のモデル動物であるショウジョウバエや

線虫、あるいはその他のモデルとしての酵母や培養細胞とは異なる点である。このことは、分子のレベルや単一細胞の生存に関わるレベルを研究する場合にはあまり問題にならないかもしれない。しかし筆者らはヒトの神経疾患を考えるため、神経ネットワークを無視した研究はできない。他の分野であっても細胞間の連絡のみならず、近年は臓器間のネットワークが脚光を浴びているが、やはり疾患研究には脊椎動物である利点は大きい。

一例を挙げよう。筆者らはパーキンソン病のモデル作製および病態研究のために小型魚類を利用してきた。パーキンソン病は運動障害、黒質ドパミン神経変性、Lewy小体と呼ばれる封入体の存在などを特徴とする。他の神経変性疾患でも系統的な変性が言われているが、パーキンソン病でもやはり脆弱な神経と比較的保たれる神経が存在する。黒質ドパミン神経は最も有名な罹患部位で、肉眼病理でその色素沈着の著明な減弱を認める。ドパミン補充療法が少なくとも短期～中期的には運動障害をよく改善することから、もちろん他の部位の障害も重要ではあるが、ドパミン神経の理解なしにパーキンソン病を考えることは難しい。

筆者らを含めたたくさんのグループが小型魚類のドパミン神経のアトラスを報告している<sup>1)2)</sup>。メダカに対して1-メチル-4-フェニル-1, 2, 3, 6-テトラヒドロピリジン (MPTP) や6-ヒドロキシドーパミン (6-OHDA) を暴露すると自発運動の低下を認める。数あるドパミン神経の中でも間脳中央部に存在する比較的大きな細胞体を持つ細胞群がMPTPや6-OHDAに対して脆弱性を示す<sup>3)4)</sup>。これは他のモデルでも言えることだが、青斑核のノルアドレナリン神経はさらに脆弱である。レーザーによる間脳中央部のドパミン神経のアブレーションが自発運動を減弱されることとあわせて<sup>5)</sup>、間脳中央部に存在する比較的大きな細胞体を持つ細胞群が黒質ドパミン神経に相当する可能性を指摘している。この傾向は様々な遺伝子改変モデルにおいても、同様でありPINK1+Parkin二重変異メダカ、ATP13A2変異メダカ、GBA変異メダカ、PINK1変異ゼブラフィッシュにおいても多くの場合は間脳中央部に存

在するドパミン神経および青斑核のノルアドレナリン神経が脆弱である<sup>6)-9)</sup>。

このようにヒト疾患の脆弱性のある神経群を観察対照にできるのは、小型魚類は脊椎動物だからと言える。詳細は割愛するが他の基底核や小脳なども脊椎動物だからこそ存在するものであり、それらの理解には少なくとも脊椎動物であることは必須である。

## 2. *in vivo imaging* に適している

これまでの疾患研究には様々な研究手法が用いられているが、その中でも剖検脳及びモデル生物を含めた組織学、分子生物学、生化学、電気生理学、臨床所見、画像解析、遺伝学、などは大変良く用いられ、とても重要な成果を上げている。例えば組織学では定点の情報をつなぎあわせ、臨床所見では外部からの診察で内部を推測し、培養細胞を使った場合はそれが生体ではどのような意義を持つか検証し、それらの情報を集約し、研究者や臨床家は疾患のメカニズムを推理していく。まさに疾患における警察や探偵や科捜研である。しかし犯罪でもそうであるように、中には現行犯逮捕したい、あるいはしなければならぬ事例がある。研究者や臨床家は、実際に生きた状態で生体内で今まさに何が起きているかを見たい、というステップにたどり着く。ではマウスの頭蓋を除去し、その除去した頭蓋の穴に対物レンズを近づけ、脳表層のみを観察するか。あるいはfunctional MRIや電気生理学的手法を利用し、その時間解像度と空間解像度のトレードオフ、に悩まされるか。もちろん現状で全てを理想的に解決する方法は存在しない。

繰り返しになるが小型魚類は小型でありながらも脊椎動物である。稚魚は透明であり、内部構造の観察が容易であるし、またより透明な変異体を利用すれば成魚であっても内部構造が透けて見える<sup>10)</sup>。目的に応じて中枢神経全体を観察することも可能であるし、関心領域を高解像度でとらえることもできる。小型魚類を用いることで、個体レベルから臓器、神経細胞、細胞内小器官、分子レベルまで観察可能である。これまでも神経発生、

神経活動、血球レベルの循環器系、創傷治癒過程、などなど様々なものが *in vivo* で可視化されてきた。

筆者らはその特性を生かし、ゼブラフィッシュの眼球運動時における小脳の活動部位、水泳運動時における小脳の活動部位、をそれぞれ同定している。それらにより明らかにされた小型魚類の小脳の機能地図は、驚くほどにヒトと相似であった<sup>11)</sup>。この場合稚魚は一部をアガロースで包埋され、運動してほしい部位はアガロースを除去することで、運動しながらの神経活動の観察を可能にする。これだけでもまだまだできることはたくさんあるのだが、この原稿を執筆中に自由運動中の神経活動をモニタリングできる手法が開発され、Nature Methodに2報報告されている<sup>12)13)</sup>。脊椎動物において行動課題と、個体から分子レベルの *in vivo imaging* を併用できるものは小型魚類の他に存在せず、その利用価値はますます増加すると思われる。

## 3. 多種多様である

新潟では多種多様な魚類を食することができる。食卓にあがる肉類は、普通はウシ、ブタ、トリ、ぐらいで、あとは少数派であろう。しかし食卓を飾る魚類は、イワシ、サンマ、ブリ、サケ、マグロ、カレイ、ヒラメ、タチウオ、アジ、ノドグロ、ニシン、タイ、..、原稿の都合で後は割愛するが、頑張れば原稿用紙数枚にわたる。メダカを食する文化もあるようである。種の数は現在脊椎動物が約7000種で、うち魚類はその半分を占める。見た目も多様で、また見た目が似ていても遺伝子的には相当の違いがあったりする。

食と同じ恩恵に研究の世界もあずかることができる。ゼブラフィッシュはコイ目コイ科であり、メダカはダツ目メダカ科であり、遺伝学的にはヒトとサルよりも離れている。ゼブラフィッシュは発生が早く、48時間後には孵化し、さらに1~2日で早速泳ぎだす。メダカは孵化に8~10日かかる。例えばモルフォリノを早期発生に適用する場合にはゼブラフィッシュの方が適切かもしれない。また同じ遺伝子の変異体でも、メダカで表現型が希薄なものが、ゼブラフィッシュで顕著であったり、あるいはその逆であったりするために、

小型魚類は相補って存在するモデル動物であると言える。

近年注目を集めているのがアフリカメダカである。アフリカメダカはモザンビーク等に棲息する小型魚類である。そこでは乾期と雨期が存在し、乾期にはアフリカメダカが棲息する池の水が干上がるため、アフリカメダカはそこでは成体としては生きていくことができない。ではどのようにして種として継続されてきたかという、彼らは乾燥に強い卵を土の中に産卵し、その卵が乾期をじっと耐え、次の雨期に孵化するというシステムをとる。アフリカメダカは2003年に当時脊椎動物界で寿命が最短であることが報告され<sup>14)</sup>、また非常に短期の間に老化の表現型を呈すことから、老化研究者の間で使用する研究者が増えてきている。具体的には彼らの寿命はたとえ実験室で飼育しても5ヶ月程度であり、わずか2~3ヶ月で臓器の萎縮、運動能力の低下、脊柱彎曲、癌の発生頻度の上昇、テロメアの短縮、老化関連酸性 $\beta$ -ガラクトシダーゼの上昇など、老化の様々な兆候を示す<sup>15)-17)</sup>。残念ながら割愛するがアフリカメダカは老化関連の疾患にも利用できる可能性があり、今後が期待される。

## 最後に

小型魚類は研究者はもちろん、臨床の先生、自然愛好家の方、どのようなケースでも研究可能な動物である。自宅でもクリニックでも飼育できる。ユーザーフレンドリーで、有用で、仕事の間も安らぐ、そんなモデル動物への興味を持っていただければ幸いである。

## 文 献

- 1) Rink E and Wullimann MF: Connections of the ventral telencephalon (subpallium) in the zebrafish (*Danio rerio*). *Brain Res* 1011: 206-220, 2004.
- 2) Matsui H and Sugie A: An optimized method for counting dopaminergic neurons in zebrafish. *PLOS One* 12: e0184363, 2017.
- 3) Matsui H, Taniguchi Y, Inoue H, Uemura K, Takeda S and Takahashi R: A chemical neurotoxin, MPTP induces Parkinson's disease like phenotype, movement disorders and persistent loss of dopamine neurons in medaka fish. *Neurosci Res* 65: 263-271, 2009.
- 4) Matsui H, Ito H, Taniguchi Y, Inoue H, Takeda S and Takahashi R: Proteasome inhibition in medaka brain induces the features of Parkinson's disease. *J Neurochem* 115: 178-187, 2010.
- 5) Jay M, De Faveri F and McDearmid JR: Firing dynamics and modulatory actions of supraspinal dopaminergic neurons during zebrafish locomotor behavior. *Curr Biol* 25: 435-444, 2015.
- 6) Matsui H, Sato F, Sato S, Koike M, Taruno Y, Saiki S, Funayama M, Ito H, Taniguchi Y, Uemura N, Toyoda A, Sakaki Y, Takeda S, Uchiyama Y, Hattori N and Takahashi R: ATP13A2 Deficiency Induces a Decrease in Cathepsin D Activity, Fingerprint-like Inclusion Body Formation and Selective Degeneration of Dopaminergic Neurons. *FEBS Lett* 587: 1316-1325, 2013.
- 7) Matsui H, Gavinio R, Asano T, Uemura N, Ito H, Taniguchi Y, Kobayashi Y, Maki T, Shen J, Hattori N, Takeda S, Uemura K, Yamakado H and Takahashi R: PINK1 and Parkin complementarily protect dopaminergic neurons in vertebrates. *Hum Mol Genet* 22: 2423-2434, 2013.
- 8) Flinn LJ, Keatinge M, Bretau S, Mortiboys H, Matsui H, De Felice E, Woodroof HI, Brown L, McTighe A, Soellner R, Allen CE, Heath PR, Milo M, Muqit MM, Reichert AS, Köster RW, Ingham PW and Bandmann O: TigarB causes mitochondrial dysfunction and neuronal loss in PINK1 deficiency. *Ann Neurol* 74: 837-847, 2013.
- 9) Uemura N, Koike M, Ansai S, Kinoshita M, Ishikawa-Fujiwara T, Matsui H, Naruse K, Sakamoto N, Uchiyama Y, Todo T, Takeda S, Yamakado H and Takahashi R: Viable neuronopathic Gaucher disease model in medaka (*Oryzias latipes*) displays axonal accumulation of alpha-synuclein. *Plos Genet* 11: e1005065, 2015.
- 10) White RM, Sessa A, Burke C, Bowman T, LeBlanc

- J, Ceol C, Bourque C, Dovey M, Goessling W, Burns CE and Zon LI: Transparent adult zebrafish as a tool for in vivo transplantation analysis. *Cell Stem Cell* 2: 183-189, 2008.
- 11) Matsui H, Namikawa K, Babaryka A, and Köster RW: Functional regionalization of the teleost cerebellum analyzed in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111: 11846-11851, 2014.
- 12) Kim DH, Kim J, Marques JC, Grama A, Hildebrand DGC, Gu W, Li JM and Robson DN: Pan-neuronal calcium imaging with cellular resolution in freely swimming zebrafish. *Nat Methods* 14: 1107-1114, 2017.
- 13) Symvoulidis P, Lauri A, Stefanou A, Cappetta M, Schneider S, Jia H, Stelzl A, Koch M, Perez CC, Myklatun A, Renninger S, Chmyrov A, Lasser T, Wurst W, Ntziachristos V and Westmeyer GG: NeuBTracker-imaging neurobehavioral dynamics in freely behaving fish. *Nat Methods* 14: 1079-1082, 2017.
- 14) Valdesalici S and Cellerino A: Extremely short lifespan in the annual fish *Nothobranchius furzeri*. *Proc Biol Sci* 270 Suppl 2: S189-S191, 2003.
- 15) Genade T, Benedetti M, Terzibasi E, Roncaglia P, Valenzano DR, Cattaneo A and Cellerino A: Annual fishes of the genus *Nothobranchius* as a model system for aging research. *Aging Cell* 4: 223-233, 2005.
- 16) Valenzano DR, Terzibasi E, Cattaneo A, Domenici L and Cellerino A: Temperature affects longevity and age-related locomotor and cognitive decay in the short-lived fish *Nothobranchius furzeri*. *Aging Cell* 5: 275-278, 2006.
- 17) Harel I, Benayoun BA, Machado B, Singh PP, Hu CK, Pech MF, Valenzano DR, Zhang E, Sharp SC, Artandi SE and Brunet A: A platform for rapid exploration of aging and diseases in a naturally short-lived vertebrate. *Cell* 160: 1013-1026, 2015.

### 3 フレイルを示唆する身体所見, ビタミンD値, 骨密度検査所見

今井 教雄<sup>1,2</sup>・遠藤 直人<sup>2</sup>・佐久間真由美<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 新潟大学大学院医歯学総合研究科  
地域医療長寿学講座 (特任准教授)

<sup>2</sup> 新潟大学大学院医歯学総合研究科  
整形外科 (教授)

<sup>3</sup> 新潟医療福祉大学医療技術学部  
理学療法化 (准教授)

### The Characteristics of Frailty Patients in Physical and Blood Examination and Bone Mineral Density

Norio IMAI<sup>1,2</sup>, Naoto ENDO<sup>2</sup> and Mayumi SAKUMA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Division of Comprehensive Geriatrics in Community,  
Niigata University Graduate School Medical and Dental Science*

<sup>2</sup> *Division of Orthopedic Surgery, Department of Regenerative and transplant Medicine,  
Niigata University Graduate School Medical and Dental Science*

<sup>3</sup> *Department of Physical Therapy, Faculty Medical Technology, Niigata University of Health and Welfare*