

## 論文の内容の要旨

論文題目 非侵襲的手法による二枚貝の循環機能解析：深海種飼育への応用  
(Noninvasive analysis of cardiac function of bivalves : Application to keeping of deep-sea bivalves)

氏 名 瀬尾 絵理子

### ■第1章 序論

体液循環（以下、循環）は血液循環だけでなく、リンパ液や細胞外液の循環も含む、生物において重要な機能の一つである。酸素や代謝基質の供給、二酸化炭素の除去などを司っており、循環を理解することは、生物の生命活動を考える上で非常に重要である。循環系の研究は脊椎動物であるヒトや陸上に生息する哺乳動物を対象としたものが多く、海洋に生息する生物の循環研究は、水産上有用である魚類を用いて行われたものが大部分である。これらは全て閉鎖血管系をもつ動物である。一方、開放血管系をもつ無脊椎動物では、水産有用種であるハマグリやムラサキイガイなどの二枚貝を用いて、循環に関する研究が行われてきた。1900年初頭から1960年代に解剖学的側面や電気生理学的な側面から多くの研究が進められ、多くの仮説が立てられたが、技術的な制約などから実証されていないものも多い。二枚貝類は、血リンパを循環させるために、心室を収縮させ、囲心腔の圧力の差によって循環させていると考えられており、これを「Constant-volume 仮説」(Ramsay 1952, Krijgman & Divaris 1955)と呼ぶ。心臓の各臓器内の圧力変化は検証されているが、心室・心房・囲心腔の容積変化、血リンパの流れる方向に関しては、生きたまま二枚貝の心臓を観察することが困難なため、提唱されてから50年間検証されていない。そこで、本研究では、核磁気共鳴画像法（MRI）を用いて、Constant-volume 仮説の検証を行った。

最近、マスコミの報道や博物館などの特別展で深海生物が取り上げられることが増えている。深海に光合成でなく、細菌の化学合成を基盤とする化学合成生物群集が存在することは、地球上の生物の多様性の大きさを再認識させる。また、遠く離れた大気環境変動が深海の環境にも影響を及ぼしていることを知れば、地球環境を一体として捉え、守ることの重要性が理解できる。この様に、深海生物は環境教育の素材としても有用である。現在、多くの水族館で、化学合成生物群集の固有種を含む深海生物の飼育が試みられているが、自然状態での観察が難し

く、生理学的な基礎情報が不足している深海生物を長期間飼育することは容易ではない。特に、化学合成生物群集の中心を成す二枚貝類では、貝殻の外側から生理状態を判定できないことが大きな障害となっている。そこで、本研究では二枚貝類の心臓活動に着目し、心拍動・心周期を定量的に把握することで、外見からは判断できない二枚貝類の状態変化を客観的に判定できるのではないかと考え、深海性二枚貝類の飼育現場などで使える心拍測定手法を確立することを試みた。

## ■第2章 核磁気共鳴画像法を用いた二枚貝類の心臓活動測定

日本周辺の深海底には多くのメタン湧水域と熱水噴出域があり、湧水や熱水に含まれるメタンや硫化水素に含まれるエネルギーを用い有機物を生産するメタン酸化細菌や化学合成細菌と共生する化学合成生物生態系が形成される。一般に、生物がどのように環境に適応しているかを明らかにする生理生態学では、まず生物の自然環境下における状態を把握する必要がある (Bayne 1976)。しかし、深海に生息する生物は自然状態である低温・低酸素・高圧条件下での観察が非常に難しく、飼育も困難であることから、基礎的知見が未だ不足している。一方、血液循環や心臓を可視化して、その拍動・周期を定量的に把握することは、深海生物の環境適応を考える上で非常に重要である。

従来、二枚貝類の心拍動の測定には、微小電極を刺入する impedance pneumography 法や殻を開け心臓活動を直視下で測定するなどの侵襲的方法がとられてきた。しかしこの方法は、熟練した技術を必要とし、測定を行う生物を傷つけてしまう問題点がある。一方、核磁気共鳴画像法 (MRI) は、生体の水分子の核磁気共鳴信号を捉え、生体内部の情報を画像化する非侵襲的な手法であり、高解像度かつ高時間分解能の連続画像により各臓器の機能を視覚的に理解することが可能である。従来、医学の分野で多く用いられてきたが、近年では、頭足類や甲殻類などの生理学的な研究にも用いられている。しかし、二枚貝類を生かしたまま海水中で観察可能な機器はなかったため、まず、浅海種であるムラサキイガイを用いて MRI の有用性を検証し、MRI を用いて心拍を記録する方法を確立した。

次に、深海化学合成生態系の代表的な二枚貝類であるシロウリガイ類とシンカイヒバリガイ類の心臓を観察し、心拍動・心周期を測定した。その結果、いずれの心臓も二心房一心室で、シロウリガイ類では、浅海性のムラサキイガイと比べて、心室の壁が厚いという特徴があることが明らかになった。また、①心拍動に大きく3つのパターン (整脈・不整脈・心停止を伴う拍動) があること、②従来、病的な要因のみで起きると考えられてきた「心停止を伴う拍動」が二枚貝類の生理的な反応の一つであることが示唆された。いずれの種の心停止でも、突然心拍動が止まり、突然動き出すことが確認された。二枚貝自身が心停止を制御していると考えられるが、そのメカニズムは明らかではない。さらに、シマイシロウリガイでは、足の運動に伴い心停止が起きることが明らかとなった。

### ■第3章 赤外プレチスモグラフィ法を用いた二枚貝類の心臓活動測定

第2章にて、二枚貝類には多様な拍動パターンがあることが明らかとなった。しかし、その全体像を捉えるためには、短時間の測定だけでは不十分である。核磁気共鳴画像法（MRI）を用いた測定方法では、長時間の測定が技術的に難しいこと、飼育現場での測定実験や船上での測定実験、さらに、深海の生息現場に持ち込むことが非常に難しいため、長期の心拍測定が可能で、将来的に飼育現場や船上実験、深海の生息現場に持ち込める、心拍測定方法が求められる。

近年になり、赤外線を用いた非侵襲的方法が開発され（Curtis et al. 2000）、浅海性二枚貝類で多くの研究が進められている。イガイ類では、毎分17拍の周期的な拍動と、最大3時間心拍を止めた後で再度拍動する不規則な拍動の2タイプの心拍動が報告されている（Curtis et al. 2000）。さらに、多様な波形パターンも得られている。しかし、二枚貝の殻の外側から心臓の鼓動と関連していると思われる運動を間接的に記録する赤外プレチスモグラフィ法（IRP）では、得られた多様な拍動パターンを実際の心臓の運動と関係付ける事が難しい。

そこで、本研究では、まずムラサキイガイを用いて、MRI法とIRP法で心臓活動を同時に記録し、IRP法による波形データと心臓活動を対応づけた。次に、研究船や水族館で使用できる様に、装置や実験系をポータブルパッケージ化した。ポータブルパッケージ化した装置および実験系を用いて、船上で深海より採集した直後から下船後5ヶ月間に渡り、シチヨウシンカイヒバリガイの心臓活動をIRP法で測定した。さらに、シマイシロウリガイを対象に、世界で初めて深海性二枚貝類の心臓活動を採集直後からの長時間連続測定することに成功した。その結果、個体の状態が悪化し、死に至るまでの過程で心拍パターンの変化が捉えられた。特に「整脈」と「不整脈」の割合が二枚貝類の状態変化のパロメーターとして利用できる可能性が示唆された。

### ■第4章 総合考察

深海生物の飼育展示に関しては、世界各地の水族館などで飼育方法の確立が模索されている。しかし、特に二枚貝類の状態変化を捉えることは外見から判断することが非常に難しいため、飼育条件の検討はある特定の条件下での個体の生死を基準とするしかなかった。そこで、本研究ではこの問題を解決するため、循環系の中でも特に「心臓」および「心拍動と心周期」に着目し、その変化が二枚貝類の体調変化の指標となることを示した。深海生物を採集する機会は非常に限られているため、生物を傷つけない非侵襲的な心拍測定方法は、水族館での飼育展示中でも行えること、さらに生理的な実験や飼育への応用を考えても有用性の高い手法である。今後、より多くの種の心拍データを蓄積することで、外見からは体調変化がわからない深海性二枚貝類の飼育において、飼育条件の検討や良好な状態の維持などに、本研究で確立された心拍測定手法が役立つものと考えられる。さらに将来、深海性二枚貝類の生息環境での心拍測定への応用が期待される。