

博士論文（要約）

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)

瀬尾 絵理子

—目次—

要旨

第 1 章. 序論

- 1-1. はじめに
- 1-2. 循環の構成と機能
- 1-3. 心臓
 - 1-3-1. 二枚貝類における心臓構造の多様性
- 1-4. 血管系
 - 1-4-1. 閉鎖血管系
 - 1-4-2. 開放血管系
- 1-5. 心拍測定
- 1-6. 飼育への応用
- 1-7. 心拍の測定方法
 - 1-7-1. 侵襲的心拍測定法
 - 1-7-2. 非侵襲的心拍測定法
- 1-8. 深海化学合成生物群集
- 1-9. 本研究の目的

第 2 章. 核磁気共鳴画像法 (MRI) を用いた二枚貝類の心臓活動測定

- 2-1. MRI による二枚貝類の心血管機能測定法の開発
 - 2-1-1. 材料
 - 2-1-2. 方法
 - 2-1-2-1. MRI のセッティング
 - 2-1-2-2. MRI による心拍数測定
 - 2-1-2-3. MRI による心血管系の構造観察
 - 2-1-2-4. MRI による循環および心臓の容積変化と駆出率
 - 2-1-3. 結果
 - 2-1-3-1. MRI を用いたムラサキイガイの心血管系の構造観察
 - 2-1-3-2. MRI を用いたムラサキイガイの循環の観察
 - 2-1-3-3. ムラサキイガイの心臓の容積変化と駆出率
 - 2-1-3-4. 二枚貝類の循環仮説の検証
- 2-2. 深海性二枚貝類の心拍動測定
 - 2-2-1. 材料
 - 2-2-2. 方法
 - 2-2-3. 心臓の解剖学的構造
 - 2-2-4. 心拍動の多様性
 - 2-2-5. 採集から 1 週間のシマイシロウリガイの心拍動の変化
 - 2-2-6. シマイシロウリガイにおける心拍動と足の運動

第3章. 赤外フォトプレチスモグラフィ法 (IR-PPG) を用いた二枚貝類の心臓活動測定

3-1. IR-PPG 波形と MRI 法による心臓活動との対応

3-1-1. 材料

3-1-2. 方法

3-1-2-1. IR-PP のセッティング

3-1-2-2. MRI のセッティング

3-1-3. 結果

3-1-3-1. ムラサキイガイの整脈における IR-PPG 波形との対応

3-1-3-2. ムラサキイガイの不整脈・心停止における IR-PPG 波形との対応

3-1-3-3. IR-PPG のアーティファクト波形

3-2. 深海性二枚貝類の長期間連続心拍測定

3-2-1. 材料

3-2-2. 方法

3-2-3. 結果

3-2-3-1. IR-PPG 波形

3-2-3-2. 採集直後のシチヨウシンカイヒバリガイの心拍数変化

3-2-3-3. 採集2ヶ月後のシチヨウシンカイヒバリガイの心拍数変化

第4章. 総合考察

4-1. 核磁気共鳴画像法による解剖学・生理学的成果

4-2. シマイシロウリガイの足の動きと関連した心臓活動

4-3. 赤外フォトプレチスモグラフィ法による心拍測定とその課題

4-3-1. 整脈、不整脈、心停止の定義とその難しさ

4-4. 飼育への応用

4-5. 結語

謝辞

引用文献

Appendix 1. 3D MRI と組織切片画像との対比

Appendix 2. モデル解析による二枚貝類の循環仮説の検証

Appendix 3. Magnetic resonance imaging analysis of water flow
in the mantle cavity of live *Mytilus galloprovincialis*.

要旨

近年、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の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。このように、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。しかし、深海生物の生理学的な基礎情報は不足しており、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断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、心拍動や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生理状態の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。

核磁気共鳴画像法 (MRI) を用いた二枚貝類の心臓活動測定

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方法がとられてきた。しかしこれらの方法は、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、生体の水分子の水素核の核磁気共鳴信号を捉え、画像化する非侵襲的な手法である。高解像度かつ高時間分解能の連続画像により、生体内部の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 MRI 装置がなかった。まず、解剖学的知見が蓄積された浅海種のムラサキイガイを材料として、二枚貝類専用の測定系を立ち上げ、MRI の測定条件と有用性を検証し、MRI にて心拍を記録する方法を確立した。

次に、MRI を用いて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、生息環境の悪化（空中曝露・水質汚染など）に伴う要因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も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、その詳細な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。併せて、50年以上にわたって未検証であった二枚貝類の循環に関する **constant-volume (CV)** 仮説を検証し、二枚貝類の循環がどのようなメカニズムで生じるのかを明らかにした。

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長時間連続測定に成功した。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バロメーターとして利用できる可能性が示唆された。

赤外フォトプレチスモグラフィ法（IR-PPG）を用いた二枚貝類の心臓活動測定

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。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、MRIを飼育現場や船上、さらに深海の生息現場に持ち込むことは非常に難しい。そのため、非侵襲的手法で、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ような、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である赤外フォトプレチスモグラフィ法（IR-PPG）が開発され、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、規則正しい周期的な拍動（整脈）と、心停止を含む不規則な拍動（不整脈）の2タイプの心拍動が報告されている。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IR-PPG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こ

とが難しい。そこで、本研究では、まずムラサキイガイを用いて、MRI と IR-PPG で心臓活動を同時記録し、IR-PPG 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、シチヨウシンカイヒバリガイの心臓活動を採集直後から 5 ヶ月間に亘り、IR-PPG で測定した。

飼育への応用

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、特に二枚貝類の生理状態の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、ある特定の条件下での個体の生死を基準として、飼育条件の検討をするしかなかった。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。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の可能性があることから、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、飼育条件の検討や良好な状態の維持などに役立つものと考えられる。近い将来、深海性二枚貝類の生息環境での心拍測定への応用も期待される。