

生物資源の有効活用を目指した、特異な食性を有する動物肝臓および特異な土壤環境に生育する植物体に含まれる有用物質の探索

秋吉英雄・秋廣高志（生物資源科学部 生物科学科）

肝臓は動物体を内側から支える最も重要な内臓器官で、有機物質および無機物質代謝の中核器官である。肝臓の実質細胞である肝細胞は、糖・脂質を貯蔵するとともに生体にとって有用な無機物質、脂溶性ビタミン類、金属を濃縮し貯蔵する働きを有する。動物体に必須のタンパク質は、植物体を構成または貯蔵されたアミノ酸より合成されるが、酵素反応による極性化機構は、生体にとって不要な物質を胆道系より体外へ排出させる働きである。

動物の進化における肝臓機能の獲得は、環形動物門の陸生種である貧毛類（ミミズ）にみられる腸管漿膜細胞である黄細胞に起源する。黄細胞はカドミウム等の金属を濃縮して貯蔵する機能を発現している。軟体動物および節足動物では、中腸腺という組織構造が中腸領域の付属腺として発達し（秋吉他, 2002）、金属濃縮機能に加え、陸生種であるカタツムリは胆汁様の排出機能を有すると推察されているが詳細は不明である。アミノ酸組成に関する研究は、有用動物であるアサリ、カキなどの水産学的考察は多くを認めるが、系統発生的な観点および生態学的な観点（生息域・食性）による検討は非常に少ない。

脊索動物門の軟骨魚綱および硬骨魚綱は、器官としての肝臓機能を獲得した動物で、系統発生的な肝臓構築は多様性が認められる（Akiyoshi and Inoue, 2004）。一方、肝臓機能のアミノ酸組成に関する研究は、水産学における商業ベースの魚種に限られており、生物学的な観点より考察した研究報告例はない。

本課題は、自然界に棲息する動物および植物の濃縮機構に着目し、これまでに検索がほとんど行われてこなかった軟体動物、硬骨魚類の肝臓および中腸腺を材料に形態学的手法（光顕および走査型電子顕微鏡）によって詳細に検討するとともに、生化学的手法（アミノ酸分析）によって肝臓（中腸腺）および植物体のアミノ酸組成を解析し、認知症や肥満等、高齢化社会の成人病予防効果を有するとされる有用天然化学物質の探索を試みた。

材料と方法

軟体動物門（30種：多板綱2種、二枚貝綱6種、腹足綱22種）、棘皮動物門4種、原索動物門1種、脊索動物門・軟骨魚綱2種、硬骨魚綱32種（カライワシ下区2種、ニシン骨鰈下区5種、正真骨下区20種）を材料とした。

動物は必ず生きた状態で開腹、肝臓（中腸腺）、筋肉を採取、植物は、葉部、実部を採取しサンプルとした。

光顕（LM）および走査型電子顕微鏡（SEM）

LMは4%パラホルムアルデヒド（0.1MPB pH7.4）、SEMは1.5%グルタルアルデヒド（0.1MPB pH7.4）にて門脈・心臓からの環流または浸漬固定を行った。LMは、アルコール系列によって脱水後、キシレン透徹、パラフィン包埋を行い、4 μ mの切片を作成後、H・E染色、特殊染色（鉄・銀・脂質）を行った。SEMは、OsO₄による二重固定後、導電染色、T-ブチル乾燥、Pd-Ptイオンコーティングを行い日立S4800にて観察した。

アミノ酸分析

サンプルに8%TCAを10倍量加え、ジェット型ホモジナイザーにて粉碎。15000g、20分間、4℃で遠心し、上清を回収。300 μ lの上清に400 μ lのジエチルエーテルを加え懸濁、上清を捨て同液にて再懸濁後、上清を捨て、ドラフト中で約45分間放置しジエチルエーテルを完全に除いた。50℃にて乾固させたサンプルにMQを500 μ l加え再懸濁し、再度乾固した。乾固させたサンプルに150 μ lの0.1N HClを加え再懸濁、限外濾過カラムにサンプルを加え、5000g、30分間、4℃で濾過を行い、フロー画分をアミノ酸分析に供試した。アミノ酸分析装置は日立LaChromEliteを用いた。アミノ酸の検出はニンヒドリンを用いたポストカラム法で行った。アミノ酸分析は1サンプル当たり185分間行った。

結果

軟体動物門の肝臓組織は中腸腺であり、中腸部に開口する腺管構造を有する腺組織である。組織的には管状腺および胞状腺構築を示し、腺細胞は動物種により多様性を有していた。中腸腺間質は陸生種および淡水生息種に観察され、SEMにて結合組織が良く発達していた。オイルレッドO染色で脂肪球、PAS-唾液消化試験で糖質の貯蔵を認めた。鉄を検出するビクトリア青特殊染色では、イボニシをはじめ多くの中腸腺に陽性反応が見られた。アミノ酸分析では、全種において、タウリンが高濃度に含まれていたが、アミノ酸組成は系統学的な位置関係による多様性が認められた。また生態学的な要素である生息域、食性の相違によるアミノ酸組成の傾向に特異性が

認められ、腹足綱では、水生息種、水陸両生、陸生種で明らかな組成の相違が見られた。水生息種であるアメフラシの組成は、単調でタウリン以外は乏しかったが、潮間帯に生息する水陸両生種であるイシダタミ等は、アスパラギンをはじめとしたタウリン以外のアミノ酸を多く認めた。イシダタミは雑食性であるが、マングローブの落葉食性を有するキバウミニナ（水陸両生）は、イシダタミと比較してアミノ酸の種類が豊富で、アスパラギン酸、グルタミン酸、アラニン、グリシン、オルニチン、リシン、アルギニンが高かった。食草であるオヒルギ、ヤエヤマヒルギのアミノ酸組成は、グルタミン酸、アスパラギン酸等を含め様々なアミノ酸が認められ、中腸腺のアミノ酸組成と同じ傾向を示した。陸生種は草食性腹足綱であるサンインマイマイのアミノ酸組成は食草とする植物の組成に非常に良く似ており、グルタミン、アラニン、アスパラギン酸、オルニチン、アルギニン等アミノ酸の種類が豊富であった。

軟骨魚類は脂肪性肝臓で特異なアミノ酸組成を示した。硬骨魚類のアミノ酸組成は、系統発生的な比較を行ってみるとニシン・骨鰈下区の魚種（多くは川魚）はアミノ酸の種類が豊富であった。正真骨下区の魚は多くが有胃魚であるが、アミノ酸組成に多様性が認められた。雑食性であるクロソイはタウリンに加え、グルタミン酸を豊富に認めた。このようなアミノ酸組成の変化はニシン・骨鰈下区のウグイも同様の変化が観察された。生息域では、サンゴ礁域に生息（西表島）する魚種、オキフエダイ、ミナミイソスズメダイ、ゴマモンガラ、メギス等系統的な位置関係とは無関係にアミノ酸の種類は豊富で、グルタミン酸、アラニン、リシンが高かったが、組成傾向は種特異性で多様性があった。硬骨魚類に共通して、肝臓と筋肉とのアミノ酸組成は非常によく似ていた。

考 察

軟体動物の中腸腺におけるタウリンの含有は全般的に高く、種差および個体差を認められなかった事は、進化における軟体動物が獲得した胆汁合成機能または極性化機構が発現している可能性が高いと推察された。一方、軟体動物の腹足綱の動物種間でアミノ酸組成に多様性を認めた事は、食性や生息域の相違による、動物が新たに獲得した肝細胞機能と推察した。しかし、年間を通して、アミノ酸組成を比較することは必要であると考えられる。サンインマイマイ、キバウミニナのような陸上植物を食性とする動物種の中腸腺のアミノ酸組成と食草とする植物の組成が同様の組成パターンを示し、植物体が有する

組成と同様に種類が豊富であった点は、大変興味がある所見と考える。水陸両生種であるキバウミニナ、陸生種であるサンインマイマイで特異的に認められたオルニチンに関しては、軟体動物のある種ではオルニチン回路の存在が示唆された。

軟骨魚類のアミノ酸組成は特異的であった事は、体内の浸透圧調整機構に尿素代謝が関与している可能性が推察され、特異な消化管機能（Inoue and Akiyoshi 2010）、胆汁排泄能が関与していると考えられる。硬骨魚類のアミノ酸組成に関しては、食性に大きく依存していることが推察された。ニシン・骨鰈下区の魚種（多くは川魚）は無胃魚で雑食性である。食物に付着しているバクテリアを殺菌することなく腸にて食物を分解させ、消化管で吸収していると考えられることから、食物中のアミノ酸組成を反映した結果、アミノ酸の種類が豊富であったと考えられる。正真骨下区の魚種のアミノ酸組成に多様性が認められた事も、食性に応じた結果と考える。特に、サンゴ礁域に生息する魚種でアミノ酸組成が豊富であった事は、食物連鎖を反映した結果と推察されるが、組成の傾向は種特異性で多様性があった事は、種差による食性の特異性であると考えられる。

今回焦点をあてた軟体動物中腸腺および硬骨魚類肝臓のアミノ酸研究は世界的にも非常に少なく、系統発生的に生態学的に検討した研究例はない。今回の学部長裁量経費による本研究テーマは、特異な食性を有する動物の内臓および土壌に生育する植物に関して、特にアミノ酸分析による学問的成果に加え、将来的にヒトの疾病および健康維持に関連する応用的側面に発展する可能性があると考えられる。

引用文献

- 秋吉英雄, 井上明日香, 濱名昭弘 (2002) 甲殻類十脚目における中腸腺（肝臓）の系統発生および棲息様式に関連した比較形態学的研究, 島根大学生物資源科学部研究成果報告書, 7:1-8 頁
- Akiyoshi H, Inoue A (2004) Comparative histological study of teleost livers in relation to phylogeny. *Zoological Science*, 21:841-850.
- Inoue A, Akiyoshi, H (2010) An immunohistochemical study of *Carassius* RF amide in the stomach, intestine, and pancreas of the Japanese butterfly ray, *Gymnura japonica*” *Ichthyological Research*, 57:223-230.