

## イモリの宇宙における産卵および受精卵の発生 (ASTRONEWT)

代表研究者： 山下雅道<sup>\*1</sup>

共同研究者： 黒谷明美<sup>\*1</sup>、最上善広<sup>\*2</sup>、浅島 誠<sup>\*3</sup>、小池 元<sup>\*3</sup>、今溝真理<sup>\*4</sup>、  
奥野 誠<sup>\*3</sup>、Carl J. Pfeiffer<sup>\*5</sup>、駒崎伸二<sup>\*6</sup>、佐々木史江<sup>\*7</sup>、  
大平充宣<sup>\*8</sup>、鹿島 勇<sup>\*9</sup>、菊山 栄<sup>\*10</sup>、大西武雄<sup>\*11</sup>、駒田 聡<sup>\*12</sup>

<sup>\*1</sup> 宇宙科学研究所、<sup>\*2</sup> お茶の水女子大学、<sup>\*3</sup> 東京大学、<sup>\*4</sup> 東邦大学、

<sup>\*5</sup> Virginia Polytech. Inst. State Univ.、<sup>\*6</sup> 埼玉医科大学、<sup>\*7</sup> 鶴見大学、<sup>\*8</sup> 鹿屋体育大学、

<sup>\*9</sup> 神奈川歯科大学、<sup>\*10</sup> 早稲田大学、<sup>\*11</sup> 奈良県立医科大学、<sup>\*12</sup> 富士通研究所

The newt egg is a large single cell. The heavier vegetal hemisphere orienting downward by gravity gives a fixed reference of morphogenesis with respect to gravity. Effects of gravity on the early development of Japanese red bellied newt were studied. In this experiment (named as AstroNewt), four female newts were sent to orbit. They were treated by gonadotrophic hormone to ensure egg laying in space and fertilization with sperm stored in their body cavity.

Eggs were laid during the flight. Some of eggs were at the stage of late morula, tail bud, and fore limb formation on MD5 and 12. Morphology of embryo was normal judged by the close up video images. Early developmental process of newt undertakes without gravity. However, at a small sample size and lack of histological survey on embryo, this conclusion can not be generalized further.

During the mission, two newts were lost on MD5 and MD9. In contrast to the flight group, all four ground control newts were kept quite healthy and laid many eggs. Based on AAEU water pressure log, water circulation seemed to be blocked in the cassette after winding egg laying tape on MD4, a day before the newt in it was found lost. Microscopic examination on the two newts that were recovered in alive from orbit revealed many biological effects of space flight. Liver, stomach and lung of flight samples showed pathological changes that were not found in the ground controls.

### 実験の目的、意義

重力は質量に作用することから、大きな質量や比重差がある場合に重力に関係する現象は熱的な散逸を凌駕する。両生類の卵はその発生初期には巨大な細胞であるとともに、軽い動物半球が上方に向く定位回転が受精時に見られる。このことから、生命の基本単位である細胞への重力の支配を明らかにするのに両生類の卵は格好の対象として考えられてきた。宇宙実験の初期から両生類の卵の発生が繰返し取り上げられ、微小重力下でも正常に発生が進む結果が示されてきた。ただし、これらの宇宙実験は地上である程度発生が進行した卵を打ち上げており、受精卵の極めて初期の発生段階から宇宙環境に曝露したものはなかった。一方、過重力を印加する実験などから、重力は第一卵割以前に支配的な働きをしていることがわかってきた。本実験の準備期間中に、Souzaらによりアフリカツメガエルの実験が実施され、第一卵割以前から卵を微小重力に曝露しその後の発生過程が詳しく調べられた。その結果、アフリカツメガエルでは受精を含めた初期発生を宇宙で行わせ

ても、終局的には正常なオタマジャクシに育つことがわかった。これは、受精時の重力による卵の定位回転が胚軸の決定に重要な役割を果たしているとの従来の説を覆す発見として注目された。同じく両生類であるイモリの発生はアフリカツメガエルに比べて約 1/5 の速度で進む。また卵細胞の分化が開始する時期に磁場の強度を変動させると胚の生存率が低下するなど、イモリの卵は環境要因に鋭敏に反応する。このことから、微小重力がイモリの初期発生に大きな影響を与えるか、あるいはイモリの初期発生においても生命の調節能力の強靱さが示されるかを明らかにすることとした。

## 実験の方法と試料

イモリは秋にも婚姻行動を行い、冬眠中精子嚢が雌の体腔内に保持される。春に水温が上昇するとこの精子により受精した卵を産卵することができる。冬眠中の雌イモリを採集してそのまま冷蔵状態で維持し、ホルモン処理すれば受精卵を任意の時に得ることができる。雌のイモリのみを軌道上に送り、ホルモン処理することにより宇宙での産卵を誘発する。受精卵を第一卵割以前から宇宙環境に曝すために、雄イモリや人工受精手段を要しないことが本実験の特徴である。卵および精子を雌イモリにより保持するこの実験系は、生命維持機能を雌イモリそのものに依存するといえる。また、イモリは肺呼吸をするものの潜水状態でも維持できる。このイモリの特性は、微小重力下で難しい気液二相のハンドリングなしに、水棲動物実験装置(AAEU)での実験を可能とした。

イモリの実験では AAEU のアクアリウムパッケージ(AP)のタンク(カセット式水槽)3つを用いた。4匹のイモリを2群に分け、2匹には打ち上げ前に産卵を誘発するのに十分な量のホルモンを投与し、イモリ用のタンク一つに搭載した(地上処理群)。他の2匹には地上で地上処理群の半量以下のホルモンを投与してタンク2つに搭載し、軌道上で産卵の見られない場合にホルモンを追加投与した(軌道上処理群)。これは、打ち上げの延期があると打ち上げまでに多くの卵が産卵される危険性、および軌道上でのホルモン処理の困難さを勘案したものである。イモリには卵を水草の葉に産みつける習性がある。薄いプラスチックフィルムのテープを与えるとテープを卵に巻きつけながら産卵する。打ち上げ前に地上で産卵された卵を識別するため、産卵テープを軌道上で展開し、これに産みつけられた卵を宇宙で産卵されたものと判定できるようにした。

イモリの宇宙での卵の発生はビデオカメラおよびその近接撮影系を用いて記録した。また、宇宙飛行がイモリ成体に与える影響を検索するために、試料回収直後に解剖して各器官を固定した。軌道上での実験と平行して飛行実験装置と同じ装置による地上対照実験が行われ、軌道上での実験操作と同じ操作をこの地上対照群に対して実施した。

潜水状態でイモリに産卵させる本実験の設計は、水温の設定において大きな問題があることが飛行実験装置のライフサポート試験において判明した。ホルモンを投与しても、気液二相で維持して肺呼吸させれば、設定された 25℃であっても産卵する。ホルモン処理をして高い温度で水中に維持すると、処理後産卵が誘発される2,3日で死亡する率が高い。また水温を2℃下げれば顕著に死亡率が減少し産卵率が増大するといった強い温度依存性が見られる。

イモリの幼生は外鰓をもち水中で生活する。鰓が退化し肺が発達するとイモリは陸上にも上がるようになり、また水中に居るときも時折水面に浮上して肺に空気を吸い込む。温度が上昇すると、水中の溶存酸素濃度は低下し、一方イモリの酸素要求量は増大する。二酸化炭素は主に皮膚から排出され、冬眠中は皮膚からの酸素の摂取の割合が高いといわれ

る。イモリは冬眠中ほとんど水中あるいは水底の堆積物の中で過ごす。カエルについては、甲状腺ホルモンの作用により夏季に代謝が二倍ほどに増大すること、低温環境に順応した個体の代謝速度は高いことが知られている。

水中で維持したイモリの死亡の原因が、ホルモン処理により代謝が増大し、呼吸要求が皮膚呼吸能より上回るのか、皮膚呼吸が阻害されて呼吸要求を満たせないのか、あるいはその他の要因によるのかを探るために、イモリの酸素消費量を測定した。冬眠状態から昇温させると、昇温後2日ほどの時定数をもって増大していく。ホルモン処理後のイモリの酸素消費速度は産卵開始まで顕著に増大し、産卵開始後は再び元の値に戻る。産卵誘発時に皮膚呼吸のみでは酸素要求量に不足することが、水中維持時のイモリの死亡の要因の一つであることが示唆された。

また、長時間肺呼吸をさせながら高温状態に適応させたのちにホルモン処理し潜水させれば死亡率は低下することから、温度の変化に対する未適応を死亡原因の一つに挙げることができる。従来から実験に用いてきたイモリは主として寒冷な地方で採集したイモリである。平均気温が高い地方で高温に順応していると考えられるイモリを採集し、特性を比較したが、これらのイモリはかえって高い死亡率を与えた。採集してから実験に用いるまで5℃で維持するため、保存時の低温や大きな温度変動に対して温暖地方のイモリの耐性は低いものと思われた。

過剰なホルモンの投与や、体内ホルモン濃度のピーク値が高いと往々にしてイモリの死亡をもたらす。ホルモンの投与方法の改善のために、徐放する製剤の有効性を住友製薬の協力のもとに検討した。ホルモンを棒状のコラーゲンの中に封入してイモリに投与すると、通常の投与方法に比較して、投与から産卵のピークまでの日数が2-3日遅れ、投与から5日後に産卵ピークを与えること、また産卵継続日数も10-14日と倍増することがわかった。打ち上げ2日前に実施するホルモン処理、および最大3日の打ち上げ延期があっても試料の交換ができないという実験条件に対して、このホルモン製剤は体内のホルモン濃度を低く平滑化することによりイモリの宇宙での産卵を誘発するのに有効であり、イモリの高い産卵率と低い死亡率が得られることを確かめた。

イモリの産卵・生存特性には、地域・季節によって大きな差異がある。冬眠から醒める直前に採集したイモリでは、昇温後直ちにホルモン処理して水中に維持すると死亡率が高い。産卵を誘発させる適切なホルモン量も、それぞれの母集団について定める必要がある。採集時期は晩秋の冬眠直前、冬眠中、冬眠から醒める前とし、採集後の実験室での維持は、水150 mlあたり1匹以下の個体密度で、遮光しながら5℃に保冷し、1週に1度飼育水を交換する方法をとった。

飛行実験装置あるいはこれと同等の装置を用いた実験機能実証試験において、以上の予備的な試験で決定した実験プロトコルを適用し、AAEUでのイモリの産卵・生存が可能なことを確かめ飛行実験にのぞんだ。

## 飛行実験の結果

イモリは、1993年10月より1994年3月にかけて、新潟県、岩手県、鹿児島県において採集し、総計9群を冬眠状態で維持した。9群の中から潜水状態での生存産卵特性の優れた母集団を選ぶ試験を幾度か行い、打ち上げの1月前に約千匹のイモリを二度に分け射場に輸送した。このうち半数は耳石の実験に用いる卵を採卵するためのイモリにあてた。試料の射場への搬入後、コールドルーム内にイモリを収容し、遮光状態で個別飼育容器に1

匹ずつ入れた。個別の飼育容器に1匹ずつ入れることで障害の伝搬を防止し、また週3回飼育水(キシミ・ミネラル水)を交換してイモリに付着する水カビや原生動物により実験系が汚染される危険を低減した。射場でのホルモン投与量決定試験、潜水産卵特性試験、およびホルモン投与方法の実証試験などの結果を参考にして搭載する母集団を選定した。

最終的に選定した飛行実験群は1994年3月に岩手県三陸町の二カ所で採集した221匹の母集団から選び出した。なお、米国PIの実験に供する卵の採卵用には鹿児島、新潟で採集されたイモリが使用された。これらは、産卵率および発生の進行する卵の割合が高い群として評価された。これに対して本実験用の群には高温潜水産卵誘発状態での生存率が高い岩手県で採集したイモリ母集団2つを候補とした。この母集団のなかから打ち上げの9日前に搭載試料候補26匹を選び、冬眠状態から半日に5度ずつ昇温して5日間肺呼吸させながら実験時の温度24℃に順応させた。一度試料がシャトルに載せられてしまってから打ち上げが延期された場合には、最初の打ち上げ予定日の3日後に試料の交換をすることとしていた。このためのバックアップ試料用に、打ち上げの3日前にもう一群のイモリを冬眠状態からさました。

打ち上げの30時間前にNASAへ試料を搭載した装置を引き渡すため、次のような手順がとられた。打ち上げ二日前に第一回選抜群のイモリにホルモン剤を投与し、外傷や活動度、腹の触診、体重などの検査により8匹を選んだ。このうち4匹を飛行装置に、4匹を地上対照用の装置に搭載した。4匹のイモリのうち2匹は産卵を誘発するのに十分な量のホルモン剤を投与して一つのタンクに2匹をいれ(地上処理群)、2匹は産卵誘発のしきい値以下のホルモン剤を投与して1匹ずつ2つのタンクにいれた(軌道上処理群)。装置内での水カビおよび原生動物の繁殖を防止するため、産卵テープは70-60℃の水に浸して滅菌した。生物試料のマラカイトグリーン薬浴が提案されたが、薬浴試験群のイモリに死亡がみられたためこの操作は適用せず、搭載前に毎日飼育水を新しくして汚染を最小限とする手順を適用した。

打ち上げられた(MD0)9時間後に、地上ホルモン処理群のイモリのタンク(Flt A-3)が観察され、二つの卵がすでに産卵されていることが確認された。飛行3日目(MD2)には、軌道上処理群のタンク二つ(Flt A-1 および Flt A-2)が観察され、Flt A-2 タンクではすでに産卵が見られたために軌道上

での追加のホルモン処理は実施しなかった。飛行実験群では3タンク中2つ(Flt A-2 および Flt A-3)に産卵が認められ、ビデオカメラによる卵、胚の記録がなされた。図1にMD2 および MD5 に撮影されたFlt A-3タンクに産卵された卵の画像を、図2、3にMD5 および MD12 に取得されたFlt A-3タンク中のイモリ胚の近接ビデオ画像を示す。MD2でのFlt A-3タンクのビデオ撮影操作では、時間の

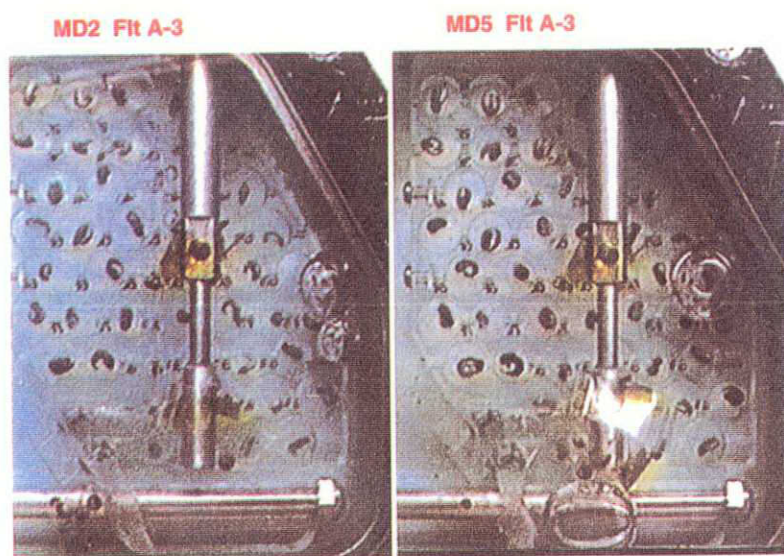


図1 Flt A-3 タンク中に産卵された卵  
MET Day 02 および MET Day 05 に撮像



制約から予定されていた近接撮影はできなかった。図4に、MD5に近接撮影されたFlt A-2タンク中の卵を示す。

親イモリについては、MD5にFlt A-2タンク中の一匹のイモリの死亡が報告され、このタンクはAAEUから切り離され収納された。さらにMD9にもう1匹のイモリ(Flt A-1タンク)の死亡が報告された。このときは死亡したイモリをタンクから取り出し、イモリの胚の入ったタンクをAAEUのAP水ループに復帰させた。

タンク中のイモリおよび冷凍状態で保存されたイモリの死体を受領したのはシャトル着陸後5時間あまりたった時点であった。Flt A-3タンク中で産卵された卵については、発生しなかった卵が回収されたのみで、MD12にビデオ記録されていた発生の進行していた胚はタンク中に発見できなかった。

一方、地上では飛行したAAEUと同じ装置(BBM)を用い、全ての実験操作を飛行実験群に対して4時間遅れで実施した。ただし、シャトルへの積み込み操作や打ち上げ、帰還時に搭載試料が経験した振動や加速度は模擬していない。シャトルへのAAEUの積み込み時には、水循環ループが金魚の実験装置(FP)と一度つながる等の操作がなされた。また、飛行実験装置では、MD5にFlt A-2タンクでのイモリの死亡が確認された後このタンクが引き抜かれたが、地上対照群ではこの操作はタンクの挿抜操作を模擬しただけで、Gnd A-2タンクはAAEU BBMに組み込んだまま対照実験を続行した。



図2 Flt A-3タンク中でMET Day 05に撮像された胚



図3 Flt A-3タンク中でMET Day 12に撮像された胚



生きて回収されたイモリは飛行実験群および地上対照群ともに写真記録、体重測定、マイクロフォーカス管によるX線撮像の後、解剖し、各臓器をグルタルアルデヒド、パラホルムアルデヒドなどで固定、もしくは冷凍保存した。固定した臓器は成体の下顎、脳、眼、脊髄、心臓、肺、肝、胃、腸、卵巣、腹筋、血液、皮膚、脚、尾である。軌道上で死亡した Flt A-1, Flt A-2 については、解凍して、外観、皮膚の色、眼の色、注射(地上および軌道上)位置、体重、体表のカビの有無などを調べた。X線撮像ののち、腹部を開き内臓を観察し、開腹した状態で固定保存した。



図4 Flt A-2 タンク中で MET Day 05 に撮像された胚

## 解析と考察

宇宙でイモリが産卵し、産卵された卵のうちいくつかの卵の発生過程が観察された。宇宙環境下においてもイモリの初期発生は基本的には進行することが示された。初期の卵割パターンの記録や、発生の進んでいた胚を回収して詳しく調べることはできなかったが、取得された画像から、宇宙環境でのイモリ卵の発生が地上とかわりなく進んだか、あるいは形態や発生のタイムコースなどに何らかの変化があったかを調べた。

Flt A-3 タンクの MD2、5、12 に撮像された画像および搭乗実験者の観察から、このタンクの中で発生の進行した卵は MD0 から 2 の間に産卵されたと推定される。MD5 に近接撮像された胚は尾芽胚(発生段階 26)であり、MD12 には発生段階 36 となっている。取得されている画像でみるかぎり、これらの胚の形態に地上でみられる形態と異なる点はない。発生の進行は温度に依存するが、24 から 23℃ の温度範囲での発生のタイムコースから観察された発生の進行は外れるものではなかった。

地上対照群では、イモリ 4 匹全てが生存し、タンク 3 つともに多数の産卵があり、発生の進行した卵の数も多かった。Gnd A-1 には MD5 に 64、Gnd A-2 には 69、Gnd A-3 には 43 の卵が実験中に確認されている。これに対して飛行実験群では、Flt A-2 に 37、Flt A-3 に 9 である。

親イモリの生死という点では、飛行実験群と地上対照群で大きな違いがあった。冷凍状態で軌道上から回収された試料をみると、MD5 に死亡が発見されたイモリ(Flt A-2)の姿勢は四肢を広げ首を上にもたげており、潜水状態で死亡するイモリによく見られる姿勢と異なるものであった。解剖すると、このイモリの輸卵管の径が通常より倍近くになっていた。一方、MD9 に死亡が発見されたイモリ(Flt A-1)には、潜水状態で死亡したイモリによく見



られる腹腔内の出血があった。生きて軌道上から帰還したイモリ 2 匹 (Flt A-3a, b) は、タンクの窓を開けた直後に、異常に活発な運動を示した。これら 2 匹には解剖した時点では特に異常な所見はなかった。飛行実験群および地上対照群の全てのイモリについてホルモン剤は腹腔内に入っており、またホルモン処理により臓器が傷つけられてはいなかった。

回収試料 (Flt A-2) についてみられた輸卵管の膨らみが、産卵誘発時および産卵後の輸卵管の太さの分布範囲にあるのかを調べた。飛行実験群と同一母集団のイモリにホルモン処理し、産卵前後のイモリの輸卵管や卵巣をみたが、輸卵管の太さには個体差が大きいものの Flt A-2 で見られたほどの太さの輸卵管を持つイモリは見られなかった。

また Flt A-2 の頭部の X 線像には耳石の密度の不均衡がみられた。死亡後の試料の保存履歴を模擬した処理を試料に対して加えたうえその X 線像を観察すると、不均衡な像が観察できることから、室温に 1 - 1.5 日放置による変化、その後の凍結により耳胞の膜が破壊したものと推定した。

イモリ成体が宇宙飛行によってどのような影響を受けたか、また 2 匹の死亡要因は何であったかが調べられた。生きて回収された飛行実験群 (Flt A-3a および A-3b) について次のような結果が得られている。

肝臓では細胞死している部分があるほか、オスミウムに親和性の強い顆粒を多く含む OG 細胞 (osmiophilic granulohepatocyte) が図 5 に示すように多く見られた。この顆粒細胞の機能の一つにフリーラディカルを捕捉するという機能が示唆されており、その細胞の密度の

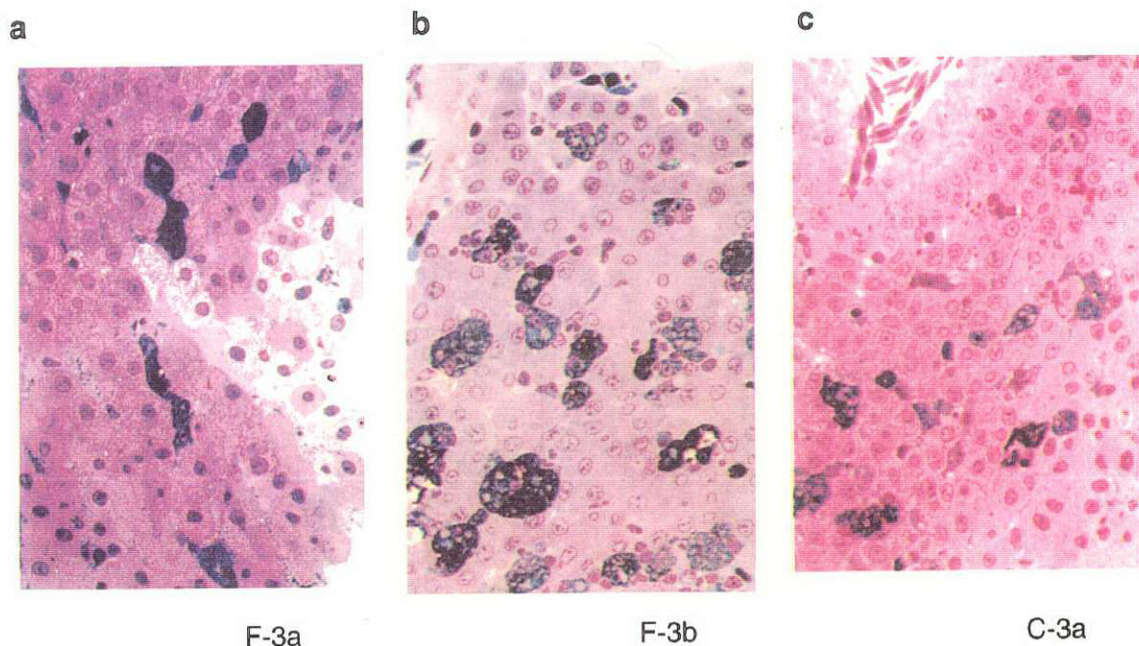


図 5 肝組織の光学顕微鏡像

a: 飛行実験群 Flt A-3a、白く抜けている部分は細胞死の状態、b: 飛行実験群 Flt A-3b、暗色の細胞が OG cell でありその密度が高い、c: 地上対照群 Gnd A-3a、正常な肝細胞の状態、紡錘状の細胞は赤血球 (Pfeiffer)



増加は毒素に対する反応として考えられている。イモリ成体に対して特異的な毒性成分が飛行実験装置の水循環系内に発生・溶存していたか、あるいは他の要因でこのようなOG細胞の変化がもたらされたと推定される。さらに、図6に示すように、肝細胞の核小体の小型化、粗面小胞体の量的な減少と形態変化、ミトコンドリアの形態変化が見られる。これは、肝細胞での蛋白合成系が宇宙飛行により影響をうける可能性を明らかにしたものである。宇宙基地ミールに8日間飛行したニホンアマガエルについて高橋周七らが明らかにした肝におけるタンパク総量の減少とも関連する結果である。

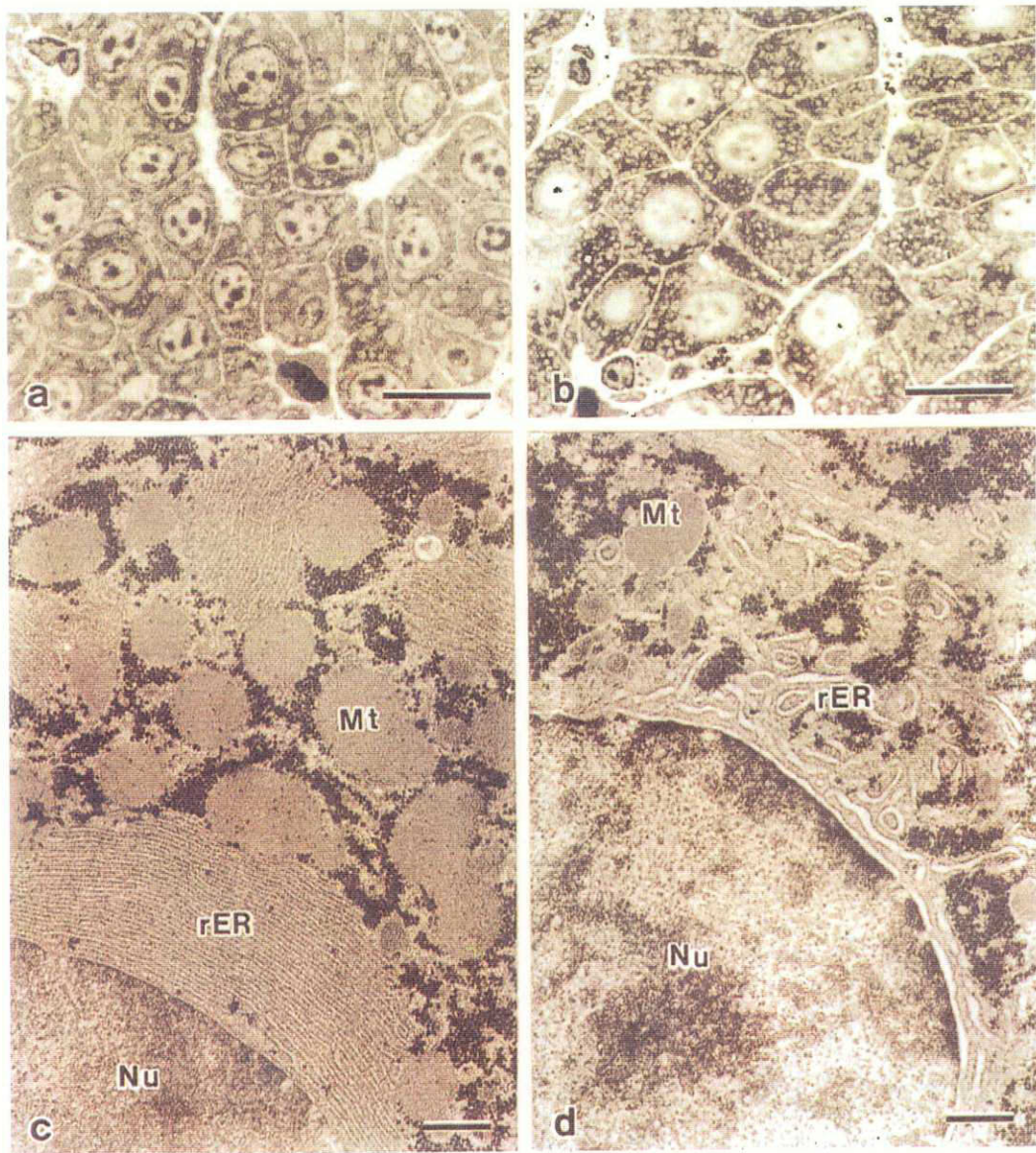
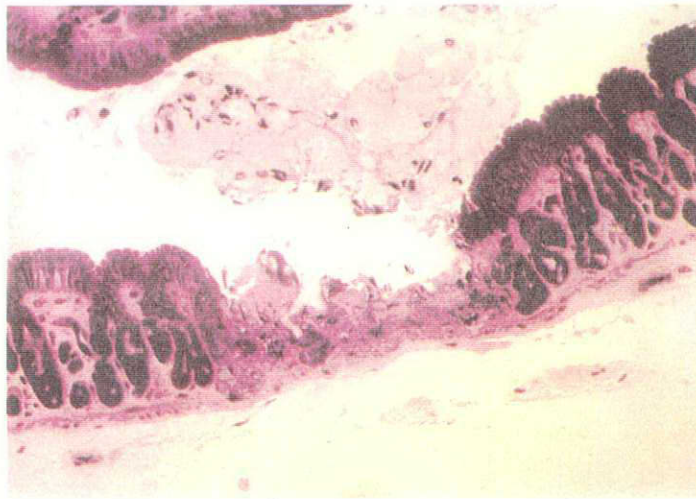


図6 肝細胞内の形態変化

aとcは地上対照群、bとdは飛行実験群の肝細胞を示す。地上対照群ではよく発達した核小体がみられるが、飛行実験群では核小体は小さく見える。飛行実験群では粗面小胞体が量的に減少するとともに、著しい形態の変化がみられる。ミトコンドリアの形態も変化している。aとbのバーは50 μm、cとdのバーは1 μm。Mt; ミトコンドリア、Nu; 核、rER; 粗面小胞体。(駒崎)





F-3a

図 7 飛行実験群 Flt A-3a の胃にみられた潰瘍 (Pfeiffer)

Flt A-3a の胃には図 7 に示すように深い潰瘍や粘膜下に水腫があるなどの病変があった。Flt A-3a および Flt A-3b とともに、腸には病変は見られていない。

肺粘膜の上皮細胞の破壊、脱落が Flt A-3a および Flt A-3b とともにみられ、Flt A-3b では、肺粘膜上皮細胞の microvilli の消失などの形態異常や上皮細胞層の断裂がみられた。図 8 にこれらの細胞の電顕像を示す。Flt A-3b では、肺の毛細血管の異常な拡張がみられたが、これについては地上対照群のうち 2 個体でも同様な変化があった。

骨について X 線撮像したところ、飛行実験群と地上対照群の間で差異はなかった。四肢骨格筋線維のタイプおよびサイズについては、宇宙飛行の影響は検出されなかった。心筋、骨格筋の細胞の細胞小器官の形態変化はみられなかった。心臓における心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) 含有細胞の変化については解析中である。Heat Shock Protein (HSP) の発現量を肝、肢、脊椎についてウエスタンブロット解析したところ、いずれの臓器でも宇宙飛行による HSP の誘導は見られなかった。

生きて回収された飛行実験群 2 個体に特異的に見られた肝、胃、肺における病変は、軌道上での 2 個体の死亡とあわせ、地上対照群とは際だって異なる結果をあたえた。これが宇宙環境への曝露に由来するのか、あるいは他の要因が関与しているのかを判定する上で、次の事項について検討した。

軌道上での AAEU の AP 水圧データの解析によりタンク中の循環水流量がどのように推移したか推定できる。タンクを着脱すると、アキュムレータ部と水循環ポンプ吐出部近くの水圧測定部の間の流体コンダクタンスが増減して水圧が変化する。アキュムレータ部では、スペースラブ内の圧力が水ループに伝達される。水圧の変動の記録から、軌道上でのタンクの着脱操作がどんな時刻に実施されたか、また、タンク部分での流路の閉塞があったか否かを確認できる。循環水の蒸発などにより水量が少なくなると、アキュムレータでのバネの押し圧は小さくなり、水圧は低下する。タンクと同じく水循環ポンプとアキュムレータの間にあるフィルター部に老廃物が堆積したり微生物相が発達してコンダクタンスが低下して測定している水圧は低下する。実験中水圧は、これら二つの要因もあり、長期的には低下していく傾向があった。水圧は、外していたカセットを装着したり、外部から水を補給したときに上昇した。



図 8 肺上皮細胞の微細構造  
 a: 通常のイモリ、矢印は microvilli および glycocalyx、b: 飛行実験群 Flt A-3b、矢印は細胞死の状態、c: 地上対照群 Gnd A-2 (佐々木)



AAEU APについて軌道上で実施された操作に対応させて、外したタンクを水ループに戻したときに圧力が上昇するかを細かい時間刻みの記録から調べてみると、図 9a に示すように、MD4 の 2 時半頃に実施した A-2 タンクを引き出し産卵テープを巻きとる操作の後で圧力の上昇が不明瞭であった。図 9b に MD2 に実施されたタンクの操作に対応した水圧の変化を示す。3 つのタンクについて施された操作に対応した明瞭な水圧の変化が見られる。軌道上実験の手順書には、イモリのタンクを水循環ループから外しておける最長時間を 20 分と規定したが、水がタンクに循環されない状態はイモリにとって累積的にストレスを与える。しかし搭乗実験者には 20 分外しておけると理解されていたことが、図 9b の水圧記録でわかるように A-1 タンクの操作でちょうど 20 分の間このタンクがループから外れていたり、注射してからループに戻されるまで数分かかっていることからうかがえる。

Flt A-2 のイモリ成体は MD5 に死亡しているのが発見され、また回収後にその死体の姿勢が通常のそれと異なっていた。AP 水圧の記録からみると、MD4 に実施した産卵テープの巻きとり操作後に、産卵テープとともに卵が巻きとられタンク内の水流路を塞いだ、あるいはタンクのクイックディスクコネクタの差し込まれ方が不十分であったことにより、A-2 タンク部のコンダクタンスが低下してこのタンクへの循環水流量が低下し、イモリを衰弱させた可能性がある。

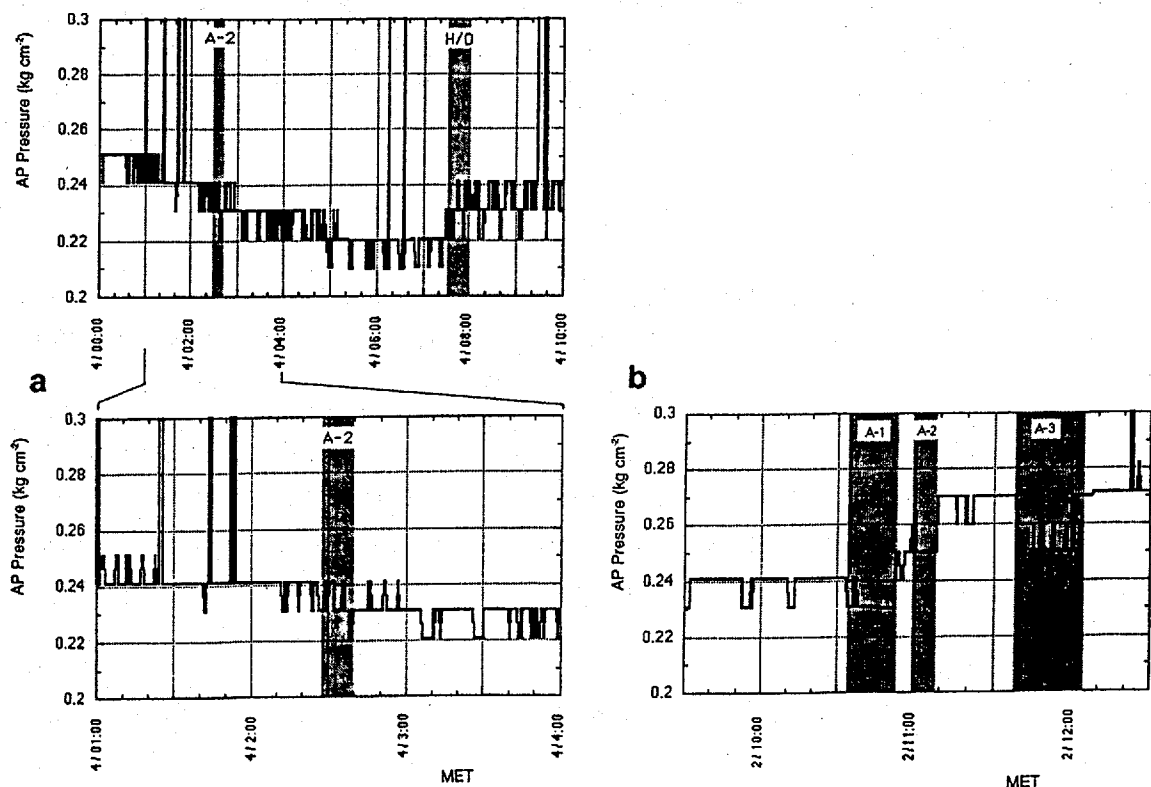


図 9 AAEU アクアリウムパッケージの水圧変化からみた飼育水循環流路のコンダクタンスの履歴

値が上方の枠に達する部分はデータの欠損している部分

- a: MET 4day における水圧の履歴。02:28 ころに A-2 タンクが引き出され、産卵テープの巻きとり操作が実施された。A-2 タンクが循環水ループに戻された時の水圧の上昇が不明瞭である。07:30 から 08:00 がハンドオーバーの時間帯。
- b: MET 2day における水圧の履歴。10:33 に A-1 タンク抜き取り、10:49 にホルモン注射、10:53 に循環水ループへ戻している。10:59 に A-2 タンク抜き取り、産卵していたために注射せず 11:08 に水ループへ戻した。11:38 に A-3 タンクを抜き取り、ビデオ撮影後 12:04 に水ループへ戻している。いずれの操作においても水ループにカセットを戻したときの水圧の上昇が記録されている。

イモリへの宇宙飛行の効果を結論するには、地上対照実験がいかに飛行実験装置と宇宙環境という点を除いて同等だったかが問題となる。アクアリウムパッケージ(AP)やそのタンクそのものの設計は飛行装置(FM)と地上対照実験用(BBM)は同じであるが、水循環系の熱交換器部分や配管、ポンプなどにいくつかの相違があった。飛行実験時の地上対照実験に用いたBBMではタンク内の水圧が高く、タンクの窓が膨れるほどであった。FMのタンクには大なり小なり気泡があったのに対して、地上のBBMでは気泡はタンク中に見られなかった。このようなタンク内の気泡の有無については、飼育水の循環路内の圧力分布の相違に起因すると推定した。空気の圧力の高い場所で水に空気が溶解し、流路の水圧の低い部分で溶けていた空気は溶脱して気泡を形成する。人工肺部の気体側圧力とタンク中の圧力は、FMでは前者が高く、BBMでは逆であったために起こったと考えられる。またBBMは多数回の試験で用いられたが、FMは寿命管理等の制約から試験回数も少なく、このような装置の履歴が生物適合性に影響していたかもしれない。

これらの要因についてFMおよびBBMをともに地上で運転する飛行後の対照実験により検討した。この対照実験は飛行実験と同一季節に実施されたものではないが、FMおよびBBMともに産卵が見られた。飛行群のイモリ成体試料に特徴的に見られた病変部位を中心に、飛行後対照実験で得たイモリ成体試料について検索中である。現在までのところイモリの肝などでFMおよびBBMで飼育された試料の間で系統的な差は見いだされていない。この結果は、生きて回収された飛行実験群2個体の肝などで見られた変化が微小重力環境への曝露をはじめとする宇宙飛行の影響であると示唆するものである。

## 結論

イモリの宇宙での産卵がみられ、受精卵をその発生初期から宇宙環境に曝して重力の発生におよぼす影響をさぐることができた。イモリの初期発生は、本実験で観察されたかぎりにおいては、宇宙環境においても進行し、胚の外観形態や発生のタイムコースに地上でのそれらと異なるところはなかった。胚軸の決定など発生の基本的ステップは重力の無い環境においても進むことがイモリにおいても示された。

イモリ成体への宇宙飛行の影響は、飛行実験群と地上対照群の間の死亡率の差、および生きて回収された飛行実験群2個体の肝、肺、胃で見られた病変においてみることができるとは、しかし、被験個体数の少ないため断定的な結論は下せず、またこれら飛行実験群に特異的にみられた変化が死亡したイモリと循環飼育水をしばらく共有していたことからする二次的な影響であることを否定することはできない。肝細胞で見いだされた変化は、宇宙飛行したカエルの肝で得られた結果とも関連するものであり、今後の宇宙実験の課題を示すものである。

## 外部発表

- 1) Wiederhold, Michael L., Larsen, K., 山下雅道, 黒谷明美, 小池 元, 浅島 誠, 長岡俊治. Developmental Changes in the Vestibular System of Imori. 第9回宇宙利用シンポジウムプロシーディング(1992). 127-131.
- 2) 山下雅道, Wiederhold, Michael L., 黒谷明美, 小池 元, 浅島 誠, 最上善広, 奥野 誠, 河崎行繁, 駒田 聡. イモリ宇宙実験の予備実験. 第9回宇宙利用シンポジウム



- プロシーディング(1992). 132-134.
- 3) 小池 元, 中村貢治, 西村光輔, 黒谷明美, 山下雅道, 鹿島 勇, Wiederhold, M. L., 浅島 誠. 日本産アカハライモリの胚発生における耳石の形成. 第10回宇宙利用シンポジウムプロシーディング(1993). 92-95.
  - 4) 今溝真理, 小池 元, 最上善広, 黒谷明美, 山下雅道, 長岡俊治, 吉田光孝, 浅島 誠. イモリの宇宙での産卵. 第10回宇宙利用シンポジウムプロシーディング(1993). 49-52.
  - 5) 今溝真理, 小池 元, 最上善広, 黒谷明美, Wiederhold, Michael L., 長岡俊治, 山下雅道, 浅島 誠. イモリは宇宙で産卵できるか. 宇宙生物科学. 7, 256-257 (1993).
  - 6) 小池 元, 中村貢治, 西村光輔, 山下雅道, 鹿島 勇, Wiederhold, Michael L., 浅島 誠. イモリの胚発生における耳石形成. 宇宙生物科学. 7, 254-256 (1993).
  - 7) 山下雅道, 黒谷明美, 最上善広, 浅島 誠, Wiederhold, M. L. IML-2 における AstroNewt 実験. 第39回日本宇宙航空環境医学会総会予稿集(1993). 29.
  - 8) Mogami, Y., Imamizo, M., Yamashita, M., Izumi-Kurotani, A., Wiederhold, M. L., Koike, H. and Asashima, M. AstroNewt: Early Development of Newt in Space. *Adv. Space Res.* 17, (6/7)257- (6/7)263 (1994).
  - 9) 山下雅道, 黒谷明美, 今溝真理, 最上善広, 奥野 誠, 小池 元, 浅島 誠. 「宇宙におけるイモリの産卵と受精卵の初期発生」の実験運用. 宇宙生物科学. 8, 210-211 (1994). (宇宙生物科学会第8回大会プロシーディング)
  - 10) 山下雅道, 黒谷明美, 今溝真理, 最上善広, 奥野 誠, 小池 元, 浅島 誠. IML-2 におけるイモリ実験運用. 第11回宇宙利用シンポジウムプロシーディング(1994). 13-16.
  - 11) 今溝真理, 吉田光孝, 藤岡敬治, 高田義博, 黒谷明美, 山下雅道. 徐放性ホルモン製剤のイモリ宇宙実験への適用. 第11回宇宙利用シンポジウムプロシーディング(1994). 127-130.
  - 12) 山下雅道. IML-2: イモリを用いた宇宙実験. *IN SPACE '94 前刷集*(1994). 23-29.
  - 13) Imamizo, M., Yoshida, M., Fujioka, K., Takada, Y., Hisada, A., Izumi-Kurotani, A. and Yamashita, M. Sustained Release of hCG Minipellet for Newt Experiment in Space. *Biol. Sci. in Space.* 8, 226-230 (1994).
  - 14) 佐々木史江, 西川純雄, 平田純子, 高橋祐次. IML-2 AstroNewt 肺の細胞学的解析. 第12回宇宙利用シンポジウムプロシーディング(1995). 12-15.
  - 15) 山下雅道, 黒谷明美, 長岡俊治. 微小重力下での気泡の挙動: 水棲動物実験装置によるイモリの IML-2 宇宙実験. 日本マイクロ重力応用学会誌. 12, 150-156 (1995).
  - 16) Pfeiffer, C. J., Yamashita, M. and Asashima, M. Cytopathologic Observation of the lung of adult newts (*Cynops pyrrhogaster*) onboard the Space Shuttle, during the Second International Microgravity Laboratory experiments. *J. Submicroscopic Cytol. Pathol.* In press (1995).