

無重力順応過程における視 - 前庭性姿勢・運動制御の研究

代表研究者：森 滋夫	(名古屋大学環境医学研究所)
協同研究者：御手洗 玄洋	(名古屋大学名誉教授)
高林 彰	(藤田保健衛生大学)
高木 貞治	(名古屋大学環境医学研究所)
臼井 支朗	(豊橋技術科学大学)
中村 哲郎	(豊橋技術科学大学)
榊原 学	(東海大学)
長友 信人	(宇宙科学研究所)
R. J. von Baumgarten	(ドイツ、マインツ大学)

要 旨

“宇宙酔い”のメカニズムとして有力視されている「感覚混乱説」に実験的根拠を与えることを目的として、正常鯉、前庭摘出鯉それぞれ1匹をスペースシャトルに搭載し、飛行中7日間、1日2回、各10分間の背光反応行動(魚の光に背を向けようとする性質)と小脳脳波を記録、解析した。

正常鯉では、背光反応が飛行開始後の3日間著しく乱れ、4日目、5日目には回復した。この回復過程は背光反応の傾斜速度の変化として特徴づけられた。また、小脳脳波が、行動の乱れの強い2日目と回復を始めた4日目で大きく変化した。すなわち、視覚と前庭(耳石)性の感覚運動の統御機構が2日目をピークとして混乱が生じ、4日目には回復を始めること、また、この順応に小脳が大きく関わっていることを示唆した。一方、打ち上げの2ヵ月前に耳石摘出され、他の重力受容器で代償し普通に泳げるようになっていた前庭摘出鯉では、飛行の2日目に正常鯉と同様に背光反応に著しい乱れが生じた。すなわち、前庭以外の感覚性代償も無重力下では混乱が生じることを示した。この鯉では、3回目テスト(2日目)から脳波導出用ケーブルに強い‘よじれ’が発生し、以後の光依存性の行動観察が不能となった。

以上の結果は、宇宙酔いの感覚混乱説を支持するものであり、そのメカニズム解明に魚が有用な実験材料となり得ることを示した。

また、実験終了後、両鯉とも体重減少が著しく、容器水の亜硝酸、硝酸濃度が異常に高い値を示したことから、飛行中、鯉の代謝が著しく昂進していたものと考えられた。

## 序 論

宇宙飛行士の2人にひとりが宇宙酔いに悩まされている。地上の‘車酔い’や‘船酔い’（動揺酔いと呼ばれる）との間に相関がないことから発症のメカニズムが異なると考えられている。

我々は、ふだん無意識に姿勢のバランスを保ち歩行や運動ができる。それは、視覚情報や足底、筋肉、関節などからの体性感覚情報、および内耳にある重力受容器（耳石器官）からの前庭感覚情報を脳の中枢で無意識に処理し、ほとんど反射的に手足を動かす制御機構を持っているからである。その修得には小脳が重要な役割をはたすと考えられており、その制御は巧妙に組まれたコンピュータのプログラムによく例えられる。

ところが、このプログラムは地上の1 G環境下で働らくように組まれており、無重力下では、個々の器官は正常に機能しても、中枢にもたらされた情報は、かつて経験したことのないものであるため混乱がおきてしまいう。そこで、プログラムを2～4日かけて宇宙の0 G用に書き換える必要が生じることになり、その間、地上の動揺酔いと同様な症状が出現してしまう。これが現在、宇宙酔い発症のメカニズムとして考えられている最も有力な説であり、「感覚混乱説」と呼ばれている。しかし、これに関する宇宙実験はまだ少なく、この説を支持するような実験的証拠の集積が求められている。

魚は、水の中で姿勢を保つために、前庭器官や視覚はヒトに劣らずよく発達している。魚の側方から光を照射してやると光に背を向ける方向に傾斜する（背光反応 dorsal light response: DLR）。その傾斜の大きさは、光の強さと重力の大きさに依存することが古くから知られており〔1-3〕、実際、耳石を摘出したり、飛行機による放物線飛行中の微小重力下では、まったく光のみに依存した姿勢をとる。すなわち、魚の平衡調節行動は主に視覚と前庭感覚（ここでは耳石による重力感覚）により制御されていることになる。また、この制御には小脳が強く関与することがわかっている〔4-7〕。

もし、感覚混乱説が正しければ、無重力下では、この魚の背光反応にも混乱と回復の過程が見られるにちがいない。また、それに対応して、小脳活動に変化がみられるであろう。これが今回の宇宙実験の実験仮説であった。宇宙実験では、あらかじめ耳石を除去した鯉一匹と正常な鯉一匹に小脳から脳波をとれるようにし、スペースシャトル飛行中の7日間、1日2回、図1に示すようなテストを繰り返し、光応答性と脳波を記録し、あとから解析された。

別の興味として、今回、水生動物用の本格的な宇宙実験装置を世界で初めて完成させており〔7、8〕、大型魚2匹を2週間以上、健康に維持できることを検証することも目的の一つであった。

## 実験方法

### 1. 搭載鯉

搭載された鯉（*Cyprinus carpio*, Japanese Koi）は、弥富（名古屋近在）産の2歳の錦鯉である。産卵により生命維持装置の酸素供給膜の機能が低下することへの対策と

して、まだ未成熟で産卵能力のない2歳鯉を対象とした。通常、2歳鯉は体がまだ小さく被験体として適さないのであるが、弥富養魚場の協力を得て、今回の実験のため特別に飼育、成長を促進した鯉が準備された。最終的に飛行した鯉は、前庭摘出鯉（26 cm、270 g）、正常鯉（26 cm、263 g）各1匹である。ともに小脳体部の背側前方中央と頭骨に置いた銀ボール電極から頭部に装着した小型前置増幅器を介して脳波を有線で外部に導出できるようにした。

## 2. 鯉用宇宙実験装置（前庭機能実験装置 V F E U）

鯉用宇宙実験装置は、研究者側の基礎的データをもとに最終的に三菱重工・神戸造船所が製作し、前庭機能実験装置（略称 V F E U）として宇宙開発事業団へ納められた（図2）。V F E Uは以下の機能を満足すべきものであった。

- 1) 体長約25 cmの鯉2匹を無重力環境で2週間以上、“健康”に維持できること
- 2) 鯉収納部（Fish Package; F P）はカセット式で前面より脱着可能であること
- 3) 鯉の脳波を定められた仕様で増幅できること
- 4) 鯉に、上面および側面から交互に、定められた周期で一定時間、照明可能なこと
- 5) F P前面の窓を通して鯉の観察、T Vカメラで1匹ずつ撮影可能なこと

V F E Uは、本体部と2個のカセット式F Pから構成されており、本体には、脳波増幅器、F P内の鯉を上、横方向から光照射するランプ、およびこれらの制御部が納められ、前面パネルに操作スイッチが配置された。また、片方の鯉が死亡した場合にも、もう片方の鯉の実験が継続できるように、それぞれの系が独立して作動するようにされた。さらに、水洩れ検出器、水温、水回路圧のモニターセンサーからなる安全機構が備えられた。

F Pは、後部に取り付けられている入出水回路用脱着コネクターにより本体から切り放すことができ、またこれらのコネクターを連結し、電源を供給すれば、F Pだけで鯉の生命維持が可能であった。すなわち、V F E Uの生命維持機構は全てF Pに附属させてあった（図3）。スペースラブには予め実験装置本体が組込まれており、F Pをこのような構成とすることにより鯉の搭載を容易にした。水温の調節だけはスペースラブが備えるアビオニクス・水ループの利用により20-25℃に維持可能とされた。

1個のF Pは、鯉と水フィルターが入る円筒、水循環ポンプ、酸素供給ユニット、水補給槽から成り、水容量が約4.5リットルの閉鎖水路系である。酸素供給ユニットは、心臓手術用の人工肺（小児用、細チューブ型）とエアポンプから構成され、人工肺は全表面積が約1.6m<sup>2</sup>で、毎分1-1.5リットルの水流があれば、鯉存在下で溶存酸素分圧を110 mmHg以上に維持可能であり、計算上、体長25-30 cmの鯉4匹に酸素を供給できる能力がある〔8〕。鯉の容器は、内径12 X 30 cmの円筒であり、その円筒の後部に水フィルターが用意された。水フィルターは不織布、活性炭（約150 g）、ゼオライト（約300 g）を層状に重ねたものである。鯉の容器内の水圧をできるだけ常圧とし、人工肺にかかる圧をできるだけ抑え、また、人工肺からの水の蒸散を補給するためにベロース型水補給槽が用意された〔9〕。

水フィルター材料の予備テスト、V F E Uの生命維持機能予備テストの結果を、それぞれ図4、表1に示す。

### 3. 鯉の耳石摘出

打ち上げの約2-2.5カ月前、体長約25 cmの錦鯉をMS222 (2-aminobenzoate methane sulfonic acid salt) 1万倍希釈水の麻酔下で固定し、頭骨に開けた小孔からピンセットにより両側耳石を摘出(三半規管も損傷されているので厳密には前庭摘出)。術後2日間、抗生物質(テトラサイクリン筋注及び飼育槽内にニトラフラゾン)で加療したのち、養魚場プールへ移した。ケネディ宇宙センター(K S C)輸送用、民間支援によるフロリダ・バックアップ・プールへの輸送用として各15匹を用意するため60匹の耳石摘出手術を予定したが、皮膚病発生のため100匹を越える手術が必要となった。

### 4. ケネディ宇宙センターにおける準備作業

1992年4-5月にK S Cで実施された第2回目リハーサルのため設置された水量1トンのプール2個を、そのまま生物学的に安定化した状態を維持し、本番にも利用された。打ち上げの約1ヵ月半前には、このプールに耳石摘出鯉、正常鯉それぞれ15匹が用意されたのであるが、皮膚病のため衰弱するものが続出し、フロリダ支援プールからの補給を得て辛うじて匹数が整った。以後も皮膚病の治療は最後まで継続された。

小脳脳波導出のため、ガラス細管に包埋した銀ボール電極を小脳体部吻側中央部に、不関電極を頭骨に埋め込み、さらに頭部前方に外部導出ケーブルのついた小型前置増幅器が装着された。手術はMS222麻酔下、プロカイン局麻剤利用下で、細菌汚染に最大限の注意を払いながら、1日2匹のペースで進められたが、途中、鯉飼育装置への電源遮断で7匹が死亡するアクシデントがあり、結局、3週間をかけて正常鯉、耳石摘出鯉各8匹の搭載候補が準備された。

脳波記録状態、行動観察を断続的に続け、最終的に搭載鯉2匹とそのバックアップ鯉2匹が選ばれた。最終選抜では、安定な脳波記録、食欲旺盛、良好な皮膚の状態を主要判断項目とした。

打ち上げの2日前、最終選抜された2匹の鯉は軽い麻酔下で体重を測定、搭載用鯉容器F Pに封入し、宇宙実験装置と同等機能を有する装置(Fish Package Driving Unit ; F P D U)に保管された。これら2つのF Pは、打ち上げの24時間前までにN A S A側に引き渡された。

### 5. 飛行前、中、後のデータ取得

F P内の鯉は、ふだん容器上方より10ルクス程度で弱く照明されており、各テストのとき、上方、側方から交互に20秒間ずつ10分間、約600ルクスで照明され、その間、容器前方の窓からビデオカメラで鯉の光応答行動(D L R)がV T Rに記録され、主増幅器を介して脳波がデータレコーダに記録された。地上ではF P D U、飛行中はV F E Uが利用された。飛行中、行動記録は搭載されたV T Rシステムにより、脳波はダウンリンクされて地上で収録された。

データは図5に示すごとく、飛行前データを打ち上げの2日前に1回、飛行中12回、

飛行後9回取得された。図中、K S Cの夜間（夕方6時から次の朝6時まで）を陰影部、データ取得時を▲印で示したが、飛行中のデータもK S Cの昼間に対応する時間に取得されたことがわかる。

飛行は、当初7日間が予定されていたが、飛行の途中で1日間の延長が決まった。鯉テストの追加を要求したが実現しなかった。

飛行後テスト終了後、鯉を麻酔安楽死させ、頭部は脳組織標本作成のため10%フォルマリン液に保存、体部の新鮮筋肉サンプルが大平充宣氏（鹿屋体育大）により採取され、残り組織は水谷 広氏（当時、三菱化成生命科学研究所、現在、石巻専修大）の元素分析のため冷凍保存された。

また、F P容器の水につき直ちに、p H、アンモニア、亜硝酸塩、硝酸塩、電気伝導度の測定をバイオテックス（K S C / L S S F）側へ依頼した。これらの項目はプールの維持管理のため定期的計測を依頼していたものである。市販の水質検査キットが用いられた。

## 6. データ解析

光の照射方向切り替わりに対する鯉の光応答は、再生ビデオ画像から直接測定した。分度器にポテンシオメータを取り付け、ブリッジ回路を介してその角度変化を電圧変化としてチャートレコーダに記録できるようにしておき、さらに、この分度器を平行四辺形のフレキシブルに動くアームの先端に取り付けることによって、ビデオ画面上を自由に動かせるようにした。また、ビデオ再生速度を標準の1 / 3に遅くすることによって、鯉の傾斜変化をできるだけ正確に追従できるようにした。

鯉が手前に向いているときは、両目の下縁を結ぶ線から傾斜を読むことによって高い再現性を得たが、尾が手前のときには手がかりがなく、鯉躯幹の縦軸から読むようにしたが再現性は悪かった。また、この場合、照射される目が異なることもあり、参考データとして取り扱うことにした。さらに、脳波用ケーブルが光応答を明らかに邪魔していると判断できるケースがあり、これはデータから省いた。

反応の傾斜速度の算出には、得られた反応曲線が最もよく重ね合わさる部位を予め調べておき、その部位で個々の曲線の傾斜を読み取った。

脳波の解析には、差分A I C法によるスペクトルの有意差検定を適用した。この検定法はスペクトルの各周波数における統計的ばらつきを正規分布モデルで表し、モデルのA I Cにより異なる条件下のスペクトルの平均値および分散の有意差を検定するものである[10]。脳波データは200 Hzでサンプルしデジタル化された。鯉の突発的な動きに起因すると思われる不規則なパルス様雑音や水流ポンプ等に起因する規則的な外部雑音が重畳しており、これらを除去するための前処理が必要であった。また、増幅器の低域での急峻な周波数特性が推定するスペクトルに影響しないような処理が施された。

さらに、鯉が光源に背を向けている場合と向けていない場合では14-24Hz帯域で有意な差を認め、光源に対し鯉が背を向けている場合のみについて見ると、姿勢に無関係となることが確かめられた。以上の予備解析の結果を踏まえ、光源に背を向けている状態の鯉脳波につき解析を加えた。脳波解析作業は、なお進行中であり、ここでは結果の一部を示す。

## 結 果

### 1. 鯉の状態観察

2匹の鯉は、打ち上げの2日前に搭載用鯉容器に封入され、8日間の飛行後、無事、健康に帰還した。

図6、7は、正常鯉、耳石摘出鯉の飛行前、中、後の状態を、呼吸数、静止時間、脳波ケーブルの‘よじれ’回数、および鯉の方向について示したものである。横軸はデータ収録の番号であり、図5で示されたデータ取得番号と対応している。縦軸は呼吸数（折れ線グラフ）及び各600秒間のテスト中、鯉がヒレの動きを止め静止していた時間（ブロック図）を示す。星印は鯉が尾側を手前に向けていたことを示す。呼吸には二つのパターンがあり、2-3回つづけた後10秒間ほど停止する間欠的呼吸パターンを黒丸で、持続的呼吸のパターンを白丸で示した。間欠的呼吸は通常、鯉が落ち着いてリラックスした状態のときに見られるパターンである。

正常鯉は、飛行前テスト中、落ち着かず呼吸数もかなり高い値を示しているが、飛行中は比較的落ち着いており、特に最初の4日間では動きが緩慢であった。飛行中6回目（4日目）のテストでは、脳波ケーブルが鯉を壁に軽く押し付ける傾向があり、壁に接触している間、動きを止めた。帰還後、鯉はほとんど容器の底面に沈んでおり、時々浮かび上がった。弱っている感じはなく、重力の影響と考えられた。

耳石摘出鯉は、飛行前テストで比較的落ち着いており呼吸も安定していた。飛行中の第1回目、第2回目テストでは正常鯉と同様に動きは緩慢であった。第3回目テスト（2日目）以降、脳波ケーブルの強い‘よじれ’が鯉の頭部を半固定状態とし、逃避行動が呼吸数を高め、また、時々、休んだ。飛行中の9回目、10回目テストでは壁に接触した状態がつづき、ほとんど動く気配がなかったが、弱っている感じではなかった。帰還後は正常鯉と同様に容器に底面に沈んでいる時間が多く、脳波ケーブルの‘よじれ’が弛んだ飛行後7、8、9回目テストでは泳いでいたが、依然として、からだは重そうであった。

### 2. 飛行鯉の体重減少とF P水質検査の結果

2匹の鯉は、F Pに封入され打ち上げられるまでの2日間、飛行中の8日間、そして帰還の4日後に開放されるまでの計14日間、餌は与えられないままであった。F P封入時および開放直後に測定された体重を表2に示した。耳石摘出鯉、正常鯉の体重は飛行前に比べそれぞれ35g、30g減少しており、地上で2週間食餌を断った場合に比べ（1匹あたりの飼育空間は30リットルで、体重減少は5%以下）その体重減少はかなり大きかった。

鯉の開放直後にF Pの水質を検べた結果を表3に示した。表中、「プール水」の値はこれらの対照値である。亜硝酸塩濃度は用いられた測定キットの限界を越えたことを示しており、その濃度が異常に高かったことがわかる。硝酸塩濃度もかなり高い値である。

### 3. 光依存性行動

図8、9に、正常鯉、飛行中の光に対する鯉の光応答の様子を示した。図は、1回のテスト中（10分間）、各40秒間毎（光の横照射、上照射各20秒）の鯉の角度変化曲線を重ね写したものであり、それぞれの図の下に、打ち上げ開始からの経過時間を日時として示してある。

正常鯉は、飛行中初回目テストで既に動きは鈍かったが、脳波ケーブルが動きを邪魔しており光応答性は観察できなかった。図8右の2つは、第2回目テスト以降に見られた飛行初期の応答性の乱れを示したものであるが、乱れの特徴として、弱々しい動き、不安定な傾斜、光を腹に受ける反応の出現があげられる。飛行の4日目に入り光応答は安定化の傾向を示し、5日目になって動きが活発となるとともに応答の傾斜速度が速くなった（図9）。この傾斜速度の変化を図10に示した。参考として、図10左に、別の1個体で以前に得られた[11] 1 G下および放物線飛行時の無重力下の傾斜速度を示した。

図11に耳石摘出鯉で得られた光応答を示した。被験体をNASAへ引き渡す前に行った飛行前テスト（L-42；打ち上げ42時間前）、飛行中第1回目（0d 22h；打ち上げの22時間後）、第2回目（1d 04h；打ち上げ後1日と22時間）の結果である。次の回からケーブルが強くよじれたため鯉は光応答が不能となった。

飛行前テストでは、耳石が打ち上げの約2ヵ月前に摘出されており代償機転が働らき[12、13]、背光反応の傾斜角は既に小さくなっていることがわかる。但し、この例では尾を手前に向けており値は正確でない。宇宙飛行開始の22時間後の光応答は、光だけに依存した典型的な背光反応を示している。その傾斜速度は約20度/秒で放物線飛行実験で見られた値に近い。興味深いことに、飛行開始後の28時間のテストで光応答性が耳石摘出鯉でも強く乱れた。また、この際、光照射の方向が横から上に切り替わったときには光を背に受ける方向に戻っていることが注目される。

帰還後、両鯉ともFPの底に沈んでいることが多くDLRは観察できなかった。

### 4. 小脳脳波の変化

方法で述べた予備解析の結果を踏まえ、光源を背に向けている状態の脳波について、飛行中の各テスト毎の脳波スペクトルを、第1回目テストと第2回目テスト、第2回目テストと第3回目テストのごとく順次比較した結果、第2回目と第3回目テスト（飛行開始から2日目）および第6回目テストと第7回目テスト（飛行開始から4日目）のスペクトル平均値に有意な変化を認めた。図12にその結果の一部を示す。ちなみに、第2、3回目テストは図8、9における1d04h、2d00h、第6、7回目テストは3d00h 3d23hに対応しており、それぞれ光応答の混乱が著しくなったとき、光応答が回復始めたときである。

### 5. 電極による小脳組織の損傷

小脳組織切片の観察により、脳波電極は予定通り、体部吻側中央の近くに位置したことは確認できたが、図13に示すように、両鯉とも脳波電極は中央からやや左にずれており、また、小脳組織をかなり圧迫していた。また、その圧迫により、正常鯉では組織の変形だけであったが、耳石摘出鯉では軟膜が一部破壊されて小脳組織が損傷を受けて

いたことがわかる。10%フォルマリンによる組織の固定が不十分であったため細胞浸潤の像までは確認できなかった。

## 6. X線像による耳石摘出像の確認

図14に飛行鯉の頭部X線像を示した。正常鯉 (No.39) では、耳石の陰影 (矢印、utriculus) を認めるが、耳石摘出鯉 (No.65) では、これに相当する部位に陰影が欠損しており、耳石が確かに摘出されていたことがわかる。Sacculus、lagenaが摘出されていたかどうかについては不明であり、X線像でも判定が困難であったが、耳石の摘出時、三半規管も損傷されることから、前庭器官の機能は失われていると考えられる。

## 考 察

### 1. 飛行鯉の代謝昂進

実験終了後のF P水質検査の結果 (表3) は、排泄されたアンモニアがバクテリアの硝化作用により順次、亜硝酸塩、硝酸塩に変換される過程の途中にあったことを示しており、その高い値を飛行鯉の体重減少の大きさと合わせ考えると、飛行中、鯉の代謝はかなり昂進していたものと推察される。

長期宇宙滞在で見られる筋萎縮の原因として、廃用性萎縮の他に、ストレスホルモンの増加による筋蛋白の異化作用の促進も考えられており [14]、事実、F M P T実験で毛利宇宙飛行士から採取された尿の分析結果からも、これを支持する結果が報告されている。飛行鯉も、長期間、狭い空間にとじ込められており、ストレスが持続したと考えられることから、その可能性は否定できないが、表2に見られるごとく、搭載用装置開発のための地上シミュレーション実験ではアンモニア上昇は見られておらない [9]。

無重力下で容器内の鯉は、前後方向に流れる水流 (毎分約1.5リットル) に対し、常時、位置を保とうとして泳ぐ傾向が見られており、これによる運動昂進がアンモニア排泄促進を促した可能性が高い。

今回の実験で、実験終了後、鯉から採取された筋組織サンプルにつき酵素活性が調べられたが特徴的な変化は認められなかった (添付資料1参照; 大平充宣ら)。あるいは、帰還から5日間を経た後の鯉からのサンプル採取であったためかもしれない。また、実験終了後の鯉組織について炭素、窒素同位体組成が調べられたが、与えられた餌が一定されなかったこともあり、無重力の影響を反映するような結果は認められなかった。しかし、関連した興味ある問題が指摘された (添付資料2; 水谷 広)。

### 2. 耳石摘出鯉における脳波ケーブルの‘よじれ’

耳石摘出鯉で、飛行中の3回目テストから強いケーブルの‘よじれ’があった。ケーブルの‘よじれ’のパターンから、鯉は何等かの原因で、2回目テストと3回目テストの間で図15に示す3種類のうち、いずれかの回転を繰り返したことになる。V T R画像で、正常鯉では飛行前テストの10分間で前後に方向を替える回転を頻繁に行っているが、耳石摘出鯉では認められていない。一方、飛行中にはこのような回転はなく、正常鯉で



1 回、耳石摘出鯉で 2 回、長軸周りの右回転が観察されたことから、恐らく、耳石摘出鯉はこのような右回転を繰り返した可能性が高い [15]。

鯉の小脳組織切片観察により、小脳体部の吻側、背側中央部で左に偏った組織損傷が認められた (図 13)。模擬実験で確かめる必要があるが、恐らく、鯉が強く動いたとき電極により脳が損傷されたものと考えられ、それにより片側回転が誘起されたことが考えられる。

### 3. 長期無重力暴露による魚の感覚運動性中枢制御の破綻と回復

魚には光の方向に背を向けようとする特性があり、耳石を摘出すると光だけに依存して姿勢を決める。背光反応 (DLR) と呼ばれるこの魚の特性は、すなわち耳石器官と視覚からの入力中枢で相互に影響し合った結果として表出していると考えられている [1-3]。無重力下で、耳石器官からの脱入力中枢における感覚混乱を引き起こすのであれば、この DLR にも何等かの乱れがあってよいはずであり、また、耳石器官からの脱入力に対し中枢内で神経回路再構築がなされるのであれば、その行動の乱れに数日間で回復の過程が見られるはずである。さらに、このような行動の順応に小脳が重要な役割を果たしているのであれば、行動の乱れに対応して脳波活動にも変化が見られるはずである。これが鯉の宇宙実験の実験仮説であった。

既に von Baumgarten らは、スカイラブ 3 号に 2 匹の小魚を搭載し行動観察を行っており、飛行の 3 日目まで続いた異常な回転運動が、その後、普通に泳げるようになったことを報告している [16]。今回の実験では、鯉は狭い容器にとじ込められていたこともあり、そのような回転行動の様子は認められなかったが、飛行の 4 日目までに見られた光に対する不安定な光応答性と応答速度の鈍化もまた、前庭脱入力に起因する感覚混乱の別の表現と考えられる。宇宙飛行士が「宇宙酔い」にかかる場合、飛行開始後 2 ~ 4 日以内に症状は消退し、その後は出現しないことが知られており、これら魚で見られる行動変化の時間経過との一致が注目される。関係する基本的な神経機構の類似性が期待できるかもしれない。また、回復過程で見られた DLR の傾斜速度の変化 (図 10) は無重力下の平衡機能の適応に共通する特徴を反映しているかもしれない。

正常鯉の小脳脳波について周波数スペクトルの差を経時的に調べた場合、DLR の混乱期と回復期で変化を認めた (図 12)。脳波変化の抽出には解析結果の信頼性を高めるため最大限の努力が払われており、結果そのものには問題点はないと考えられ、無重力下の感覚運動系中枢の混乱と適応過程に小脳が何等かの形で関与していることはまちがいないと思われる。しかし、今回、脳波が導出された小脳体部は DLR には関与が低いとされるところであり [4, 6, 7]、直接、DLR と結びつけるには問題が残る。DLR に関与の高い小脳弁部は視蓋 (optic tectum) に覆われており、電気生理学的アプローチには困難があるため、今後、別の手法でこれに関する研究を発展させる必要がある。

耳石摘出鯉においても DLR に混乱が生じた (図 11)。耳石摘出は打ち上げの 2 ~ 2.5 ヶ月前に行われており、浮袋などによる代償機転が働いた結果、地上において、もはや光だけに依存した姿勢をとることはなかった (図 11; L-42 参照)。しかし、飛行開始後の初回目テストでは、この重力性代償もとれて全く光だけに依存した反応をしてお

り（図11；0d22h）、また、次のテストでは正常鯉の場合と同様、D L R 行動に乱れが認められた（図11；1d04h）。すなわち、耳石系以外の平衡調節に関わる中枢神経機構もまた無重力下で著しく混乱を起こすことを示している。残念ながら、正常鯉の0d22hの時点においては、ケーブルが邪魔してD L R は観察できず、耳石摘出鯉との比較ができなかった。また、耳石摘出鯉の3回目テスト以降で発生したケーブルの強い‘よじれ’のため、その混乱からの回復過程も観察できなかった。1994年7月に飛行が予定されているI M L - 2（International Microgravity Laboratory II）では、両側および片側耳石摘出した金魚が被験体として搭載されD L R が観察される。今回、観察できなかった部分が補われることが期待される。

#### 4. D L R 応答に見られたその他の知見

無重力下でD L R 行動が不安定となったおり、鯉が光に対し腹を向ける反応を頻繁に認めた。このような反応は放物線飛行による無重力下でも観察されており[17]、D L R の光要因は単に両目に入る光量を等しくしようとする反応として理解できるかもしれない。また、その際、光照射の方向が横から上に戻るとき、鯉は腹に光を受けるより背に光をうける姿勢を取ろうとする傾向が強かった（図8、11）。F P 前面窓には脳波導出用コネクタが片側に寄せて設置されているため、鯉に視覚的手がかりを与えている可能性があり、それが鯉に記憶されていたためかもしれない。別の可能性として、脳波ケーブルの‘よじれ’による応力が鯉に作用した結果とも考えられる。

#### 5. V F E U の性能

V F E U 酸素供給ユニットに使われた人工肺は、心臓手術で一般に利用されているものであり、今回の宇宙実験で水生動物実験装置への有用性が確認できた。しかし、飛行鯉開放後のF P 水質検査で見られた亜硝酸塩の異常な上昇は予想外であり、地上シミュレーション実験の限界を感じさせた。今回、飛行期間が短いこともあり、容器内アンモニアの蓄積をゼオライトによる吸着させる方式としたが、宇宙で水生動物をさらに長期間閉じ込める場合においては、K S C のプールに適用されたと同様な生物学的に安定化した濾床の利用などの改善が必要と考えられる[15]。

#### 6. 今後の発展性

今回の実験では、小脳脳波を同時に観察したため、そのケーブルが鯉の光応答性行動観察の障害となることが頻繁におきた。また、7日間の飛行期間は回復過程の観察にはまだ短かすぎるかもしれない。今回の実験は、I M L - 2 で金魚を使った実験として発展させられが、飛行期間は2週間で、両側、片側耳石摘出した金魚を含む6匹で光応答性行動のみが観察される。さらに1998年には、ニューロラブ（神経実験室）の実験計画が進んでおり、一步進めた宇宙実験が可能となるかもしれない。

“宇宙酔い”は宇宙飛行士の選抜、訓練、健康管理の観点から重要課題とされている。スペースステーション建造に携わる乗組員が宇宙酔いに悩まされないような対策が必要となっている。感覚混乱説の妥当性が支持されたことにより、今後、ヒトおよび動物による宇宙酔い研究が一層深まることが期待される。

## 結 論

1. 無重力下における平衡調節系中枢機能の適応過程が、正常鯉の光依存性行動（背光反応；D L R）の破綻と回復として観察された。また、その回復はD L R傾斜速度の変化として特徴づけられた。
2. 無重力下では感覚運動統御中枢の神経機構に再構築が起きるとする説を支持する結果として、D L Rの破綻、回復期に対応した小脳脳波活動の変化を認めた。
3. 耳石摘出に対する代償が進んだ鯉もまた、無重力下ではD L Rに混乱が生じた。
4. 帰還後の著しい体重減少と鯉容器水の亜硝酸塩、硝酸塩の異常な増加から、飛行中、鯉の代謝が昂進していたと推察された。
5. 以上の結果から、無重力下の神経性適応機序の研究に魚が有用であることが確かめられた。
6. 新しく開発された鯉用宇宙実験装置を同じ条件下でさらに長期間の利用を図るには水フィルターに改善が必要である。

## 謝 辞

今回の実験実にあたり終始、名古屋大学環境医学研究所 平衡適応分野 渡辺 悟教授の御協力があり、また、データ検討にあたり貴重なコメントをいただきました。小脳組織標本作成にあたっては大阪大学 健康体育部 柳原 大助手、鯉頭部X線像撮影には藤田保健衛生大学 放射線技術部の諸先生方に御協力をいただきました。さらに、実験実施にあたり、ボランティアとして弥富町、弥富金魚漁業協同組合、寿工業、M J C 貿易、フロリダ在住のヒロ内藤氏の御支援をいただきました。ここに深謝の意を表します。

## 文 献

- 1) von Holst, E.: Ueber den Lichtenruecken Reflex bei Fischen. Pubbl. Stat. Zool. Napoli, 15, 143-158, 1935.
- 2) von Holst, E.: Die Arbeitsweise des Statolichten-apparates bei Fischen. Z. vergl. Physiol., 32, 60-120, 1950.
- 3) Pfeiffer, W.: Equilibrium orientation in fish. Int. Rev. Gen. Exp. Zool., 1, 77-111, 1964.
- 4) Watanabe, S., Takabayashi, A., Tanaka, M. and Yanagihara, D.: Neuro-vestibular physiology in fish. In: Adv. Space Biol. Med., Vol.1, ed. S. Bonting. JAI Press Inc., Greenwich, London, p.99-128, 1991.
- 5) Yanagihara, D., Watanabe, S. and Mitarai, G.: Neuroanatomical substrate for the dorsal light response. I. Differential afferent connections of the

- lateral lobe of the valvula cerebelli in goldfish (*Carassius auratus*). *Neurosci. Res.*, 16, 25-32, 1993.
- 6) Yanagihara, D., Watanabe, S. and Mitarai, G.: Neuroanatomical substrate for the dorsal light response. II. Effects of kainic acid-induced lesions of the valvula cerebelli on the goldfish dorsal light response. *Neurosci. Res.*, 16, 33-37, 1993.
  - 7) Mori, S.: Localization of extratectally evoked visual response in the corpus and valvula cerebelli in carp, and cerebellar contribution to 'dorsal light reaction' behavior. *Behav. Brain Res.*, 1994 (in press).
  - 8) Mori, S., Takabayashi, A. and Mitarai, G.: Applicability of the silicone membrane as a lung for a fish incubator in space life science research. *Env. Med. Nagoya Univ.*, 26, 59-65, 1982.
  - 9) Mori, S., Watanabe, S., Takabayashi, A., Sakakibara, M., Takagi, S., Mitarai, G. and Nagatomo, M.: A life-support system developed for the fish experiment in Spacelab. *Proc. 15th Intern. Symp. Space Tech. & Sci. Tokyo*. AGNE Publ. Co., Tokyo, p.2079-2083, 1986.
  - 10) Usui, S., Yamada, I., Mori, S., Takabayashi, A., Takagi, S., Mitarai, G. and Watanabe, S.: Power spectral analysis of cerebellar activities in the carp. *Env. Med. Nagoya Univ.*, 29, 99-105, 1985.
  - 11) Mori, S., Watanabe, S., Takabayashi, A., Sakakibara, M., Koga, K., Takagi, S. and Usui, S.: Behavior and brain activity of carp during parabolic-flight low gravity. In: *Biological Sciences in Space 1986*, eds. S. Watanabe, G., Mitarai and S. Mori, Myu Research, Tokyo, p.155-162, 1987.
  - 12) Mitarai, G., Mori, S., Takabayashi, A., Takagi, S. and Usui, S.: Postural control and cerebellar activity in carp, and fish holding device for Spacelab experiment. In: *Sensory-motor Functions Under Weightlessness and Space Motion Sickness*, eds. G. Mitarai and M. Igarashi, The University of Nagoya Press, Nagoya, p.41-54, 1985.
  - 13) Takabayashi, A., Watanabe, S., Mori, S., Tanaka, M., Sakuragi, S. and Takagi, S.: Posture control of goldfish in microgravity. *Proc. of 17th Intern. Symp. on Space Tech. & Sci. Tokyo*, AGNE Publ. Co., Tokyo, p.2015-2020, 1990.
  - 14) Rambaut, P.C. and Johnson, P.C.: Nutrition. In: *Space Physiology and Medicine*, 2nd ed., eds. A.E. Nicogossian, C.L. Huntoon and S.L. Pool, Lea & Febiger, Philadelphia, London, p.202-213, 1989.
  - 15) Mori, S., Mitarai, G., Takagi, S., Takabayashi, A., Usui, S., Nakamura, T., Sakakibara, M., Nagatomo, M. and von Baumgarten, R.J.: Space experiment using large-sized fish : in case of carp in Spacelab-J. *Acta Astronaut.*, 1994 (in press).
  - 16) von Baumgarten, R.J., Simmonds, R.C., Boyd, J.F. and Garriott, O.K.:

Effects of prolonged weightlessness on the swimming pattern of fish aboard Skylab 3. Aviat. Space Environ. Med., 46, 902-906, 1975.

- 17) Mori, S., Watanabe, S., Tanaka, M., Koga, K., Takagi, S., Sakuragi, S., Takagi, S. and Usui, S.: Dorsal light tilt response and cerebellar activity of carp under microgravity produced by aircraft parabolic flight. Proc. of 16th Intern. Symp. on Space Tech. & Sci. Sapporo, AGNE Publ. Co., p.2325-2329, 1988.

< 添付資料 1 >

無重力環境暴露が鯉の骨格筋に及ぼす影響

鹿屋体育大 大平充宣、刈谷文彦、安井 渉、開発健一

鹿児島純心女子短大 田中美智子

< 添付資料 2 >

F M P T / L - 2 実験の鯉にみられた窒素・炭素安定同位体自然存在比

石巻専修大・理工・基礎理学 水谷 広

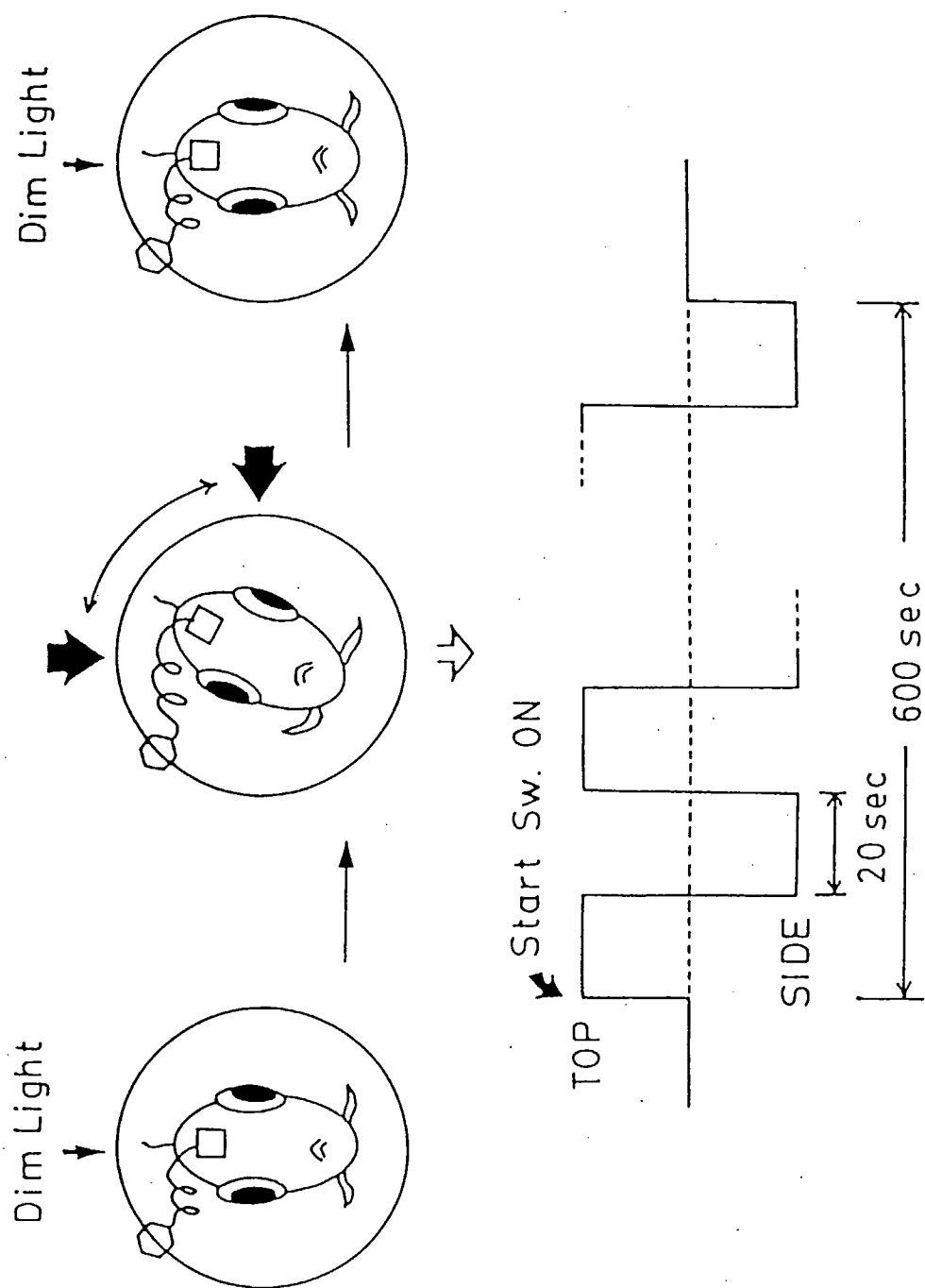
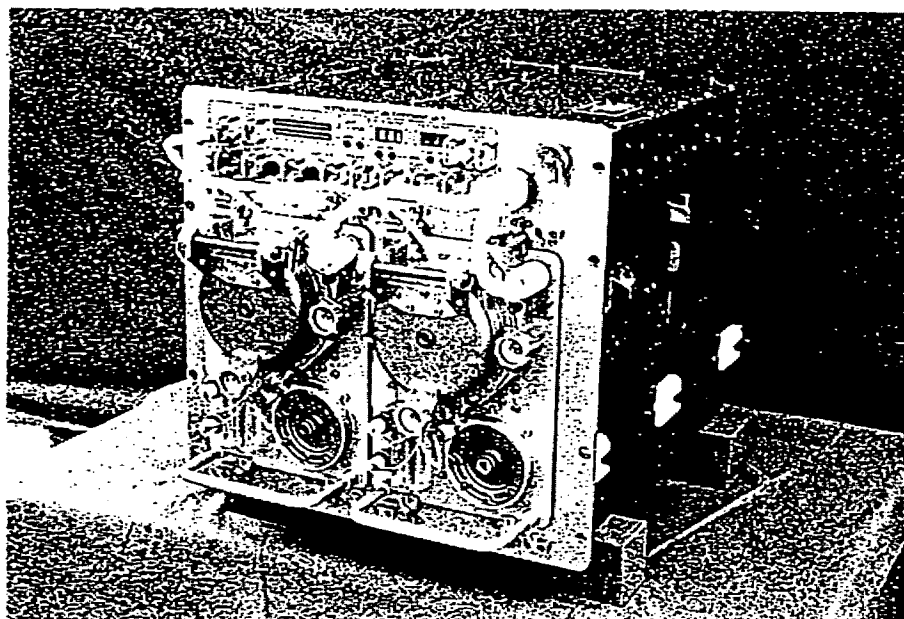


図1 鯉の宇宙実験デザイン



#### SPECIFICATION

Temperature Regulation	20 ~ 25℃ (± 1℃)
Oxygen Level (with 350 g carp)	110 mmHg
Life Support Capability (with 350 g carp)	2 fish for 2 weeks
Fish Chamber Size	120 mmφ x 300 mm
Fish Package Size and Weight	200W x 315H x 527D (mm) ca 15 kg
VFEU Size and Weight	682.6W x 442.9H x 609D (mm) ca 80 kg

図 2 搭載された鯉用実験装置 (V F E U)

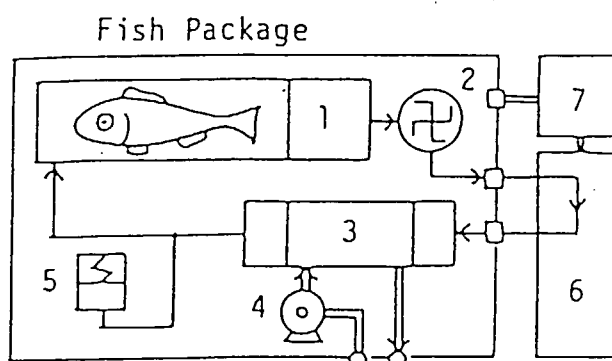
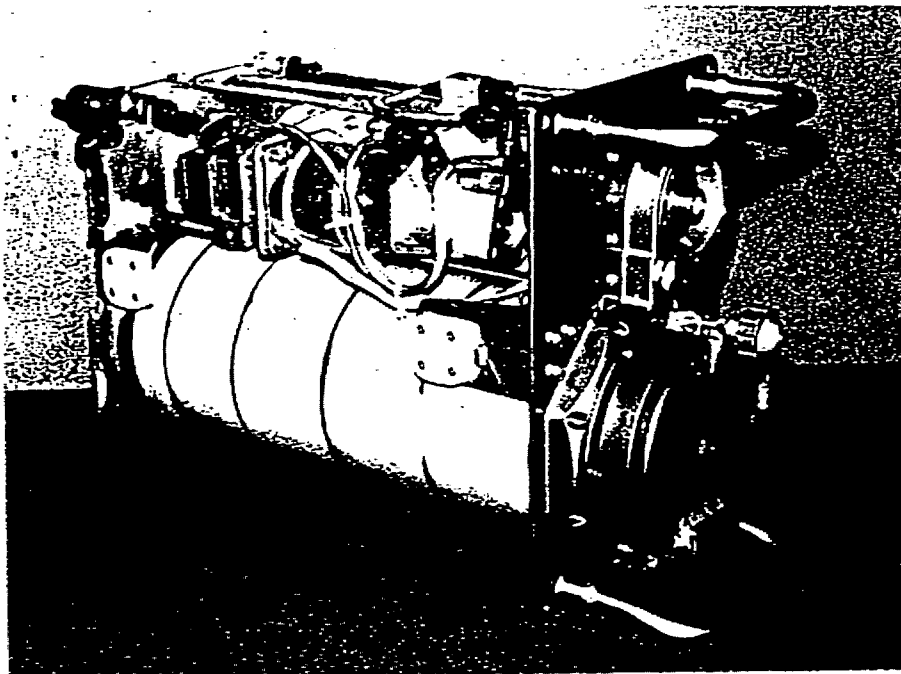


図3 鯉生命維持装置の構成

1. 水フィルター    2. 水循環ポンプ    3. 酸素供給ユニット    4. エアポンプ  
5. 水補給槽    6. 温度調節ユニット    7. 電源供給ユニット



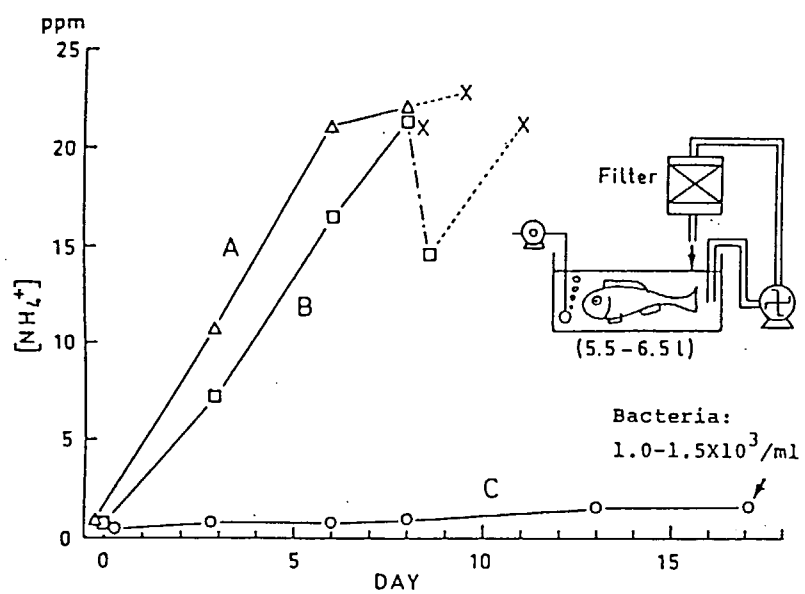


図4 水フィルター材料予備テスト

A、綿布3枚のみ B、綿布3枚+活性炭590g C、綿布3枚+活性炭250g+ゼオライト500g. 挿入図、実験のセット. X印、アンモニア高濃度による死亡.

表1 VFEUエンジニアリング・モデルによるシミュレーション・テストの結果

Day	Diff. Press.		Water		DO(Lung)		CO <sub>2</sub> (Lung)
	Lung	Chamber	pH	[NH <sub>4</sub> ]	In	Out	Out
	mmHg	mmHg		ppm	ppm	ppm	ml/min
0	47	29	6.8	0.2	-	-	-
1	44	32	7.6	0.2	-	-	-
2	44	29	7.9	0.5	-	-	-
5	48	29	8.0	1.2	-	-	0.34
7	49	36	8.2	-	-	-	-
8	50	43	8.1	-	-	-	-
9	51	52	8.1	-	-	-	-
10	54	44	8.1	2.6	8.0	7.6	0.24
11	64	39	-	-	-	-	-
13	67	36	8.1	-	7.8	7.2	-
14	72	35	8.1	2.0	7.7	7.2	0.37
15	77	35	7.7	1.9	-	-	-

Note: Evaporation rate; 3.6 g/day.  
Requirement for DO (In); >6.6 ppm.

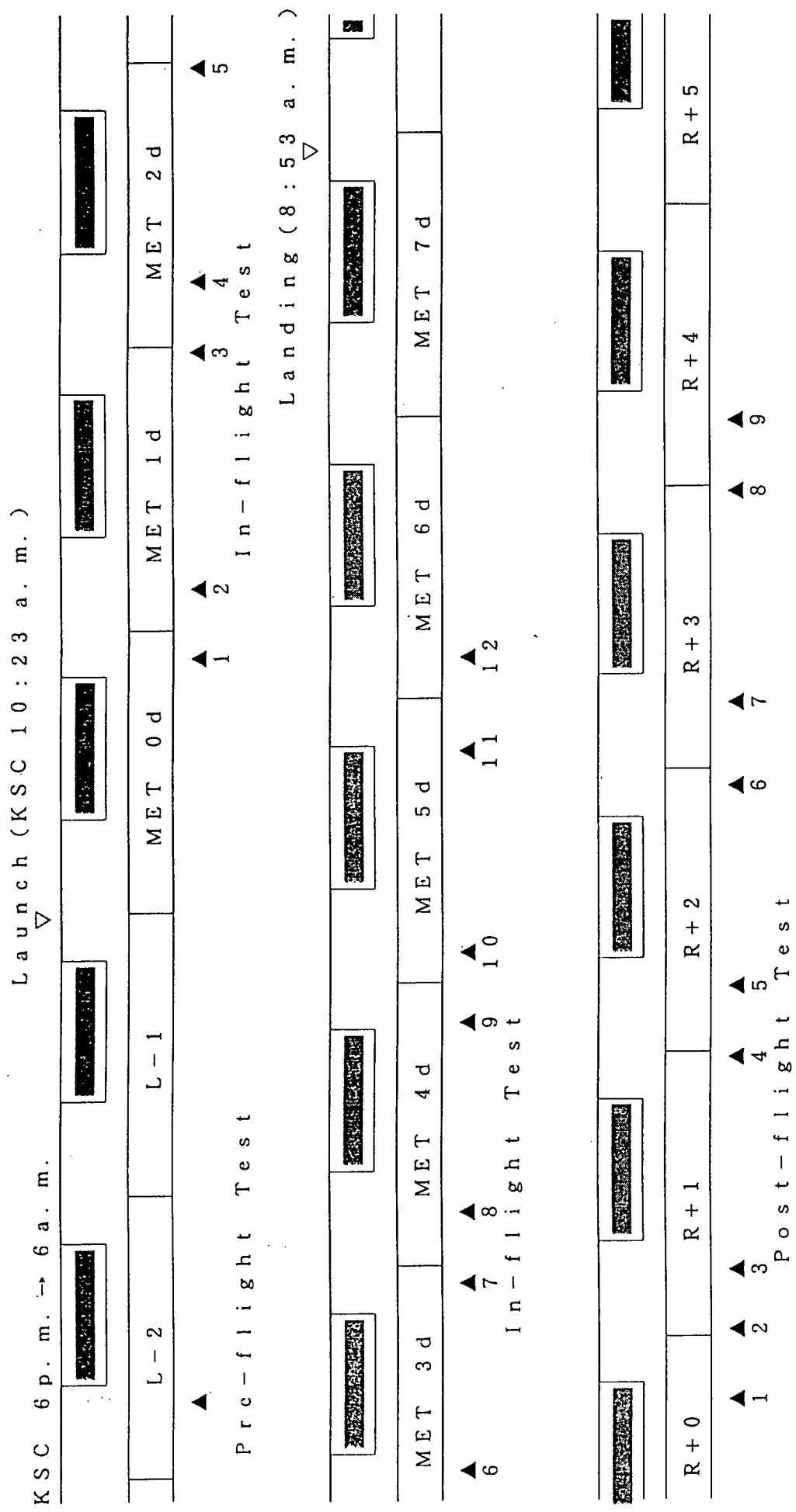


図5 本番実験のデータ取得.  
 L、打ち上げ前. MET、飛行開始後経過日. R、帰還後.

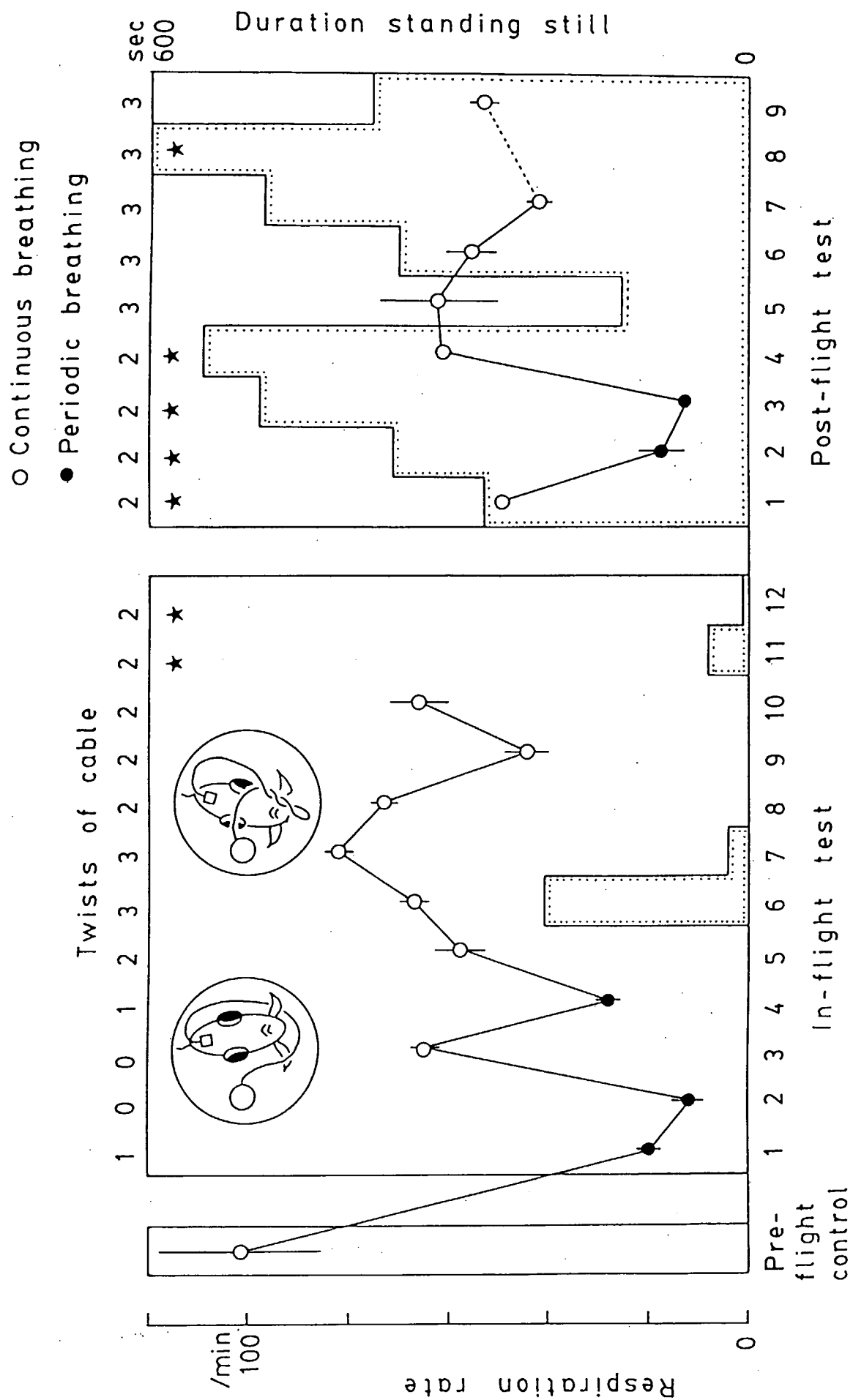


図 6 正常鯉の状態

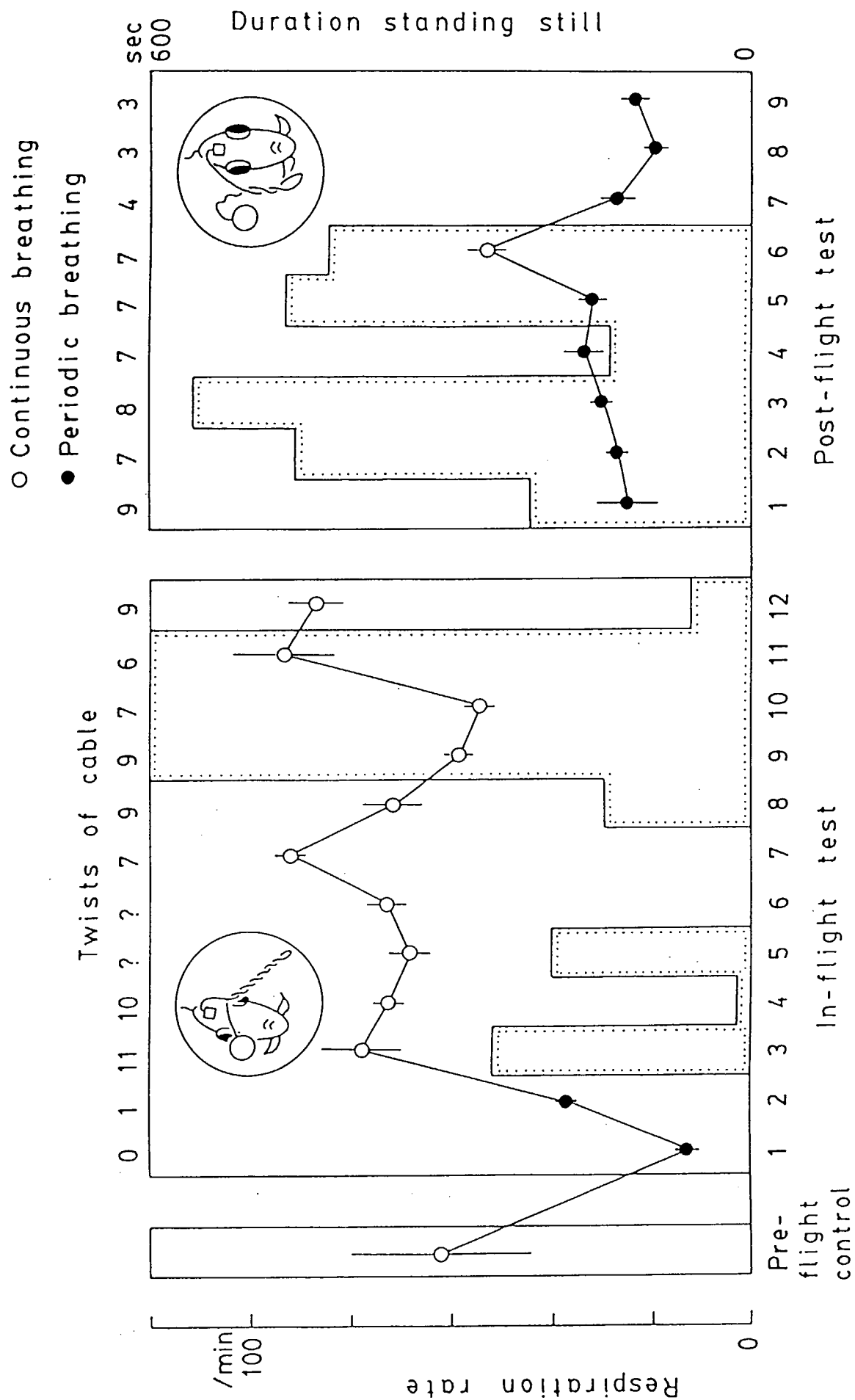


図7 耳石摘出鯉の状態

表 2 飛行鯉の体重減少

Carp	Size	Weight (before)	Weight (after)	Difference	Reduction Rate
Otolith- removed	cm 26	g 270	g 235	g 35	% 13
Intact	26	263	233	30	11

表 3 鯉開放直後の容器水質検査結果

	Normal Carp FP	Otolith-removed Carp FP	Pool Water
pH	6.7	6.7	6.5
Ammonia (ppm)	1.6	1.0	0.6
Nitrite (ppm)	>50	>50	0.02
Nitrate (ppm)	45	42	19
Elect. Conduct. ( $\mu$ S/cm)	667	624	360

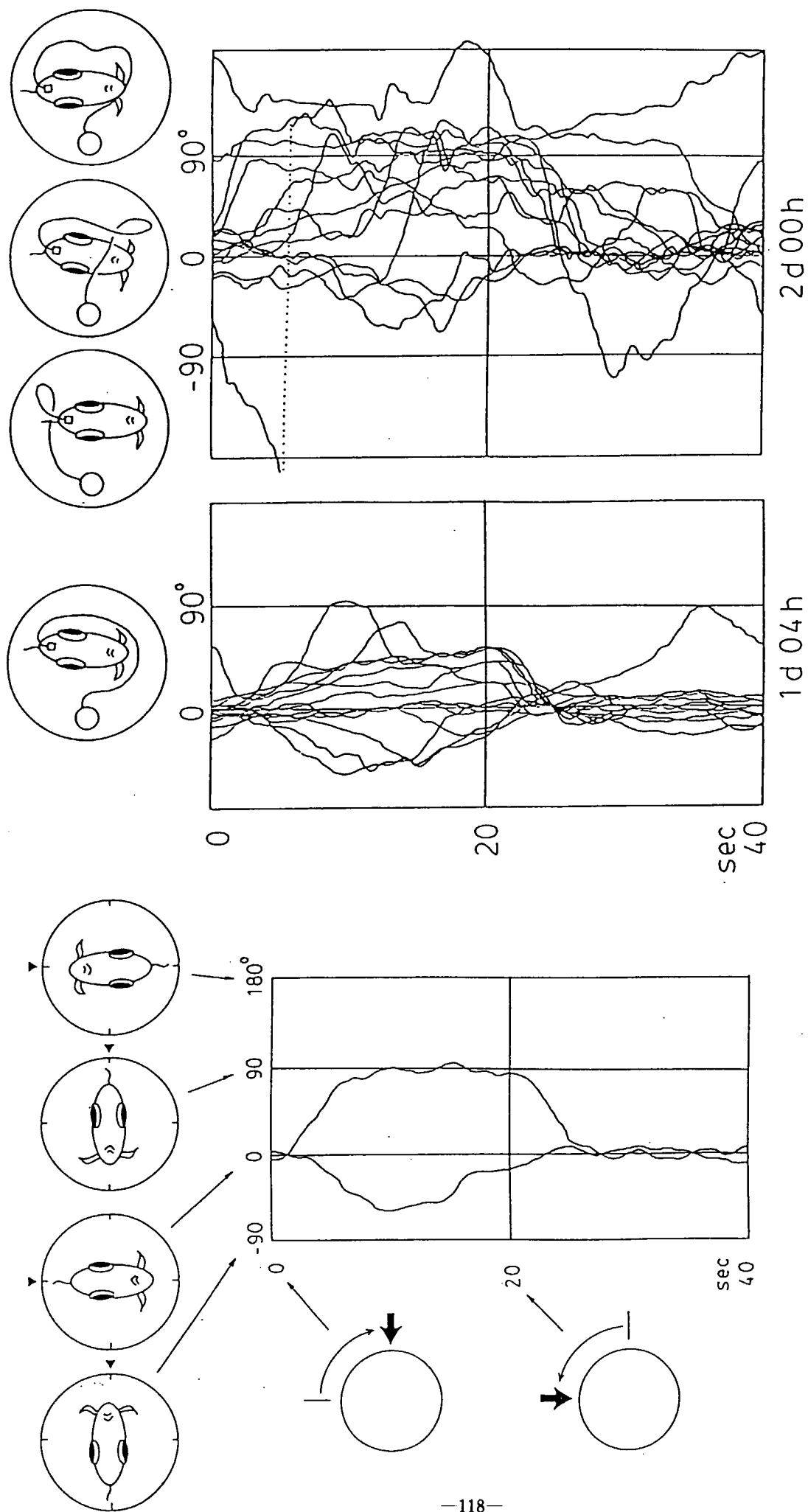


図8 正常鯉飛行中の光応答パターン。  
図の左に図の読み方、図の上に脳波ケーブルの状態、図の下に飛行開始後の経過日時を示す。

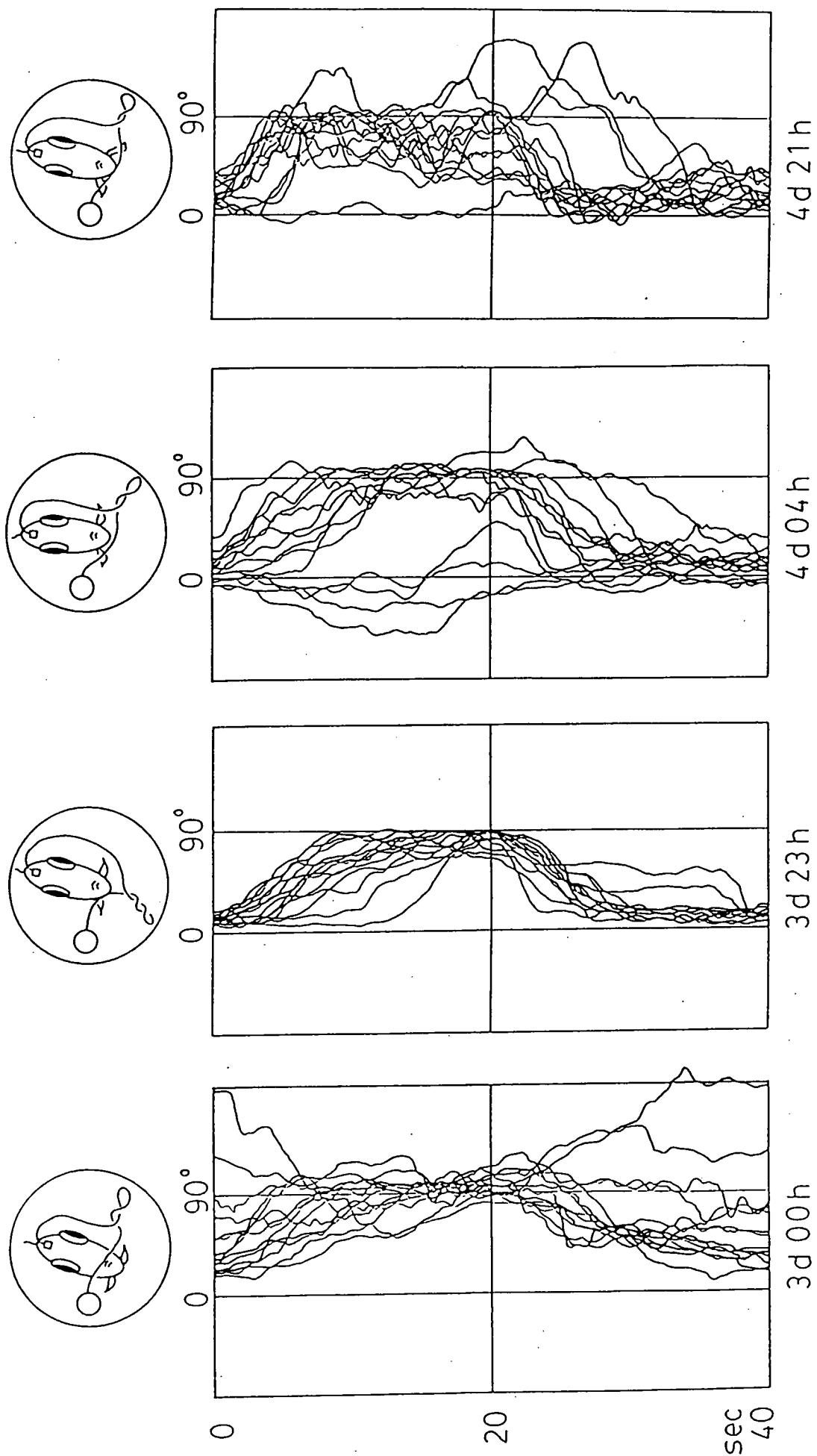


図 9 正常鯉飛行中の回復期の光応答パターン



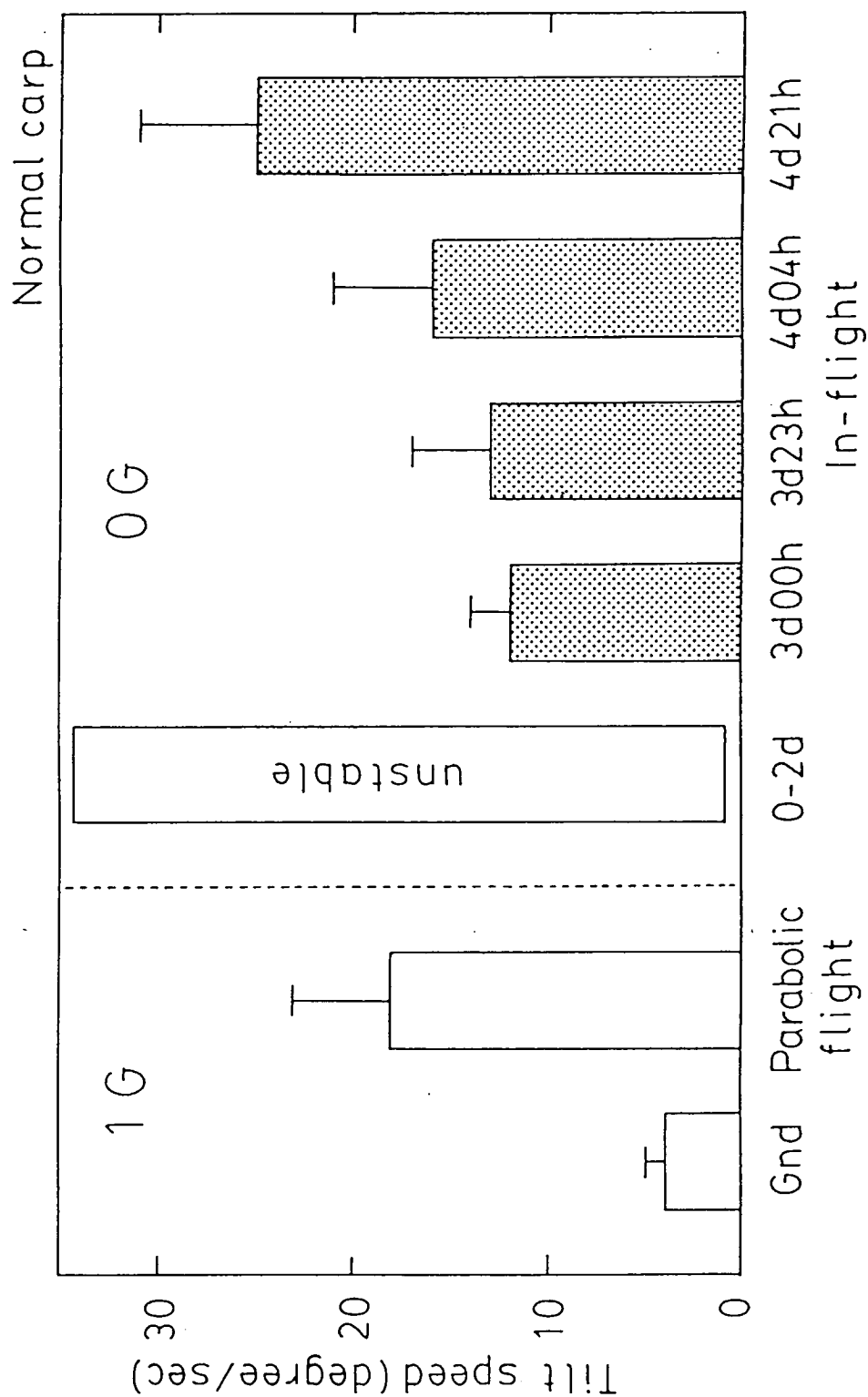


図10 正常鯉のDLR傾斜速度.

陰影を付した棒グラフは図8に示した4つのケース. 図左1Gの棒グラフは別の実験、別の鯉で得られた結果.

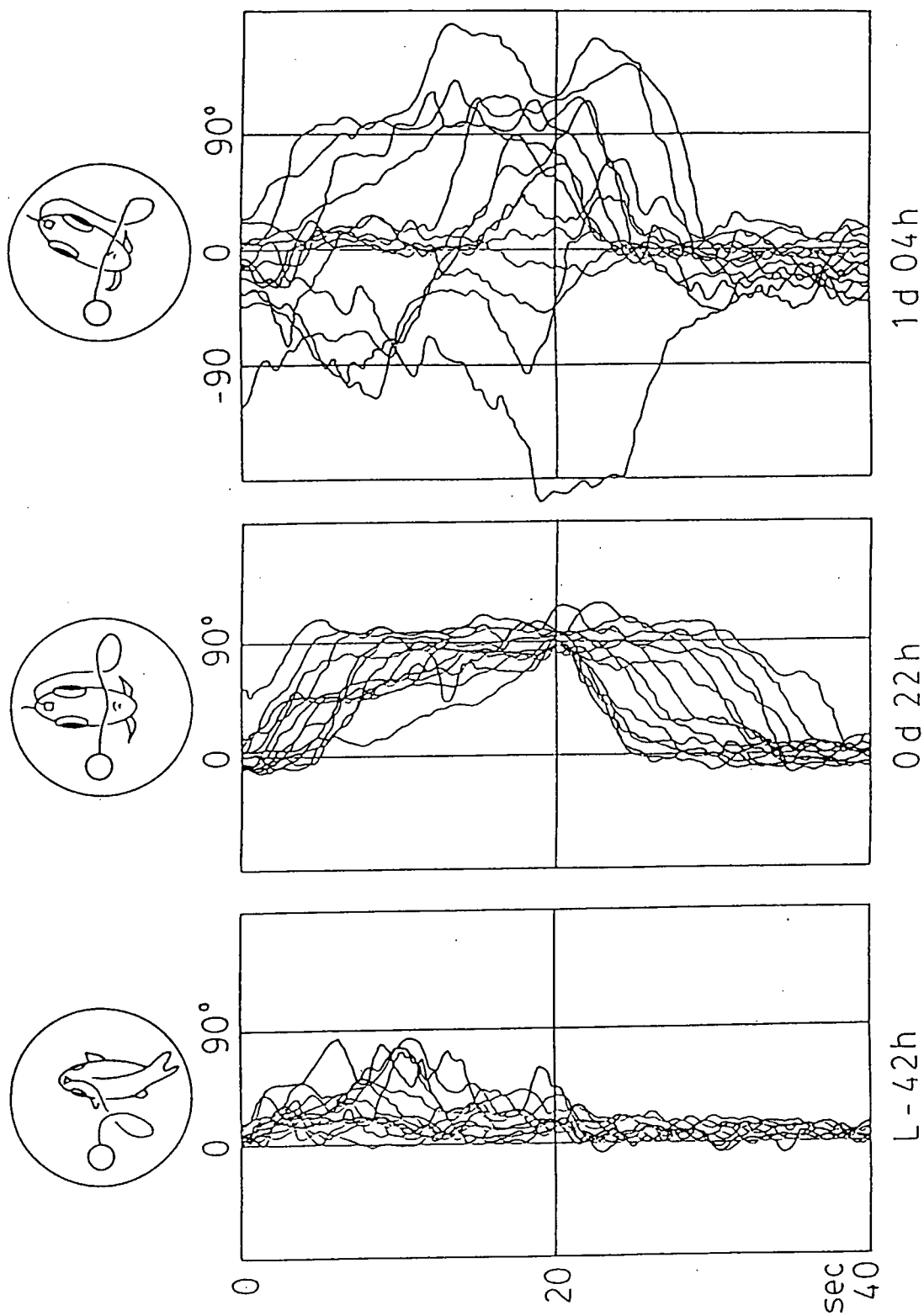


図11 耳石摘出鯉の飛行前テスト (L-42)、飛行開始後2回のテスト時の  
DLRパターン

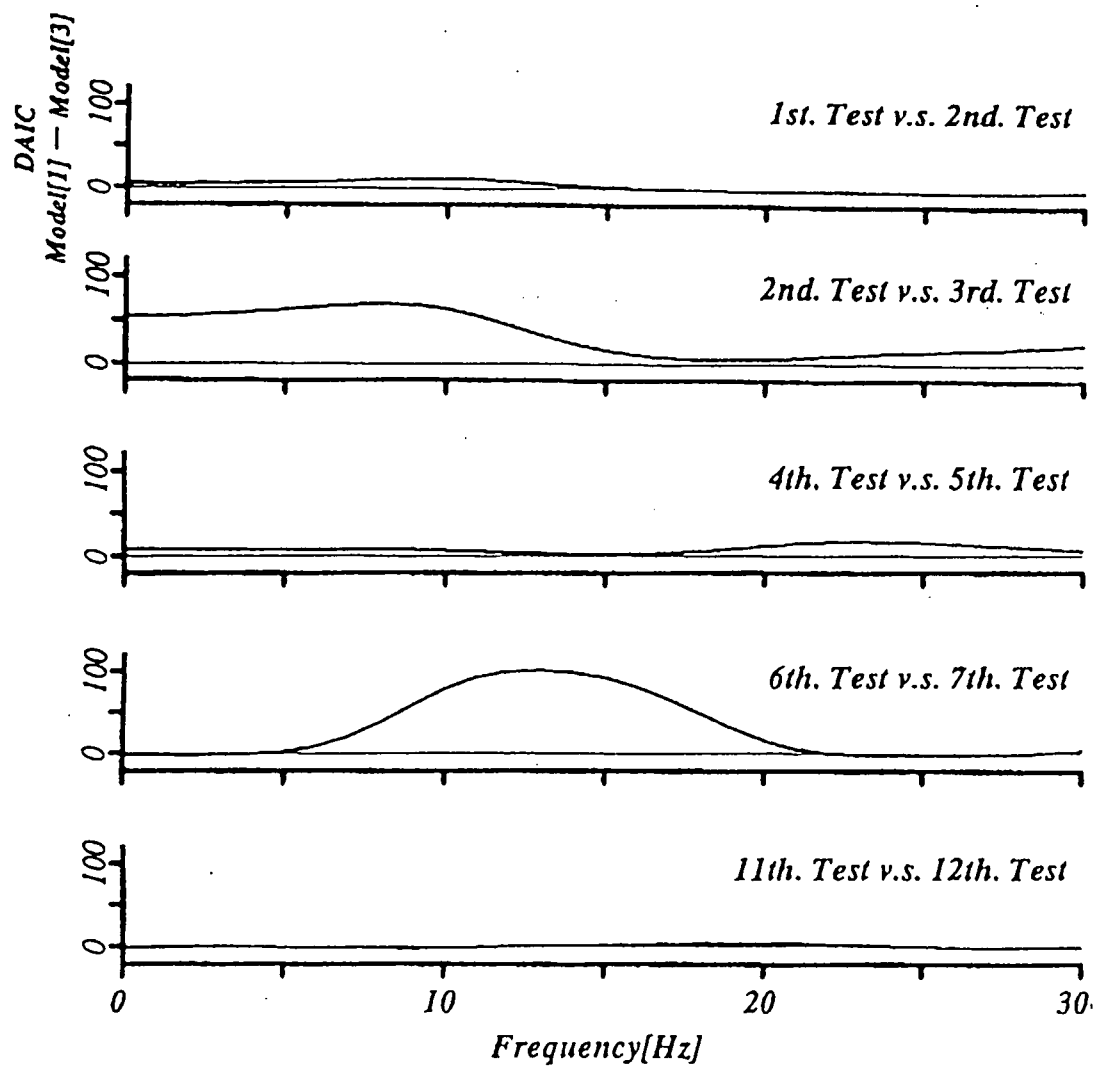


図12 正常鯉の小脳脳波パワースペクトル解析結果例。  
飛行中の連続する各テスト間の平均スペクトルの差分を示す。

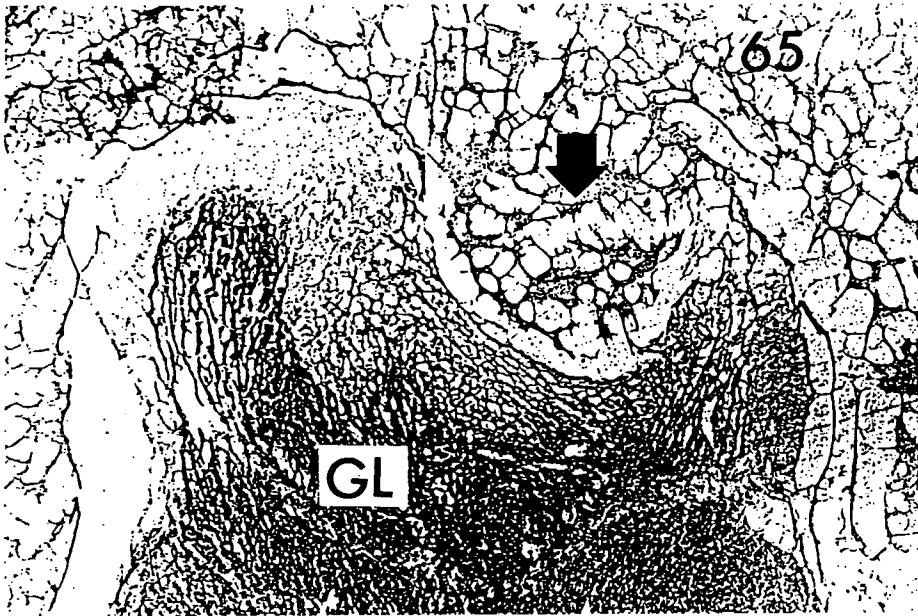
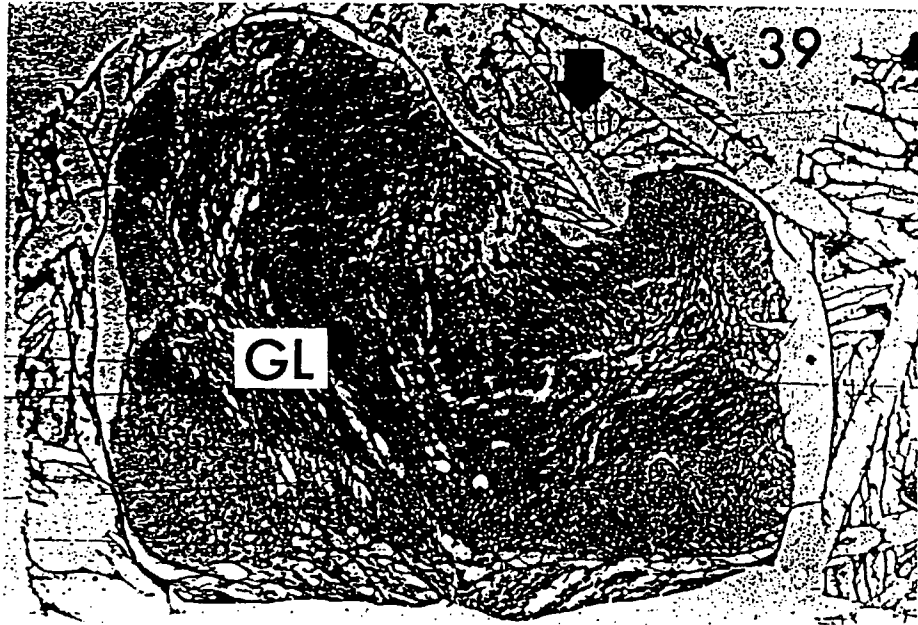


図13 脳波電極による小脳組織の圧迫像（矢印）。  
 耳石摘出鯉（65）で軟膜が損傷、正常鯉（39）では損傷なし。  
 GL、小脳体部の顆粒細胞層。

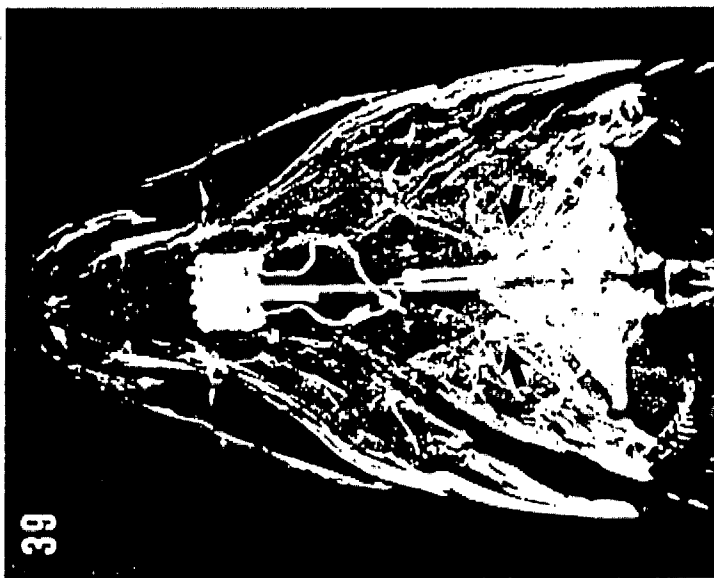
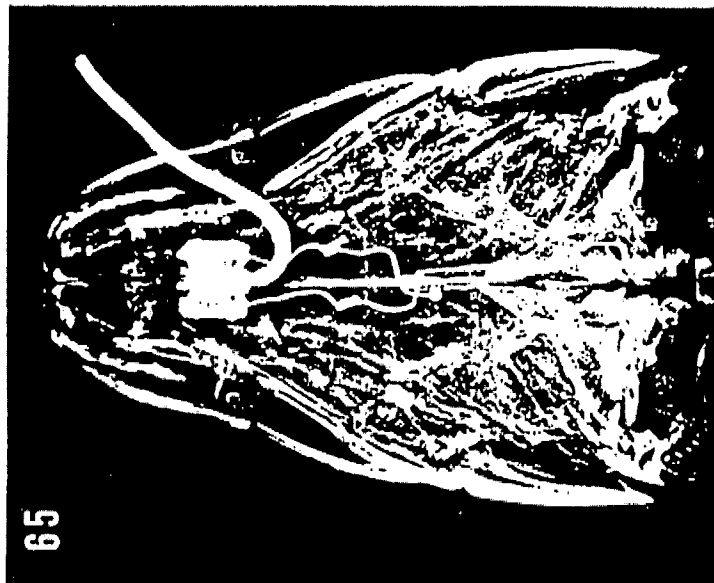
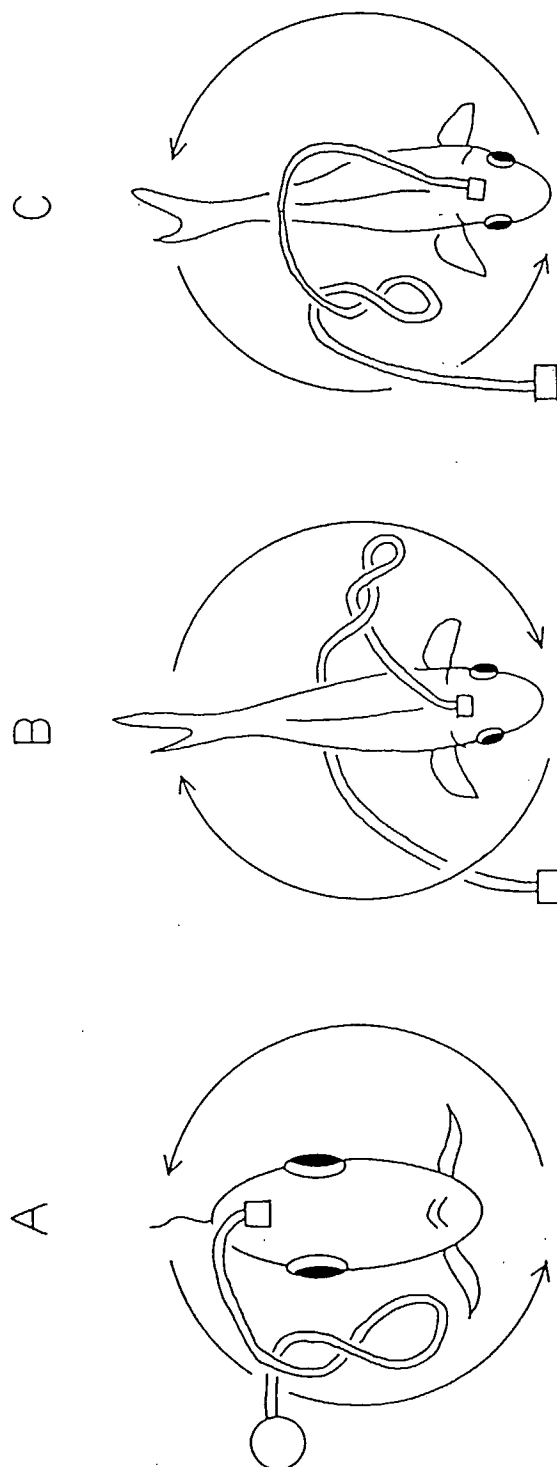


図14 飛行鯉頭部X線像  
 39、正常鯉、65、耳石摘出鯉、  
 矢印、耳石に陰影。



Right rotation      Right turn above the cable      Left turn under the cable

図15 耳石摘出鯉に見られたケーブル 'よじれ' を起こす3つの可能性

## 無重力環境暴露が鯉の骨格筋に及ぼす影響

鹿屋体大                      大平 充宣、刈谷 文彦、安井 渉、開発 健一  
鹿児島純心女子短大      田中 美智子

### まとめ

正常及び両側前庭剔除の錦鯉それぞれ一匹ずつを8日間無重力暴露し、各ヒレの動きに關与する筋及び血合筋の形態及び代謝特性が如何なる反応をするか地上コントロールと比較した。胸及び尾の血合筋は他の白筋部に比べて succinate dehydrogenase 及び cytochrome oxidase (CO) 活性が高かったが、lactate dehydrogenase (LDH) 活性には各筋間に有意な差は認められなかった。前庭剔除により一般的にCO及びLDH活性は低下する傾向が認められたが、宇宙飛行に伴う変化は明らかではなかった。白筋部は速筋線維と思われる太い線維、遅筋線維と思われる細い線維、それに中間タイプの線維で構成されていた。背部の速筋線維の横断面積は他部より顕著に大きかった。血合筋の中央部は細い遅筋線維のみによって構成されていた。しかし、組織化学的特性には宇宙飛行の影響は確認できなかった。サンプル数が少なかったこと、飛行期間が短かったこと、それに鯉はもともと無重力環境のシュミレーションとしてよく利用される水中に棲んでいることなどによるものと思われるが、機会があったら更に検討を加えたいものである。

### はじめに

宇宙飛行に伴いラットやヒトの骨格筋（特に抗重力筋）が萎縮したり、代謝特性が変化することはよく報告されている（1-3）。このような変化を起こすメカニズムの詳細は明らかでないが、少なくとも抗重力活動の除去に起因していることは明白である。ところが水中に棲む魚は、陸上の動物に見られるような抗重力筋の活動は必要ない。しかし、重力に反応した姿勢制御を行っている。従って、無重力環境ではこのような姿勢制御機構に変化が現れるはずであるが、果たして骨格筋に形態的または機能的変化が起こるのか知られていない。そこで無重力に暴露した鯉の骨格筋を分析してみた。尚、重力に応じた姿勢制御が抑制される前庭剔除手術を施した鯉でも検討した。

## 方法

宇宙飛行が鯉骨格筋の形態及び代謝特性にどのような影響を及ぼすか検討した。スペースシャトルによる8日間の宇宙飛行を行ったのは2ヶ月前に両側前庭剔除した鯉(SF-L)と正常な鯉(SF-N)の各1匹ずつであった。飛行前2日前から飛行後4日目まで絶食させた。飛行後4日目に麻酔下でサンプリングを実施した。プレテストで電気刺激及び筋電図測定より推定した背ビレ、胸ビレ、腹ビレ(前後)、尾ビレの動きと関係のある筋及び胸部の血合筋を採取した。尾部の場合も、赤筋を採取した。各筋は2つに分け、一方は組織化学的分析、他方は生化学的分析用に液体窒素で冷やしたイソペンタン及び液体窒素中で瞬間凍結した。地上コントロールとして、同様に絶食させた鯉(GC-S, 4匹)、エサを与えながら飼育した正常鯉(GC-N, 3匹)、それに前庭剔除しエサを与えた鯉(GC-L, 5匹)の3群を加えた。

生化学的分析用のサンプルは、まず分析まで $-80^{\circ}\text{C}$ に保存された筋の一部を解凍し、 $175\text{ mM KCl}$ バッファー( $10\text{ mM Tris-HCl}$ 及び $2\text{ mM EDTA}$ を含む、 $\text{pH } 7.2$ )中で、ポリトロンを用いてホモジナイズした。その後サンプルの入った試験管は氷の中に保存したが、ホモジナイズ2時間以内にsuccinate dehydrogenase (SDH, 4), cytochrome oxidase (CO, 5), lactate dehydrogenase (LDH, 6)の活性を分光光度計を用いて分析した。タンパク質もLowryの方法(7)を用いて測定した。組織化学的分析用には $-20^{\circ}\text{C}$ のクライオスタット中で $10\text{ }\mu\text{m}$ の連続横断切片を切った。切片はカバーガラスに付着させ、 $\text{pH } 4.35$ 又は $8.75$ でブレインキュベーションした後に、Nwoyeら(8)の方法により定質的にmyosin ATPaseを染色した。

## 結果及び考察

図-1~6にはSDH活性、図-7~12にはCO活性、図-13~18にはLDH活性が示してある。3種の地上コントロール群間では有意差検定を行ったが、飛行群は各群一匹ずつであるため統計的有意性の検定は行わなかった。その結果、SDH活性はどの筋においても、グループ間に差は認められなかった。CO活性は例外はあるものの一般的に地上コントロールの前庭剔除群が正常群より低い傾向にあった。LDH活性は正常群に比して前庭剔除群の胸ビレ及び尾ビレの動きに関係した筋における値が低い傾向にあった。CO及びLDH活性に見られた傾向は、耳石を摘出することにより、重力下では鯉の姿勢保持などに何らかの影響が出て、酵素活性が抑制されることを示唆するものと思われる。この場合、両群共、エサは常に与えられており、絶食による効果は無視できる。尾の赤筋ではGC-N群よりもGC-S群の値が低かった。14日間の絶食の影響が出ていることも推察される。

各グループにおける筋ごとの酵素活性は図-19~33に示してある。SDHと



CO 活性は各群とも胸部及び尾部の赤筋が他部位の白筋よりも高値であった。しかしながら、LDH 活性はこれらの赤筋が低い傾向にあるグループも見られたが、全体的には各群間で差がないと言えよう。

鯉の筋は一般的に白筋であるが、体側中央部の血合筋は赤筋である。白筋は図-35及び36に示してあるように、pH 4.35のプレインキュベーションであまり染色されない大きな線維（おそらく速筋線維と思われる）と濃く染色される小さな線維（おそらく遅筋線維）に大別できる。更には横断面のサイズ及び染色濃度の両方が中程度の線維も認められる。このように白筋部にも遅筋線維と思われる線維が分布していることがわかるが、全体的に各線維が占める割合は白筋線維の面積が明らかに大きい。胸部血合筋の例は図-37に示してある。周囲の白筋部から血合筋の中央部に移行するにつれて、横断面の大きな速筋線維の分布が次第に減少して行くのがわかる。しかも胸部の速筋線維は背部のそれより細いことも示唆された。血合筋の中央部はほとんど小さな遅筋線維で構成されているが、各線維は結合組織により分離されている。血合筋中央部に近い辺りにある太い線維は白筋部の速筋線維とはタイプが異なり、myosin ATPase 染色では中間筋的な性質を有するものである。

このように白筋及び赤筋には組織化学的に顕著な差が認められたが、宇宙飛行や耳石除去などによる変化は認められなかった。生化学的特性同様、サンプル数が少ないため、本当に変化しないのかどうかは明らかではない。しかしながら、鯉の姿勢制御には特に血合筋や胸ビレ、尾ビレなどが大きく貢献するという示唆も得られており（9）、重力に抗した姿勢保持をしない期間を更に延ばしたり、鯉の例数を増やしたりすると、あるいは筋の形態や機能にも有意な変化が起こる可能性もある。

#### 参考文献

1. Ilyina-Kakueva, E.I., V.V. Portugalov, and N.P. Krivenkova. Space flight effects on the skeletal muscles of rats. *Aviat. Space Environ. Med.* 47: 700-703, 1976.
2. Oganov, V.S. and A.N. Potapov. On the mechanisms of changes in skeletal muscles in the weightless environment. *Life Sci. Space Res.* 14: 137-143, 1976.
3. Ohira, Y., B. Jiang, R.R. Roy, V. Oganov, E. Ilyina-Kakueva, J.F. Marini, and V.R. Edgerton. Rat soleus muscle fiber responses to 14 days of spaceflight and hindlimb suspension. *J. Appl. Physiol.* 73 (Suppl): 51S-57S, 1992.
4. Singer, T.P. Determination of the activity of succinate, NADH, choline, and  $\alpha$ -glycero-phosphate dehydrogenase. *Methods Biochem. Anal.* 22: 123-175, 1974.

5. Wharton, D.C. and A. Tzagoloff. Cytochrome oxidase from beef heart mitochondria. *Methods Enzymol.* 10: 245-250, 1967.
6. Pesce, A., R.H. McKay, F. Stolzenbach, R.D. Cahn, and N.O. Kaplan. Comparative enzymology of LDH. *J. Biol. Chem.* 239: 1753-1761, 1964.
7. Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, and R.J. Randall. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275, 1951.
8. Nwoye, L., W.F.H.M. Mommaerts, D.R. Simpson, K. Seraydarian, and M. Marusich. Evidence for a direct action of thyroid hormone in specifying muscle properties. *Am. J. Physiol.* 242 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 11): R401-R408, 1982.
9. 大平 充宣, 倉田 博, 安井 渉, 刈谷 文彦, 若月 徹. 筋電図で観た重力下における鯉の姿勢制御. *宇宙航空環境医学* 29: 122, 1992.

(図 1 - 図 3 7 省略)

## F M P T / L - 2 実験の鯉にみられた窒素・炭素安定同位体自然存在比

石巻専修大学理工学部基礎理学科 水谷 広

### 1. 生物組織に含まれる安定同位体

生き物も、土や水・空気などと同じく元素の集まりであり、そこには各種の同位体がふくまれている。たとえば炭素の同位体組成は、石灰岩であっても大気中の二酸化炭素であっても、 $^{12}\text{C}$ がおおよそ 99%、 $^{13}\text{C}$ が 1% である。

しかし、もう一步突っ込んで、同位体組成の小数点以下のところに注目してみると、石灰岩では $^{12}\text{C}$ が 98.888% であるのに、大気中の二酸化炭素では 98.896% で、0.008 ポイント異なっている。生き物同士でも、木の葉は 98.917% なのに、道ばたの雑草は 98.903% という具合である。このような違いは異なる動物の間でも見ることが出来、それを生じる原因の一つが、動物では餌の違いであるが、その他の生理的要因も違いを生じる原因となり得ると考えられる。

これまでに、この同位体の相対的な量変化を用いて、各種の興味ある知見が得られている(水谷 1992, 1993)。したがって、いま仮に同位体の量変化が重力に依存するのであれば、これも貴重な知見となろう。そこで、L - 2 実験で使われたコイ (*Cyprinus carpio*) の筋肉を用いて、その検証を試みた。本論では、以下に(1)式で示す $\delta$ 値を量変化の指標として用い、それが重力によって影響を受けるか否かを調査した。

$\delta$  値は、試料中の同位体の量比、たとえば $[^{13}\text{C}] / [^{12}\text{C}]$ 、が適当に選んだ標準物質にくらべてどの位ズレているかを、千分率(パーミル)で現わしている。すなわち、同位体比が標準物質と同じ試料ではゼロとなり、大きければプラス、小さければマイナスになる。

$$\delta H = \{(R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}) / R_{\text{standard}}\} \times 1000 \quad \text{--- (1)}$$

ここで、 $R = [H] / [L]$ 。Hは質量数の大きい同位体、

Lは小さい同位体、 $[\quad]$ はその数を示す。

炭素の場合、標準には、通常 P D B と称される米国 South Carolina 州の白亜紀 Pee Dee 層から見いだされたベレムナイト類の殻化石を使う。また窒素では、空気中の窒素分子を用いている。

### 2. 試料処理および同位体比の測定

凍結状態で到着した魚体から右側面の筋肉を採取し、水洗後、凍結乾燥器で乾

燥した。乾燥後、粉碎器を用いて均一化し、石英管中に銅・酸化銅・銀片と一緒に封じた。これを、850°Cの電気炉に2時間さらし、冷却後、管を真空装置につなぎ、内部の燃焼ガスから窒素ガスを分離精製した。こうして分離されたガスを質量分析計に導入し、安定同位体量を測定し、それから(1)式の定義に基づいて窒素の $\delta$ 値を求めた。炭素については、乾燥・粉末処理後、油分を抽出除去したものを再度乾燥した後に石英管内に封じ、同様の熱処理後、真空ライン中で二酸化炭素を分離・精製の後に捕集し、窒素 $\delta$ 値測定と同様の操作で、炭素の $\delta$ 値を得た。得られた値の測定誤差は、窒素で0.2パーミル、炭素で0.1パーミル以下であった。

### 3. 結果と考察

調査の対象となったコイ個体は、実際にフライトした2尾を含む6個体であった。表1に、それぞれの履歴を示す。

表1 各コイ個体の履歴

ID #	食餌スケジュール	フライトの有無	耳石摘出の有無
38	TYPE 1	NO	NO
50	TYPE 1	NO	NO
1	TYPE 2	YES	NO
2	TYPE 2	YES	YES
85	TYPE 2	NO	YES
82	TYPE 3	NO	YES

これらのコイは総て、当初、弥富養魚場で3種の浮き餌を用いて飼育され、7月24日からは、米国フロリダ州に移って沈下性の餌を与えられた。コイ同志の間で食餌内容に差が生じるのは、この後のことである。

すなわち、表1でTYPE 1としたものは、8月25日からフロリダのペットショップから購入した浮き餌(Swimmy Japanese Koi Food - Basic, Hikari)に切り換えられ、9月16日に死亡するまで、この浮き餌を与えられた。TYPE 2は、フライトしたコイの食餌スケジュールであり、この場合、TYPE 1と同じく浮き餌に切り換えられたが、9月10日以降は餌が与えられず、実験終了後、死亡するまで絶食を続けた。浮き餌に切り換えたのは、実験の都合上、この時から浮きコンテナ内でコイを飼育したためである。この浮きコンテナに入らなかった

コイ(ID #: 82番)は、9月16日の死亡日まで主として沈下性の餌を採餌していたと思われるため、TYPE 3 とした。

なお、浮きコンテナ使用中でも、沈下性餌も同時に与えたため、一部、浮きコンテナ中のコイでも沈下性餌を採餌した可能性がある。また、38, 1, 50 の3個体については、7月24日から8月7日までは、フロリダ州のバックアッププールで飼育されており、米国内ではケネディ宇宙センターのみで飼育された他の3個体とは、地理的には異なる環境にあった。しかし餌そのものについては共通であったと考えられ、この2グループ間で何らかの同位体的違いが生じることは、期待出来ないと思われる。

図1は、この6尾のコイについて、炭素と窒素の分析結果を、米国で与えられた2種の餌の結果とともに示したものである。沈下性の餌と浮き餌とでは、特にその炭素 $\delta$ 値に大きな違いがみられる。これは、トウモロコシなどのC4植物由来の有機物が浮き餌には比較的多く用いられていたからであると推定される。この同位体分析結果は、重力の大小による筋肉 $\delta$ 値の変化は目立って大きいものではないと推測されよう。さらに細かい変化の有無は、給餌方法について同位体の観点から一層の実験精度を高めることなどによって知ることが出来るものといえる。図1の結果からは、この他にも、いくつかの知見が導かれる。それを以下に述べよう。

### 3.1. 炭素・窒素の安定同位体生物濃縮度

6尾のコイのうちで唯一82番は、米国において死亡するまで基本的には沈下性の餌のみで飼育されていたと考えることができる。このことから、餌から筋肉への安定同位体濃縮度を出すと、炭素で1.1パーミル、窒素で4.1パーミルとなる。これは、余り数は多くないが、これまでに報告されている動物筋肉への同位体濃縮度として妥当な数字である。たとえば、Minagawa and Wada (1984)では、4種の魚類について3.0から5.1パーミルの窒素濃縮が報告されている。

### 3.2. 筋肉構成炭素の代謝交換速度

他のコイについては、主たる食糧が沈下性のものから浮き餌へと変化したと考えられる。そしてこれが図1にも現れている。すなわち、これらのコイでは82番のコイ試料にくらべて、50番以外どれも炭素・窒素の $\delta$ 値が高くなっている。今、この4尾について単純な代謝交換率を出すと、炭素で18%が交替したことになる。

浮き餌が与えられた期間は、フライトしたコイで2週間、コントロールのコイで3週間程度である。この間で18%というコイ筋肉の炭素交換速度が、他の方法で得られるものと同様であるのか否かは、興味深い。なお、同様の計算を窒素について行くと、既に全窒素が浮き餌由来のものに置き代わっているという結果が出る。しかしこれは、窒素では両餌間の $\delta$ 値の違いが炭素に較べて小さいことなどから、そのまま受け取るべきものではないと考えられよう。

### 3.3. 体重減少と $\delta$ 値変化

今回の実験において、一つ特徴的だったことにフライト中の顕著な体重減少がある（森ら，1993）。すなわち、2匹のコイは、打ち上げの2日前から死亡するまでの14日間、餌を与えられなかった。この間における体重減少が1番コイで11.4%、2番コイで13.0%であり、地上で期待される体重減少率（5%以下）と較べて相当大きかった。その原因が何であるかは今後、明確にされるべきであるが、同位体とコイの生理という観点からみると、以下のような点が興味あるものであろう。

すなわち体重減少は、相当量、筋肉の減少を反映していると考えられる。フライト実験終了後、搭載用容器内の水では、亜硝酸ならびに硝酸の濃度が高い状態にあった。これも、筋肉などのタンパク質の分解が昂進していた結果と考えられよう。この時、 $\delta$ 値については、引き続き餌が与えられており筋肉の一方的な分解がなかった地上のコイと炭素・窒素ともに有為な差を見ることが出来ない。これは、筋肉の異化作用における同位体の分別が小さいことを示唆していると思われる。

現在、生体から排泄される窒素の $\delta$ 値が筋肉中のものに較べて低いという報告がウシやグッピーについてあり、他方でペンギンについてはそのような差の無いことが言われている。これは同位体の生物濃縮がどのようにして起きるかという機構を知るのに有力な係わりを持ち得るものでありながら、まだ、統一的に理解されていない。今回の結果は、この問題について一つの知見を与えるものである。さらに今後、容器中に排泄された窒素の $\delta$ 値などについても分析されれば、硝酸と亜硝酸態窒素の由来を明らかにする助けとなるばかりでなく、窒素同位体の生物体中での動態についても、その重力との関連も含めた知見を得ることが出来るだろう。

## 4. 結論

生元素安定同位体の挙動と生物の生理との関連は、地上での研究がこれから進められるべき段階であり、それを宇宙において広く利用し何らかの知見を得ようとするレベルにはまだ達していないと言える。しかし、自然存在する安定同位体の変化を観測することは、基本的に、どのような試料からでも可能である。そこで今回、コイ実験で得られた試料について、一部、分析を試みた結果、重力との関連については、著しいつながりは認められなかったが、これとは別に、2つの相反する結論が得られた。

すなわち一つには、同位体を用いた分析は他の実験を制約することなく実行することが出来、しかも、いくつかの興味ある結果が得られるということである。それは、今回の実験では、生物濃縮度、生体成分の交替速度ならびに異化における $\delta$ 値変化についての知見であり、従来から期待されていた通りのものである。そして、もう一つの結論は、これらの知見を一層明確にするためには、もう一步

踏み込んだ係わりが必要だということである。それは、搭載容器内の硝酸を分析するといったコイ実験の本来の目的に全く関係しないものから、給餌の内容を同位体的に明確なものにするといった、場合によっては他の研究目的との関連において事前に検討を要することが有り得るものまでであるだろう。

#### 参考文献

Minagawa, M., and Wada, E. (1984) *Geochim. Cosmochim. Acta* 48, 1135-1140.

水谷 (1992) 最先端技術 3 はなやかなバイオ技術 (内野研二編), p.111-143, 森北出版, 東京; (1992) 質量分析, 40, 95-106; (1992) 生物物理, 32, 39-42; (1993) *C E L S S Journal*, 5, 30-37.

森ら (1993) 第10回宇宙利用シンポジウム プロシーディング

図1 コイと餌のδ値

