

令和 3 年 8 月 21 日現在

機関番号：88003

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2020

課題番号：17K19334

研究課題名（和文）ジョーズの謎：ホホジロザメの子宮内環境の解明と人工哺育技術の開発

研究課題名（英文）Research of the intrauterine environment and development of an artificial uterus apparatus for shark embryos

研究代表者

佐藤 圭一（Sato, Keiichi）

一般財団法人沖縄美ら島財団（総合研究センター）・総合研究センター 動物研究室・上席研究員

研究者番号：80721745

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,600,000円

研究成果の概要（和文）：ホホジロザメなど卵食型の繁殖様式を持つネズミザメ目や、その他の母体依存型のサメ類について、繁殖様式を解明するため子宮内構造や子宮内液の調査を実施した。その結果、現状ではホホジロザメのみが子宮ミルク様の物質を分泌し、他のネズミザメ目では見られないことが判明した。また、子宮内環境を再現することにより、人為的にサメの胚体を育成する「人工子宮」の開発を行い、ツノザメ目魚類のヒレタカフジクジラ胎仔の4か月にわたる長期育成と、人為的な出産に、世界で初めて成功した。今回の研究で開発した人工子宮装置は、様々な繁殖様式を持つサメ類に対して適用可能であるため、域外繁殖による希少種の保存に貢献すると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サメ類の繁殖様式は極めて多様であり、その進化プロセスや生理学的な知見は極めて乏しい。本研究は、ホホジロザメに代表される胎生のサメ類にみられる子宮内の構造や環境に関する知見を集積し、子宮内環境の再現した人工子宮装置による人為的な哺育を目指している。また、その先には絶滅が危惧される大型サメ類の保全を見据え、将来の人為的な増殖を可能とする技術として、オプションの一つとしての選択肢となりうる。社会的な活動として、水族館施設を活用し、サメ類の多様な生態を最新の研究成果に基づき展示・解説することにより、海洋生物の多様性とその理解の重要性を普及啓発し、関心の高い話題を提供することができる。

研究成果の概要（英文）：Studies on the uterine structures of sharks have been performed for understanding the diversity of reproductive mode in the Lamniformes and other matrotrophic sharks. For the moment, the lipid histotrophy was restricted in the early gestation stage of the white shark, and it could not be found in other lamniform species. For further understanding of the intrauterine environment, we developed an artificial uterus apparatus in preparation for the premature delivery of sharks with various reproduction modes. As a result of preliminary experiment of the deep-sea lantern shark, the world's first successful long-term rearing over four months and artificial birth of the pups. Artificial rearing can match the reproduction modes of shark species with the goal of contributing to the understanding and conservation of many protected shark species.

研究分野：軟骨魚類学

キーワード：ホホジロザメ 繁殖 子宮 人工子宮 保全 ヒレタカフジクジラ

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) ホホジロザメをはじめとするサメ類の繁殖学的知見は非常に乏しく、繁殖様式や妊娠期間、繁殖周期など基礎的な知見すらほとんど知られていない。研究代表者(佐藤)らの先行研究により、本種は妊娠過程で子宮ミルクおよび栄養卵を胎仔に供給していることが明らかとなっている。しかし、ホホジロザメの捕獲例は少なく、より詳細な繁殖学的知見が必要であると同時に、保全に向けた取り組みが急務となっている。

2. 研究の目的

ホホジロザメの繁殖の謎を解明し、絶滅が危惧される本種の人工哺育を可能にする技術開発を目指す。本課題を達成すべく、以下の課題にとりくむ。

(1) ホホジロザメをはじめとするネズミザメ目魚類の繁殖様式・妊娠過程の解明、および、繁殖生態学的知見の集積を行う。また、場おいロギングにより、本種の回遊を追跡し、詳細な分布パターンを明らかにする。

(2) 沖縄美ら海水族館と連携し、人為的な子宮内環境の再現と人工哺育、幼魚の初期育成にとりくむ。沖縄県内では、妊娠後期の死亡した混獲メスが得られた場合、胎仔を速やかに子宮から救出し、子宮内の環境を人為的に再現した人工哺育を行う。ホホジロザメが得られない場合は、他の胎生サメ類を用いて哺育実験を行う。

(3) 本研究で得られた知見を、学術論文として公表するだけでなく、世界各国の水族館や研究機関に対する技術供与や、教育施設での環境教育への活用など、世界での幅広い利用を行う。

3. 研究の方法

(1) サンプルの入手：子宮および子宮内の液体組成に用いるサンプルは、沖縄県内の漁業者により混獲され死亡したホホジロザメ(出来るだけ新鮮なもの)、および宮城県気仙沼市で多く水揚げされるネズミザメから採取可能な子宮を用いる。ホホジロザメについては主に1月-2月、ネズミザメについては周年サンプリングが可能である。妊娠過程を詳細に調査するため、ネズミザメについては年間4回のサンプリングを行う。

(2) 子宮内壁の組織学的研究：粘液物質、脂質、タンパク質(アミノ酸)、糖質の他、哺乳動物の乳汁に特徴的な物質について分泌の有無を分析するため、ホホジロザメおよびネズミザメの子宮の一部をホルマリン溶液、ブアン液、オスミウム酸、カルノフスキー液等にて固定

し、実験室にて組織切片を作成、PAS、免疫染色を行い光学顕微鏡および走査電子顕微鏡で観察する。各妊娠段階において、分泌物質の組成に変化が見られるか検証する。また、子宮上皮における遺伝子発現状況を分析し分泌物質の成分を探索。

(3) 子宮内の液体組成分析：子宮内の液体組成を調査するため、冷凍保管中のサンプルおよび新規に採取した液体について、各種イオン濃度、尿素、脂質等の濃度測定を行う。これらの計測は、沖縄美ら島財団が保有する臨床化学分析装置「DRI-CHEM」で計測する。

(4) 子宮内の酸素供給機構の分析：ホホジロザメの胎仔が要求する酸素量および子宮内壁から供給可能な酸素量を、子宮の絨毛糸および鰓弁の表面積から推定する。

(5) 人工子宮装置の製作：調査で得られた知見に基づき、子宮内環境に近似する浸透圧、pH、溶存物質をもつ人工的な子宮内液を調整する。ホホジロザメでは、子宮内の物質が妊娠の経過とともに変化すると考えられるため、技術的に実現可能性の高い妊娠後期の液体作成から開始する。

4. 研究成果

(1) サンプリング調査：平成29年8月より、気仙沼魚市場にてネズミザメ類の子宮サンプル、および胎仔サンプルの収集を開始した。妊娠前の個体から妊娠後期の個体に関して、様々なサンプルを収集することができた。令和2年以降については、新型コロナウイルス感染症の拡大に伴い、サンプリング調査が不可能となった。

(2) 子宮内壁の組織学的研究：

① 妊娠前のネズミザメ子宮内壁の状態

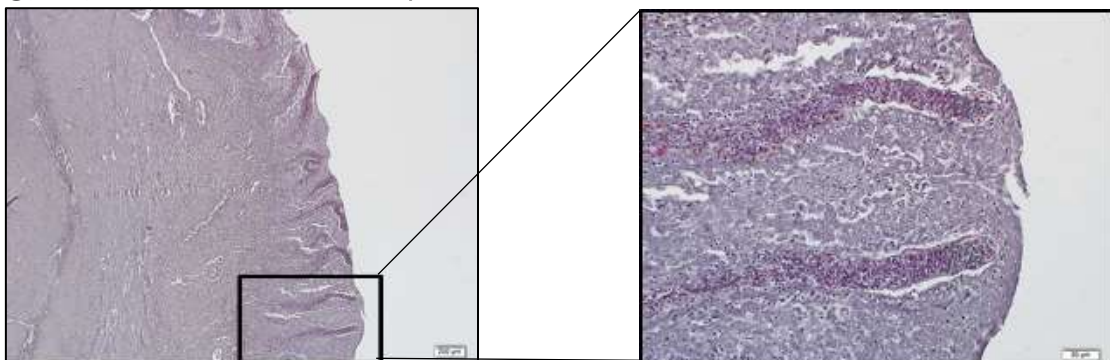


図1：子宮表面は極めて平滑であるが、妊娠後に絨毛状突起を形成すると思われる組織が確認さ

れた。(口部拡大)

ネズミザメ子宮内壁の組織像を比較した結果、①妊娠前のネズミザメ子宮内壁には、絨毛状突起のひだは見られず、内部に埋没した状態で存在している、②妊娠の初期～中期になると、子宮内壁の表面組織が崩壊し、絨毛状突起があらわれ、粘液程度の分泌を行っていると思われる、③妊娠後期には、子宮内壁の絨毛状突起に2次的な凹凸が生じ、その表面近くに血管が分布する。このような状態は、ホホジロザメの妊娠後期に見られる子宮内壁の変化と同様である。一方、ホホジロザメの妊娠初期～中期に見られる、子宮ミルクの分泌は、ネズミザメにおいては観察されていない。現状では、ネズミザメ類における脂質を多く含むミルク分泌の有無については、断言することができないと思われる。

②妊娠中期のネズミザメ胎仔・子宮の状態



図2：全長約25cmのネズミザメ胎仔



図3：子宮内壁の状態

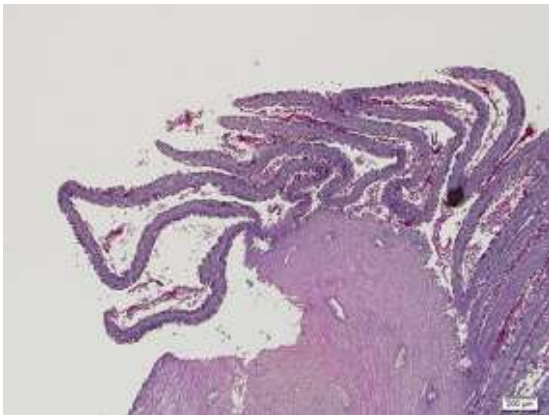


図4（左）：絨毛状突起の表面組織像。妊娠前と比較し、突起が表面に現れている。

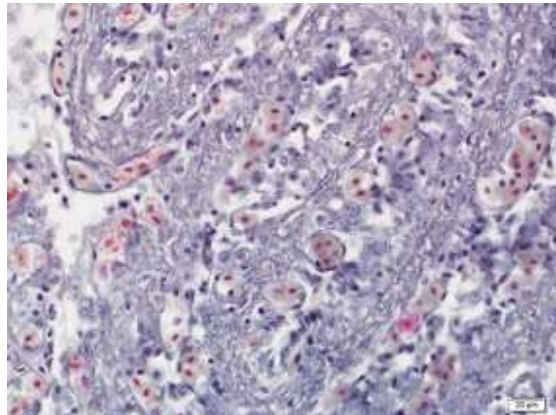


図5（右）：絨毛状突起の表面には血管が密に分布するが、粘液以外の分泌像は確認できない。

③妊娠後期のネズミザメ胎仔・子宮の状態



図6（左）：卵食を終えたネズミザメの胎仔と子宮全体（一对のうちの片側）の様子



図7（右）：子宮内壁の状態

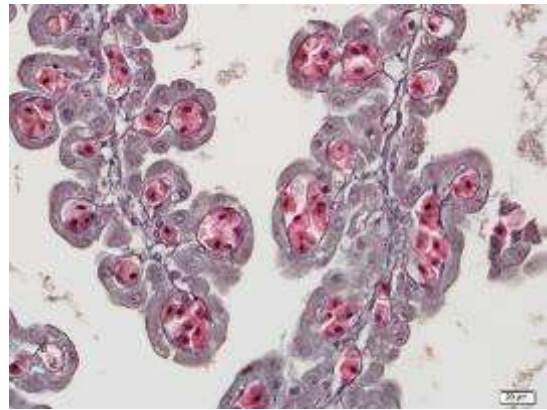
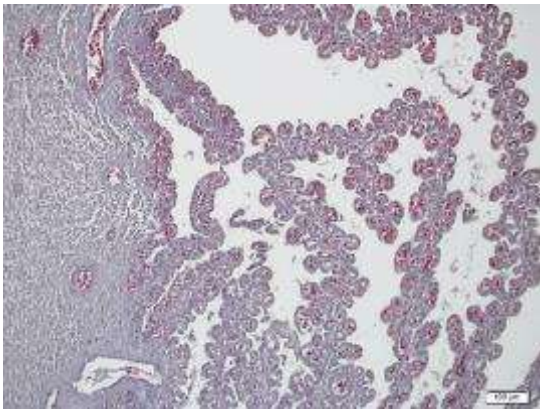


図 8 (左)：後期の絨毛状突起の表面組織像。突起の表面にさらに二次的な凹凸が見られ、その表面に血管が分布している。

図 9 (右)：後期の絨毛状突起の表面組織像をさらに拡大した画像。魚類の鰓の表面に見られる 2 次鰓弁状の構造が見られることから、ガス交換に寄与していると考えられる。

(3) 子宮内の液体組成分析：本研究では、妊娠後期のホホジロザメから子宮内液を採取し、液体の組成を詳細に分析することができた。その結果、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- の濃度は、それぞれ 402, 4.5, 366 mEq/L であり、明らかに海水との相違がみられた。つまり、子宮内の胎仔は、海水とは隔離されて環境にあり、親の体液組成との類似性があることが明らかとなった。

(4) 子宮内の酸素供給機構の分析：今回の調査により、ホホジロザメの子宮の内壁は微細な絨毛状の突起で覆われ、この突起の構造によって表面積が平滑面と比べて約 60 倍になっていることが判明した。さらに、子宮表面での酸素交換効率を推定したところ、他種のサメの 250 倍から 400 倍にも達し、魚の鰓に匹敵する能力をもつことが明らかになった。つまり、ホホジロザメの子宮は強力な酸素供給能力を持ち、胎仔は子宮内液に溶け込んだ酸素を呼吸に利用していることが判明した。

(5) 人工子宮装置の開発：ホホジロザメをはじめとする大型の胎生種に対し、広範に利用が可能な人工子宮装置の開発を行った。

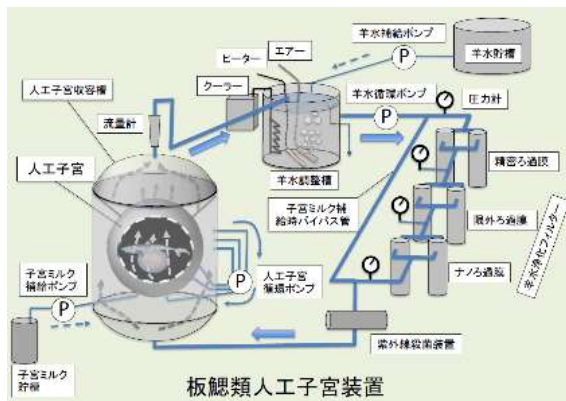


図 10 (左)：今回開発した人工子宮装置の概略および液注ポンプ

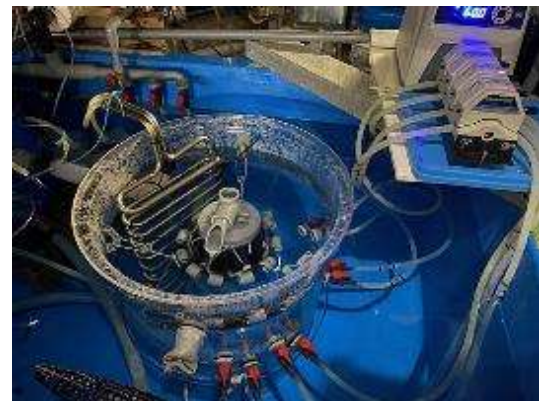


図 11 (右)：人工子宮装置の飼育槽部および液注ポンプ

この人工子宮装置は、大型のサメ類の胎仔を長期間にわたり、子宮内環境に近似した環境で育成し、その間必要となる栄養物質や酸素、老廃物の除去、細菌類の除去を行うことが可能な設計となっている。また、胎仔を収容するタンク内の液体組成としては、より親個体の体液組成に近いものとするため、海水と淡水をそれぞれ 1:0.86 の割合で混合した液体に、尿素を 30-60g/L 溶解したものを使用した。

本装置の有用性を検証するため、小型で実験に利用することが可能な胎生種（ヒレタカフジクジラ）を用いて、予備的な実験を行った。材料は 2020 年 10 月 29 日に、沖縄本島西岸の水深 500m 付近の海底から、ヒレタカフジクジラの妊娠個体が採集された親個体の死亡後、その体内から全長約 10 センチメートルの胎仔を採取し、沖縄美ら海水族館に設置された人工子宮装置にて、146 日間にわたり人為的に育成した。その結果、胎卵黄嚢の吸収がほぼ終了した段階で、海水への馴致を繰り返し実施し、収容から 4 か月後に人為的出産を行った。



図12：人工子宮で育成されているヒレタカフジクジラの胎仔（写真・全長18cm）

また、海水収容後には、初めて摂餌も観察されたため、出産までの人工哺育に関しては成功したと判断した。この実験を通して、妊娠後期以降のホホジロザメについては、人為的な環境下での疑似的な妊娠状態を再現することが可能であると考えられる。一方、栄養物質の供給を伴う、妊娠初期の胎仔の育成

については、尿素の分解によるアンモニウムイオンの発生とその除去を行う必要があるため、子宮内液の備蓄を大量に保持したうえで実験を行う必要がある。今後は大型装置の開発による実験を継続して行う予定である。

(6) バイオロギングによる妊娠個体の回遊経路の解明については、本研究においてタグの不具合により追跡実験を行うことができなかった。しかしながら、県内漁業協同組合（秘密保持のため、捕獲者と捕獲位置の情報は秘匿する）との連携により、助成期間内に唯一混獲されたメスの大型個体について、タグの装着と輸送・放流までの過程を実験的に実施し、問題なく放流まで行うことが可能であった。これは、将来の追跡実験を行う上で、重要な試験結果であるといえる。以上の研究を通して、本研究計画の目的である子宮内環境の解明と人工哺育技術の開発について、おおよその内容を達成したと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kawaguchi Mari, Sato Keiichi	4. 巻 6
2. 論文標題 Pregnancy and Parturition: Teleost Fishes and Elasmobranchs	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Encyclopedia of Reproduction Second Edition	6. 最初と最後の頁 436 ~ 442
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/B978-0-12-809633-8.20590-6	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomita Taketeru, Nozu Ryo, Nakamura Masaru, Matsuzaki Shohei, Miyamoto Kei, Sato Keiichi	4. 巻 7
2. 論文標題 Live-bearing without placenta: Physical estimation indicates the high oxygen-supplying ability of white shark uterus to the embryo	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-11973-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Keiichi Sato
2. 発表標題 Our mission: Improvement of aquarium functions to further contribute to society
3. 学会等名 中国自然博物館学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sato Keiichi, Nakamura Masaru, Tomita Taketeru
2. 発表標題 Reproduction in the Great White Shark <i>Carcharodon carcharias</i> , (1) Lipid histotrophy in early gestation
3. 学会等名 International Federation of Placenta Associations (IFPA) 2018 Meeting in Tokyo（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sato Keiichi Sato, Tomita Taketeru Tomita, Nozu Ryo Nozu, Nakamura Masaru, Toda Minoru
2. 発表標題 Study of reproductive biology to create an “artificial uterus” to provide nutrients for great white shark embryos
3. 学会等名 The 10th International Aquarium Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤圭一、富田武照、野津了
2. 発表標題 ネズミザメ類の人工子宮作成を目指した繁殖学的研究
3. 学会等名 日本板鰐類研究会 板鰐類シンポジウム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomita T, Nozu R, Nakamura M, Sato K.
2. 発表標題 Oxygen-diffusion capacity of the white shark uterus: Oxygen delivery to an embryo without a placenta
3. 学会等名 Joint Meeting of Ichthyologists and Herpetologists (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 川端 裕人	4. 発行年 2020年
2. 出版社 筑摩書房	5. 総ページ数 304
3. 書名 科学の最前線を切りひらく！	

1. 著者名 佐藤 圭一、富田 武照	4. 発行年 2021年
2. 出版社 産業編集センター	5. 総ページ数 208
3. 書名 寝てもサメても 深層サメ学	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 軟骨魚綱及び一部の硬骨魚綱海産魚類の大型胚仔飼育方法及び飼育装置	発明者 戸田実、富田武照、 佐藤圭一	権利者 一般財団法人沖 縄美ら島財団
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/ 11737	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>沖縄美ら島財団総合研究センター 動物研究室 https://churashima.okinawa/ocrc/marine_organisms/ 沖縄美ら海水族館 調査研究報告 https://churaumi.okinawa/research/ 沖縄美ら島財団総合研究センターHP: ジョーズの胎仔はなぜ子宮内で窒息死しない? その仕組みを解明 https://churashima.okinawa/ocrc/22/1366 Okinawa Churashima Research Crnter HP: Research activity report http://churashima.okinawa/en/ocrc/339/1387 世界初! 人工子宮装置をもちいた深海の発光ザメ「ヒレタカフジクジラ」胎仔の育成・人工出産に成功 https://churaumi.okinawa/topics/1616482929/</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	富田 武照 (TOMITA Taketeru) (90774399)	一般財団法人沖縄美ら島財団(総合研究センター)・動物研究室・研究員 (88003)	
連携研究者	中村 将 (NAKAMURA Masaru) (10101734)	一般財団法人沖縄美ら島財団(総合研究センター)・動物研究室・参与 (88003)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	野津 了 (NOZU Ryo) (70774397)	一般財団法人沖縄美ら島財団（総合研究センター）・動物研究室・研究員 (88003)	2021年5月より熊本大学 大学院先端科学研究部（理学系） 特任助教

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関