

令和 5 年 10 月 26 日現在

機関番号：82617

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06791

研究課題名(和文)アカボウクジラ科鯨類の胃はなぜ不思議な形をしているのか。

研究課題名(英文)Why Ziphiid stomachs are so peculiar?

研究代表者

山田 格 (YAMADA, Tadasu)

独立行政法人国立科学博物館・その他部局等・名誉研究員

研究者番号：70125681

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：1: オウギハクジラ科鯨類の新生児の全身CTデータを作成し解剖所見と全身連続切片(1cm厚)と比較対照し、胃間膜、大網などとの局所解剖学的関係を明らかにし、複胃が構成される過程を明らかにした。2: アカボウクジラ科鯨類4種の胃を構成する小区画から内容物を採取しeDNAの解析を行った。アカボウクジラ科鯨類の胃が多数の小区画に分けられており局所的な胃内微生物叢の特異性が担保されている可能性を検証するためeDNA解析により胃内微生物の組成を比較検討したが、優先する微生物は確定できず個体差が大きく共通性はみられなかった。3: アカボウクジラ科4種の胃のプラスチック標本を作成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

鯨類は動物食であるにも拘わらず、複胃(複数の部屋に分かれた胃)や、長い腸管をもつ。なかでもアカボウクジラ科鯨類は種によっては10をこえる多数の小部屋に分かれているが、これは「謎」とされている。本研究では、CT画像を参照しながら、アカボウクジラ科鯨類新生児の解剖学に精査し、小部屋に分かれた複胃の発生学的な経過を解明した。これらの小部屋は胃の内部環境を区画しているため、小部屋ごとの内容物の遺伝子解析により、隔離された環境に特異的な微生物が存在して消化機能を維持している可能性を検証しようとしたが今回は果たせなかったが、胃内微生物叢の解析をさらに進めてかれらの消化機能を検証する初の試みだった。

研究成果の概要(英文)：(1) Detailed morphological investigation was carried out on neonate ziphiid whales (a whole body and 1cm thickness sliced sections), referencing CT data, and clarified the topographical anatomical relationship with the mesogastric ligament and omentum, etc. (2) Contents of the separated chambers were collected from four ziphiid whale species and eDNA analyses were made. eDNA data from each small chambers of the stomach were collected and comparative analyses were made to explain the necessity of these small chambers. in order to prove the digestive specificity of these small chambers of ziphiid cetacean stomachs with the gastric microbiota. However, dominant microorganism flora was not specified, and individual differences were large. We need to continue further analyses. (3) We prepared gastric plastination specimens of four beaked whale species to clearly show the specific multi-chambered stomach of the ziphiid whales.

研究分野：海棲哺乳類学

キーワード：アカボウクジラ科鯨類の複胃 複胃の部位ごとの機能 腹腔内の胃のあり方 展示標本作成 胃内微生物叢

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通) \_

### 1. 研究開始当初の背景 \_

- (1) 鯨類の胃は前胃，主胃，連結胃，幽門胃の4区画からなることはよく知られている．アカボウクジラ科鯨類では前胃がなく，さらに連結胃が種によって5個程度から10数個の連続する小区画からなることも知られている．日本周辺で知られるようになったオウギハクジラなどの数種については胃の形態学的な把握がなされていなかった．
- (2) 鯨類の胃が複数の部屋に分かれていることは，脂肪酸解析などによって胃内に特異的な微生物をもち，消化プロセスが存在していることを示している可能性が提起されていた．
- (3) 鯨類の胃内容物としてプラスチックゴミなどの人間活動由来の異物が，検出される事例が増加している．特にアカボウクジラ科鯨類では複数存在する連結胃間の開口部が径10-20mm程度と小さいので異物の滞留可能性が高い．異物が連結胃内に滞留すると，主胃の消化物の移動が困難になり，可能性として食思の喪失，それに起因する餓死の可能性が高く懸念される．

### 2. 研究の目的

- (1) アカボウクジラ科鯨類でこれまで研究されていない種の胃の形態学特徴を明らかにする．動物食であるにもかかわらず消化系の形態が複雑な鯨類にあって，さらに謎の多いアカボウクジラ科の胃の奇怪な形態のもつ意味を明らかにする．Mead(2007)は，アカボウクジラ科鯨類11種の胃の形態を観察し，アカボウクジラ科の基本型(主胃1，幽門胃1)，派生型I(主胃2，幽門胃1)と派生型II(主胃2，幽門胃2)を識別した．本研究では，これに含まれない以下の種の胃について胃の形態を観察しその形態を明らかにする．この3種は，①2019年に申請者らが記載した新種クロツチクジラ (*Berardius minimus*)，さらに従来まったく胃の形態が研究されたことのない種，②イチョウハクジラ (*Mesoplodon ginkgodens*)，③タイヘイヨウアカボウモドキ (*Indopacetus pacificus*) である．
- (2) アカボウクジラ科鯨類の区画された多数の小部屋内の環境を明らかにする．アカボウクジラ科鯨類の胃を構成する小区画内の細菌叢解析：消化器系における胃の意義は，特に哺乳類では消化物を消化酵素によって化学的に分解することによって，小腸以下で吸収されやすい状態にすることと考えられる．鯨類の胃では，主胃が主たる消化活動を行うが，連結室および幽門胃は，内容物の滞留時間を調節している可能性も推測される．アカボウクジラ科では特に10前後の小部屋に区画された連結室の存在が最大の問題であり，この小部屋の肉眼的，ならびに組織学的観察に重点をおいて連結室の機能を解明する．
- (3) アカボウ科鯨類における胃内異物滞留の実態を把握し，アカボウ科鯨類が経験している問題に関する基礎データを得て，彼らの保全のための知見を明確にしたい．

### 3. 研究の方法 \_

- (1) アカボウクジラ科鯨類は，捕鯨対象となっているツチクジラ以外については，ストランディング個体を確保して観察する以外に方法がない．本研究では，アカボウクジラ科鯨類の中でもきわめて珍しい3種について，ストランディング個体を確保し，肉眼解剖学的，放射線学的な方法でこれらの胃の形態を明らかにする．
- (2) 研究期間中に収集されるアカボウクジラ科鯨類のストランディング個体について，新鮮な標本が得られるものについて，eDNA解析を行う．期間中に収集され，eDNA解析の可能性があると判断されたのは，イチョウハクジラ (*M. ginkgodens*) (2個体)，コブハクジラ (*M. densirostris*) (3個体)，オウギハクジラ (*M. Stejnegeri*) (4個体)であった．これらの個体について，胃を構成する小区画の内容物を採取，NucreoSpin®のDNA StoolKitを用いて抽出した総DNAに対し，細菌類の16S領域を増幅するユニバーサルプライマーを用いてPCRを行い，区画ごとの細菌叢解析を行う．

4. 研究成果 \_

(1)

**アカボウクジラ科鯨類の胃形態の精査**

①2019年筆者等が新種として記載したクロツチクジラ (*Berardius minimus*) (Yamada *et al.*, 2019)の胃は、同属のツチクジラと同じくMead (2007)の派生型Iの特徴 (主胃 1 個と幽門胃 2 個) をもつことを確認した (図 1) . ②2002年、筆者等が鹿児島で世界の三例目として確認したタイハイヨウアカボウモドキ (*Indopacetus pacificus*) の胃には、主胃 1 個と幽門胃 2 個を認めMead (2007)の 3 タイプのいずれにも一致しない (図 2) , いわば派生型IIIともいえる特徴をもつ . ③従来胃の形態が報告されていなかったイチョウハクジラ (*Mesoplodon ginkgodens*) については、主胃 2 個と幽門胃 2 個を確認したので Mead (2007)の派生型IIに相当する (図 3) ことを確認した . アカボウクジラ科の胃に見られる小区画は数が多く、かつ区画間の小孔 (径1-2cm) によって固形内容物の移動には顕著な抑制が掛かることが確認された .

ハクジラ類一般で、胃の連結室部分における内容物の通過調整で、非消化固形物の移動が制限されているが、アカボウクジラ科では、胃内小区画の存在によりさらに、固形物の移動が困難で、プラスチックごみなどの固形物は主胃内に滞留しやすいことが明らかになったので、食思の減退とそれに伴う栄養不良の可能性が高いことは、アカボウクジラ科鯨類の保全に大きな障害になることが危惧される .

また、オウギハクジラ、コブハクジラについては、成体では体長約5m、体重1t程度なので、国立科学博物館で所蔵していた新生児各1個体の全身をCT撮影して、かれらの胃の配置を確認した . CT撮影については神奈川歯科大学の好意によりAquilion Lightning Helios (TSX-036A/6A、キャノンメディカルシステムズ株式会社) によって行った . CT像撮影後、オウギハクジラは肉眼解剖学的に解剖し、コブハクジラは全身凍結のうえ、バンドソウで1cm厚の連続切片として、それぞれ解析を進めているが、結果を示すには今後数年を要するものと想定される . 今後は胃間膜 (大網と小網を含む) の配置を詳細に観察して、発生の過程でかれらの胃が腹腔内にどのように収まっているのかなどを含めた考察を進め、アカボウクジラ科の胃の形態、消化管全体の配置などを明らかにしていくことを目指す .

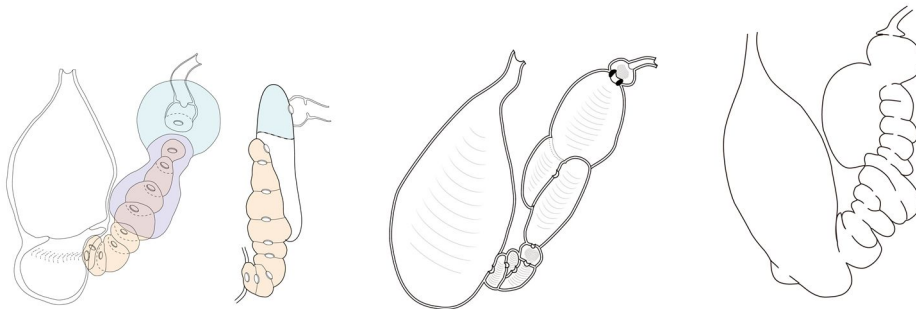


図 1 . クロツチクジラ      図 2 タイハイヨウアカボウモドキ      図 3 イチョウハクジラ

(2)

**アカボウクジラ科胃内細菌 DNA の分析**

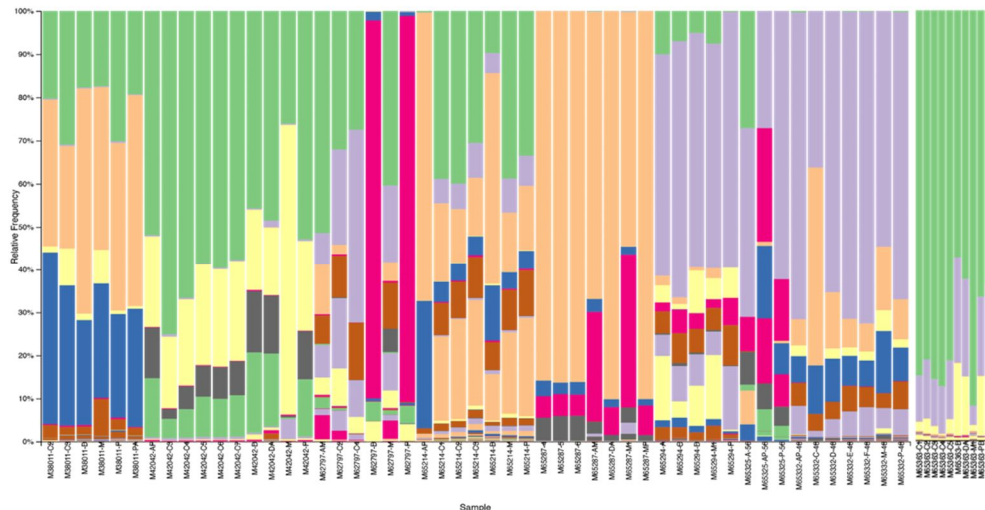
(1)で示したようなアカボウクジラ科各種の胃の形態が、種特異的に区画されていることの意味を考えると、独立した小区画は区画ごとの環境の独立性を確保する機能があるのではないかと推測している . そのため、各区画内の、微小環境を把握する必要があるので、まずは区画ごとの細菌叢検索を試みた . 具体的には各区画の環境 DNA の解析を行った .

各区画の胃液から NucleoSpin® DNA Stool kit (Takara、滋賀県)を用いて総 DNA を抽出した . 抽出 DNA 溶液に対し細菌類の 16S 領域を増幅するユニバーサルプライマー (F: CCTACGGGNGGCWGCAG, R: GACTACHVGGGTATCTAATCC) を用いて 1st PCR を行い、細菌類の DNA を増幅した . さらにイルミナ用インデックスプライマーセットを用いて 2nd

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通) \_

PCR を行い、DNA ライブラリを作成した。作成した DNA ライブラリは Illumina MiSeq システムでシーケンスを行った。MiSeq で得られた配列データを Qiime2-2022.2 (Bolyen *et al.*, 2019) で解析した。初めに Q スコア 30 以下のデータを削除して品質を揃え、さらにインデックス配列を削除した。このデータセットに対して類似度 99% 以上のものをまとめて OTU のデータセットを作成した。OTU に対して Silva データベース (silva-138-99) (Quast *et al.*, 2013) を参照した菌種の分子生物学的同定を行った。結果は種レベル、科レベルの各個体の胃について区画ごとの細菌叢を科あるいは種の頻度グラフを出力して解析を行っている。

アカボウクジラ科鯨類三種 (コブハクジラ (*M. densirostris*), オウギハクジラ (*M. stejnegeri*), イチョウハクジラ (*M. ginkgodens*)) の胃を構成する各区画内容物の菌叢について得られた解析結果は、当初想定したよりも科ならびに種ごとの組成の差が大きく、それらが種差、性差、個体差を反映しているのかどうかを判定できていない。これらの結果について細菌学的な解析を進めている。下のグラフはアカボウクジラ科 7 個体の胃小区画内の細菌叢を示したものだが、残念ながら種に依存する特性よりも、個体ごとの傾向の方が顕著だった。実は、容易に想像できることではあるが、死戦時の苦悶や、死後の波の影響などで個体が揺動し消化管内容物が本来の場所に留まっていなかった可能性もあり、研究法の見直しが必要かもしれない。



アカボウクジラ科鯨類 7 個体の胃内小区画ごとの細菌叢。

本研究ではアカボウクジラ科鯨類の胃がなぜ特異的な形態をもつのかを解明しようとしたが、研究期間内に明瞭な結論は出せなかった。本研究の過程であきらかになった問題点を詳細に検討し、さらにこの謎の解明の努力を続けたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山田格, 松田綾佳, 西田 伸, 塩崎 彬, 西間庭恵子, 田島木綿子
2. 発表標題 アカボウクジラ科鯨類の複胃の謎を解明するには？
3. 学会等名 日本セトロロジー研究会 第31回大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究協力者	蛭田 眞平 (Hiruta Shimpei) (80624642)	昭和大学・准教授  (32622)	細菌叢解析の主たる助言者
研究協力者	高橋 常男 (Takahashi Tsuneo) (00130922)	神奈川歯科大学・特任教授  (32703)	X線CT像撮影の総括と解析
研究協力者	西田 伸 (Nishida Shin) (40423561)	宮崎大学・准教授  (17601)	細菌叢解析の解析実行
研究協力者	塩崎 彬 (Shiozaki Akira) (60852639)	国立科学博物館・支援研究員  (82617)	細菌叢解析の解析実行

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
研究協力者	田島 木綿子 (Tajima Yuko)  (00450635)	国立科学博物館・研究主幹   (82617)	標本個体収集の遂行，胃の形態に関する考察補助など

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