

## 形態多様性理解のための脊椎動物およびその近縁種の 3 次元再構築 3D reconstruction of vertebrates and their relatives to understand the morphological diversity

水谷 治央<sup>a</sup>、上杉 健太郎<sup>b</sup>、窪川 かおる<sup>c</sup>、星野 真人<sup>b</sup>、高木 利久<sup>a</sup>

Haruo Mizutani<sup>a</sup>, Kentaro Uesugi<sup>b</sup>, Kaoru Kubokawa<sup>c</sup>, Masato Hoshino<sup>b</sup>, Toshihisa Takagi<sup>a</sup>

<sup>a</sup>東京大学学術統合化プロジェクト、<sup>b</sup>高輝度光科学研究センター、<sup>c</sup>東京大学海洋研究所

<sup>a</sup>Science Integration Program, University of Tokyo, <sup>b</sup>Japan Synchrotron Radiation Research Institute (JASRI), <sup>c</sup>Ocean Research Institute, University of Tokyo

ヒト疾患の成因や病態を理解するためには、進化医学的な知見が有用である。しかし、臓器のような軟組織では、化石からの情報がほとんど得られないため、現存種間で臓器を比較しなければならない。そこで、脊椎動物およびその近縁種の臓器を含む生物の形態を屈折コントラスト・マイクロ CT 法を用いて再構築することで、生物形態の座標化・定量化を行った。本光学系により、生体の 3 次元再構築には概ね成功した。特に、プラスチック標本を用いた観察では、内部構造が比較的良く保たれていた。

It is useful for medicine to provide knowledge of evolutionary biology to understand the human etiology and pathology. The internal organs should be compared between homologous organs of existing species because fossils have little information about soft tissues. Here, we identified and quantified morphological shapes including the organs of vertebrates and their relatives by using x-ray micro-CT method at the BL20B2 of SPring-8. As a result, we generally succeeded to acquire three-dimensional structures of the organs inside the bodies, especially the plastinated samples provided good results, keeping the internal organs high contrast.

背景と研究目的：

ヒトの臓器を含む組織や器官の成り立ちを理解するためには、現存する生物の間で系統関係を考慮しながら比較を行うことが有意義である。ヒトが持つ様々な組織・器官がどのような進化的過程を経て形成されてくるのかを知ることで、ヒトの個体発生との関連性や機能的意義を考察することができる。進化医学の考え方に代表されるように、組織・器官の進化的背景を知ることが、ヒト疾患の成因や病態の理解につながると期待される。しかし、臓器のような軟組織を持つ器官では、化石からの情報がほとんど得られないため、現存種間で臓器を比較しなければならない。これま

でも、組織や器官の形や位置といった解剖学的知見は主に解剖図のような形で提示されているが、(1) 3 次元位置情報が不十分である、(2) 生物間で対応する（相同な）組織・器官がわかりにくい、(3) 形態の定量的な比較を行うことが難しい、といった問題点を抱えている。そこで、脊椎動物およびその近縁種の臓器を含む生物の形態をマイクロ CT を用いて 3 次元的に再構築することで、生物形態の座標化・定量化を行い、上記の問題点を解決することを目指す。

実験：

実験動物は業者から購入、もしくは臨界実験

所から譲渡していただいたものを 4%パラホルムアルデヒドで固定した。動物は固定後、エポキシ樹脂で包埋、もしくは、プラスチックネーション化して測定標本とした。直径が 15～50 mm のサンプルは、BL20B2 下流の実験ハッチ内に、直径 5～10 mm のサンプルは上流の実験ハッチ内に光学系を組み立てた。使用した X 線のエネルギーは 15～30 keV。実験動物を試料回転ステージに乗せ、X 線を照射しながら 0.1° ずつ動かし、最終的に 180° 回転させた (Fig. 1)。撮影した 1800 枚の X 線投影像から逆投影法を用いて生体の断面像を得た。一度に撮影できる再構成画像のサイズは、2000 x 2000 x 1320 ボクセルで、1 ボクセルの一边の長さは 5～20  $\mu\text{m}$  である。

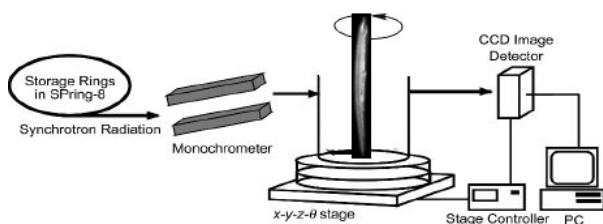


Fig. 1. Schematic layout of the x-ray micro-CT system at the BL20B2 of SPring-8.

屈折コントラスト CT を行うことで、内臓 (特に消化器系、循環器系、中枢神経系) がどの程度可視化できるのかを観察した。生物種によっては、一度の撮像で全身を映し出すことはできないので、ステージの高さを変更して、全長が収まるまで CT の撮影を繰り返した。今回測定した生物種は、マウス、アフリカツメガエル、ゼブラフィッシュ、ナメクジウオ、ユウレイボヤ、ムラサキウニなどであった。

結果、および、考察：

様々な動物種の 3 次元形態情報を屈折コント

ラスト CT 法を用いて観察した。本光学系により、生体の 3 次元再構築には概ね成功した。しかし、ほとんどの標本は、エポキシ樹脂に直接包埋したため、樹脂とのコントラストが十分にとれないサンプルも多く、画像再構成後の臓器切り分けに工夫が必要であることがわかった。一方、試験的に測定したプラスチックネーション標本を用いた観察では、内部構造が比較的良く保たれており、屈折によるコントラストも大きく、臓器を可視化しやすかった (Fig. 2)。

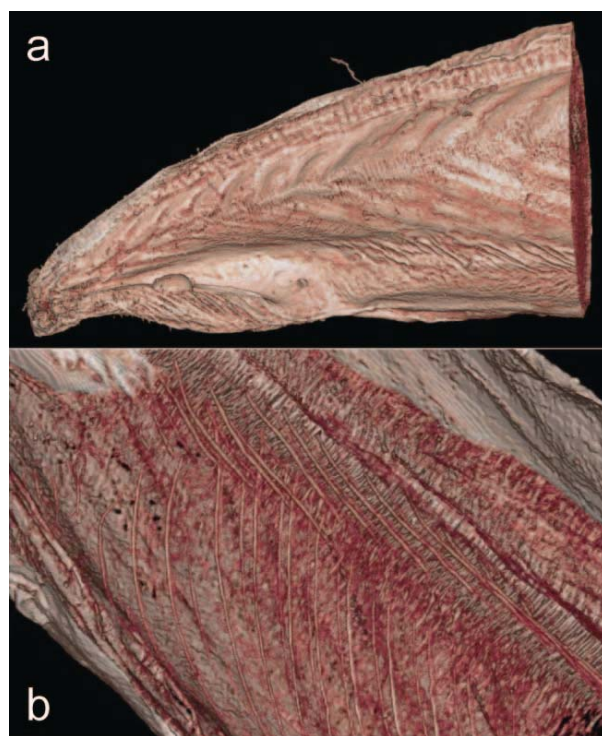


Fig. 2. Three-dimensional rendering view of the plastinated amphioxus. a) surface view of the head part, b) inside view of the ventral part

ナメクジウオのプラスチックネーション標本を観察した結果、筋節、脊索、鰓裂、内柱 (甲状腺原基) などのヒトと共通する器官が明瞭に確認できた。

今後の課題：

生物のプラスチックによる形態撮影が樹脂包埋より適切であることから、次回のCT撮影では、測定動物を全てプラスチック化し、臓器などの同定を行う予定である。また、位相コントラストを用いたトモグラフィーを行うことで、より臓器の抽出が行いやすくなると考えるため、干渉計を用いた位相CTを検討する必要もある。さらに、ホルマリンなどを使用する化学固定法ではなく、凍結試料を用いたトモグラフィーを行うことで、生物本来の構造を保ったまま、形態を3次元的に再構成できるものと思われる。

キーワード：

形態進化、生物多様性、3次元再構築