

深海産共生二枚貝類の血液細胞の比較形態学的研究

○ 多米 晃裕 (マリン・ワーク・ジャパン), 吉田 尊雄・小山 純弘 (海洋研究開発機構)・植松勝之 (マリン・ワーク・ジャパン)・丸山 正 (海洋研究開発機構)

二枚貝類は外来微生物の感染に対して、血液細胞が関わる生体防御機構により身を守ると考えられている。他方、深海の化学合成生態系では、メタン酸化細菌や硫黄酸化細菌を共生させる共生二枚貝が多く生息しているが、これらがどのような生体防御機構を備えているかは詳細に分かっていない。本研究では、深海産共生二枚貝類における生体防御で重要な役割を果たすと思われる血液細胞の機能解明を目指して、3種のシンカイヒバリガイ類 (シンカイヒバリガイ、ヘイトウシンカイヒバリガイ、シチヨウシンカイヒバリガイ) と2種のシロウリガイ類 (シマイシロウリガイ、ナギナタシロウリガイ) を用いて、血液細胞の光学顕微鏡及び電子顕微鏡による観察を行った。

5種の共生二枚貝類から血液を採取し、Percoll 密度勾配遠心分離法により血液細胞を比重で分画した。それぞれの分画を、メイグリュワルド・ギムザ染色法を用いて光学顕微鏡観察を行い、血液細胞の種類を分類した。また、固定処理に伴う緩衝液や固定方法を検討した上で、各血液細胞の微細構造を比較するための電子顕微鏡観察を行った。さらに、血液細胞による生体防御反応の一つである貪食反応を、血液細胞の懸濁液に蛍光標識大腸菌 (Alexa Fluor® 488 *Escherichia coli* Bio-particles) を加えて暗室下4℃で2時間反応させることで、蛍光顕微鏡により貪食能の有無について観察した。

その結果、5種の共生二枚貝類は、どれも3種類の血液細胞を有していることが判明した。3種のシンカイヒバリガイ類と2種のシロウリガイ類は全て、シンカイヒバリガイ類の場合には無顆粒で細胞質が好塩基性に染まる無顆粒細胞 (Agranular cell) またはシロウリガイ類の場合には赤血球 (Red blood cell) を有し、これらに加えて、好塩基性の小型顆粒を有する少顆粒細胞 (Hyaline cell) と好酸性の大型顆粒を有する顆粒細胞 (Granular cell) の3種類の血球を有していた。また、固定条件を検討した結果、固定液の浸透圧を海水よりもやや高張にすることで、電子顕微鏡観察において良好な微細形態の観察像が得られるようになった。少顆粒細胞では、電子密度が低い小型の顆粒が見られた。顆粒細胞には、それに加えて電子密度の高い大型のライソソーム様顆粒が見られた。また、蛍光顕微鏡における貪食能の観察では、顆粒細胞は貪食能が高く、少顆粒細胞は貪食能が低いことが明らかとなった。これらの共生二枚貝類の血液細胞を比較すると、シンカイヒバリガイ類は、無顆粒細胞を有するのに対し、シロウリガイ類では、この血液細胞は存在せず、代わりにヘモグロビンを有し赤色を呈する無顆粒の赤血球が見られた。これら無顆粒細胞と赤血球にはどちらも貪食反応は見られなかった。

これらのことから、深海産共生二枚貝類は、形態学的に区別できる3種類の血液細胞が関わる生体防御機構を備えていると考えられる。また、共通して顆粒を有する2種類の血液細胞が貪食能を有することで、これらが生体防御において重要な役割を担っている事が示唆された。シンカイヒバリガイ類が有する無顆粒細胞とシロウリガイ類が有する赤血球の関係については、両者とも無顆粒で貪食能が無いことから相同であると推察されるが、それらの機能は未だ明確ではない。そのため、今後はさらに詳細な形態学的解析を行い、無顆粒細胞と赤血球を含め3種類それぞれの血液細胞の機能、さらには共生細菌に対する認識や作用を明らかにしていきたい。