

【研究課題名】鉄安定同位体比指標による大型海棲動物の鉄代謝メカニズムに関する研究

【共同研究者名】長谷川菜々子、国末達也

【研究目的】

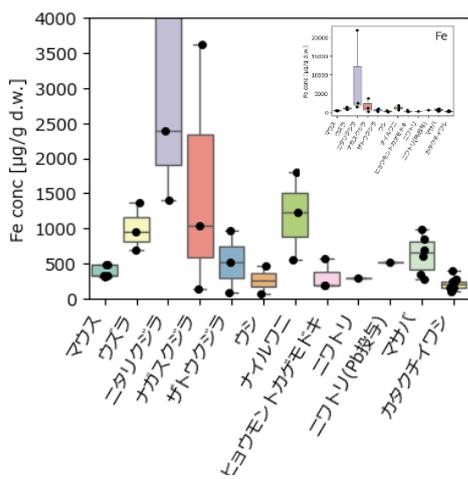
鉄 (Fe) は 生命活動に重要な必須微量元素であるが、過剰摂取により毒性を誘発するため、生体内の Fe 代謝は外部からの取り込み量と体内の貯蔵量の調節により厳密に制御されている (Andrews, 2000)。海洋では生物利用可能な Fe が枯渇し、海域によっては一次生産の制限因子となることが広く知られている (Martin and Fitzwater, 1988) が、Fe 制限は高次栄養段階生物にも影響を与える可能性が近年指摘されている (e.g. Galbraith et al., 2019)。

鉄安定同位体比 (以下  $\delta^{56}\text{Fe}$ ) は動物の Fe 代謝指標として有力だが、海洋の野生生物の  $\delta^{56}\text{Fe}$  データは世界的にも稀少である。申請者は 14 種の海洋生物種 (動物プランクトン、魚類、哺乳類など) の分析により、 $\delta^{56}\text{Fe}$  が栄養段階の上昇とともに低下傾向にあること、例外的に固有の変動範囲を持つ種が存在すること、特にイワシ類や鯨類が著しく低い  $\delta^{56}\text{Fe}$  を有することを示した。先行研究や申請者の観測から、組織中  $\delta^{56}\text{Fe}$  と Fe 同化効率に強い関係性が示唆されている。ニシンやイワシ類などプランクトン食性魚の  $\delta^{56}\text{Fe}$  は栄養段階との相関関係から例外的に外れており、特異的に低い Fe 同化効率を有している可能性がある。これらの解析から、 $\delta^{56}\text{Fe}$  は生物種ごとの Fe 同化量などの生理的特徴を比較するのに有効な指標となりうる。ただし、現在解析済みの生物種は限られており、プランクトン食性生物が共通して上記の特徴を有するかは不明である。

本研究課題では、生理的機構の類似した生物種間での餌の嗜好性の違いが組織  $\delta^{56}\text{Fe}$  へもたらす影響を精査することを目的とした。対象種としては、海棲哺乳類のデータセットが限られていること、近系統群の中でプランクトンを主食とする種とより大型の生物を捕食する種が明白に分かれていることから、鯨類を選定した。3 種のハクジラ亜目 (ネズミイルカ: *Phocoena phocoena*, スジイルカ: *Stenella coeruleoalba*, カズハゴンドウ: *Peponocephala electra*) の筋肉・肝臓組織  $\delta^{56}\text{Fe}$  データセットが解析済みのため、比較対象として、es-Bank より上記 3 種と食性の異なるヒゲクジラ亜目 (ニタリクジラ: *Balaenoptera brydei*, ナガスクジラ: *Balaenoptera physalus*, ザトウクジラ: *Megaptera novaeangliae*) の筋肉・肝臓組織の  $\delta^{56}\text{Fe}$  分析を実施することとした。また、これまでの研究から組織中  $\delta^{56}\text{Fe}$  に対する肝臓の貯蔵鉄 (主にフェリチン Fe(III) として存在) の寄与が議論されていたため、X 線吸収単近傍構造 (XANES) 解析によりこれらの動物における肝臓中フェリチン結合鉄の解析と他の動物との比較解析を実施した。同時に各種微量元素濃度の解析を行い、これらのサンプルにおける重金属の蓄積状況と安定同位体比への影響について考察した。

【研究成果】

筋肉中铁濃度はニタリクジラ：134-672  $\mu\text{g/g d.w.}$ 、ナガスクジラ：19.0-22.9  $\mu\text{g/g d.w.}$ 、ザトウクジラ：48.3-308  $\mu\text{g/g d.w.}$  の範囲であり、肝臓中濃度はニタリクジラ：1,399-21,940  $\mu\text{g/g d.w.}$ 、ナガスクジラ：146-3,627  $\mu\text{g/g d.w.}$ 、ザトウクジラ：89.6-972  $\mu\text{g/g d.w.}$  の範囲で変動した。筋肉中濃度は全体的にハクジラ亜目 3 種と比べて低い傾向があった（ネズミイルカ：664-725  $\mu\text{g/g d.w.}$ 、スジイルカ：647-938  $\mu\text{g/g d.w.}$ 、カズハゴンドウ：738-844  $\mu\text{g/g d.w.}$ ）。肝臓中濃度はおおむねハクジラ亜目 3 種と同程度の範囲であるものの（ネズミイルカ：1180-2341  $\mu\text{g/g d.w.}$ 、スジ



イルカ：242-1889  $\mu\text{g/g d.w.}$ 、カズハゴンドウ：738-844  $\mu\text{g/g d.w.}$ ）個体差が大きく、特にニタリクジラ、ナガスクジラでは顕著に鉄濃度の高い個体がみられた。ニタリクジラの肝臓中鉄濃度は、その他の様々な動物と比較しても高い傾向があった。その他の微量元素濃度についても、Zn, Co など複数の元素が他の動物種より顕著に高い傾向がみられた(図 2)。また、ニタリクジラで高値の肝臓中 Fe 濃度を示した個体は、高い Pb, Cd 濃度を観測した。

図 1. 様々な動物における肝臓中 Fe 濃度の比較

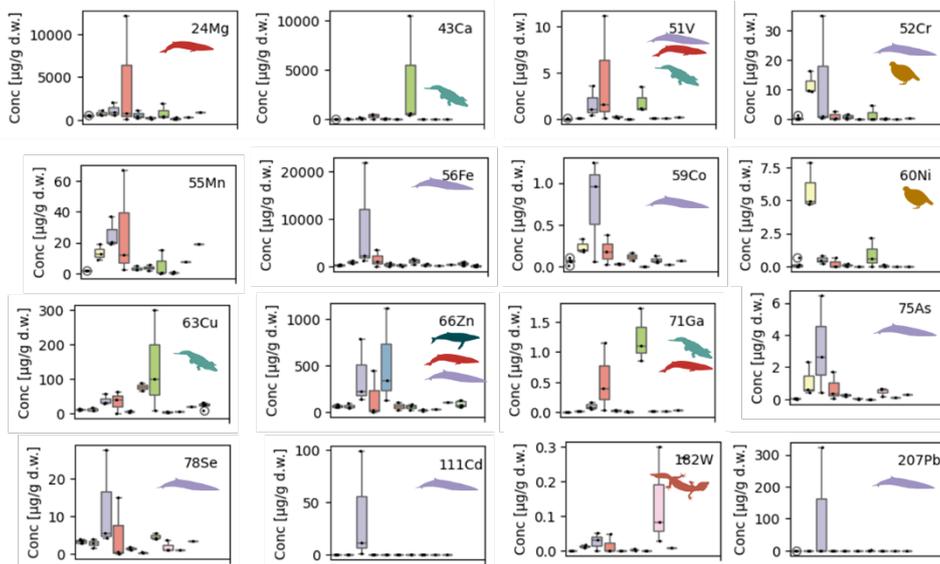


図 2. 様々な動物における肝臓中微量元素濃度の比較（標識は図 1 と同様）

Fe-K 端 XANES 解析は、組織中濃度が高い肝臓を中心に分析を行った。標準試料としてフェリチン（ウマ脾臓由来, XX）とヘモグロビン（ウシ血液由来, XX）を用意し、ヘモグロビンは酸化形態に応じてメトヘモグロビン (Fe(III)-PPIX), オキシヘモグロビン (Fe(II)-O-PPIX), デオキシヘモグロビン (Fe(II)-PPIX) の3種をグローブボックス内で還元して調整し、実験に使用した。クジラ 3 種の肝臓 Fe-K 端 XANES は、他の動物に比べてわずかに低エネルギー側にピークを有する傾向があった。標準試料スペクトルの線形結合フィッティングによる結果から、ニタリクジラでは肝臓中 Fe の 27-57%がフェリチンの形態として存在することが判明したが、ナガスクジラではほぼ 100%がヘモグロビン類似のスペクトルであると判定された。（ビームタイムの制約により、ザトウクジラは今後分析予定）。この肝臓中フェリチンの差異は、組織中  $\delta^{56}\text{Fe}$  の種差に影響を及ぼす可能性が考えられる。フェリチンに鉄が結合する際に生じる Fe(II)→Fe(III)への酸化はフェリチンへの重い同位体の優先的蓄積を誘発することから、フェリチンの割合が大きい場合は食性だけでなく体内での  $\delta^{56}\text{Fe}$  変動を考慮に入れた解析が必要になる。一方でナガスクジラやマサバ、カタクチイワシなどの海水魚では全体的に肝臓フェリチンの割合が他の動物より少ない傾向があり、これらの動物がフェリチンよりも筋肉中のミオグロビンなどその他の形態の鉄をより多く保有している可能性を示唆した。このような傾向をもつ動物では体内の同位体比変動が比較的小さくなることが予想されるため、組織中  $\delta^{56}\text{Fe}$  は餌として取り込む Fe 源をよりよく反映する可能性が考えられた。

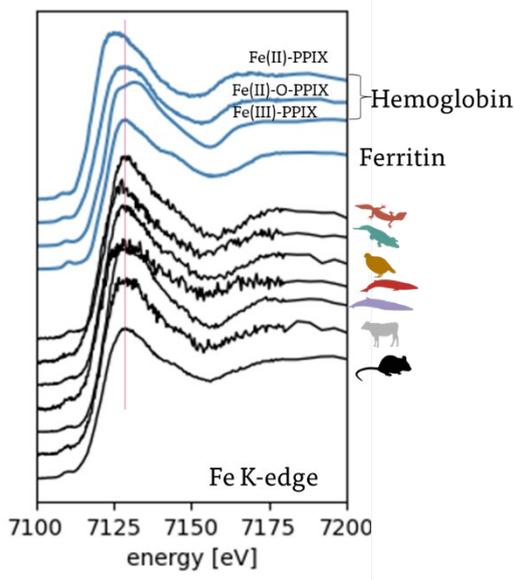


図 3. 各動物の肝臓中 Fe-K 端 XANES スペクトル（青線：標準試料、黒：肝臓試料）

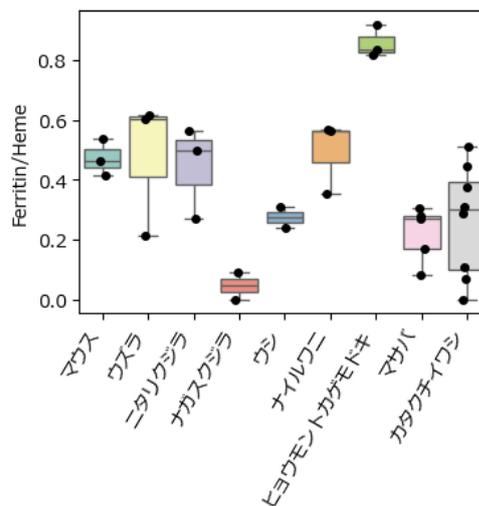


図 4. XANES から推定された各動物の肝臓中 Fe のフェリチン/ヘム比率

【今後の課題】 安定同位体 ( $\delta^{56}\text{Fe}$ ) 分析は東京大学大学院理学系研究科にて2025年1月に実施されたが、十分な確度が得られなかったため、今回のクジラサンプルの信頼できる同位体比を得ることができなかった。今後このサンプルとその他の動物試料の  $\delta^{56}\text{Fe}$  分析を再度実施し、肝臓  $\delta^{56}\text{Fe}$  と化学形態の種間差についてより具体的な議論を展開する。