

ホタテの株細胞樹立を目指して

なかじま ただあき
 東京大学 生産技術研究所 松永研究室 特任研究員 **中島 忠章**

ホタテと軟体動物の研究の現状

ホタテ（ホタテにはさまざまな種があり、ここでは日本ホタテについて述べる）は日本や中国で食されている魚介類である。北海道噴火湾においても養殖されており、長万部町の重要な水産物である。しかし、ホタテを養殖するにあたって、稚貝は自然から採取されたものであり、人工孵化から育てた個体で人工授精を行い、その卵を元に人工孵化を行う完全養殖に至っていない。また、ホタテの“うる”と呼ばれる中腸腺にはカドミウムなどの有害金属が蓄積し、その部分は廃棄しなければならないのだが、その蓄積を防ぐ手段は存在しない。なぜホタテは重要な水産物であるにも関わらず、このような科学的研究は進んでいないのであろうか。

ホタテは軟体動物門の二枚貝類に属している（図1）。カキは人工授精が可能であり、全ゲノムは2012年に解読されている。一方、ホタテにおいては2017年に中国の研究者がようやくホタテの全ゲノム解析に成功したが、ホタテにおけるこの研究の遅れは、ホタテが常に新しい海水を流した環境でないと飼育で

きないことが原因の一端であろう。しかしそもそも、軟体動物門全体において、組織中の細胞がどこでどのように働いているのか、という基礎研究がほとんど進んでいないのが現状である。ヒトやマウスにおいて研究を行う際には、組織から細胞を採取し培養するか、株細胞という不死化された細胞を培養して研究を行う場合が多い。軟体動物門における細胞培養方法の報告があまり多くなく、株細胞に至ってはカタツムリ細胞の一種のみであり、その株細胞が樹立された過程もただの偶然である。ここまで哺乳類と情報の格差があることは、驚きではないだろうか。

ホタテの器官・細胞培養系の確立

当研究室はマウスにおいてさまざまな株細胞を樹立してきた。長万部地域社会研究部門の一員として、そのノウハウを活かしてホタテの培養系の確立と、株細胞の樹立を目指そうと考えて、研究をスタートした。しかし、事はそう容易くはなかった。まず、生きている個体を入手しやすいアサリをスーパーから購入し、その生殖腺を、過去の論文に記載通り、哺乳類用の培地に漬け、器官培養してみた。貝類の生殖腺は通常、濃く染まる生殖細胞（写真1A、矢印）が集まった濾胞という構造を有しているが、2日間の培養でも生殖細胞が死滅し、濾胞構造もなくなっていた（写真1B）。そこで、マウス生殖腺の器官培養を参考にし、生殖腺を寒天の上に乗せて、空気に直接接触させることで、濾胞（写真1C、破

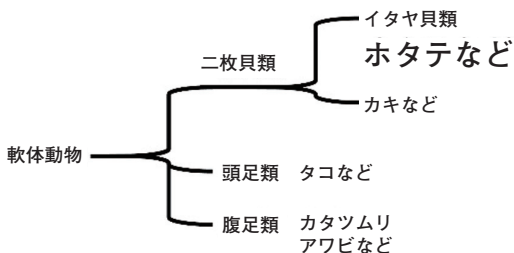


図1 軟体動物門の系統樹

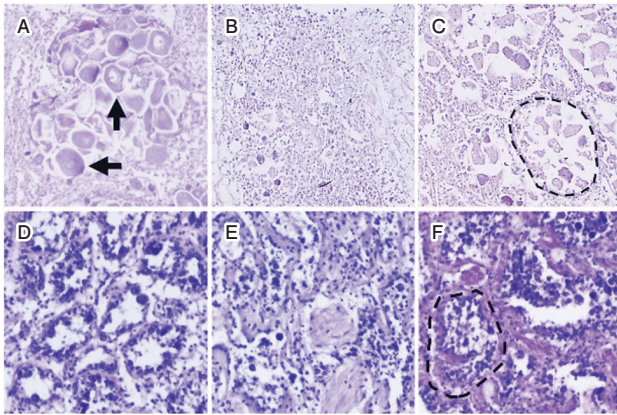


写真1 アサリとホタテ生殖腺の器官培養

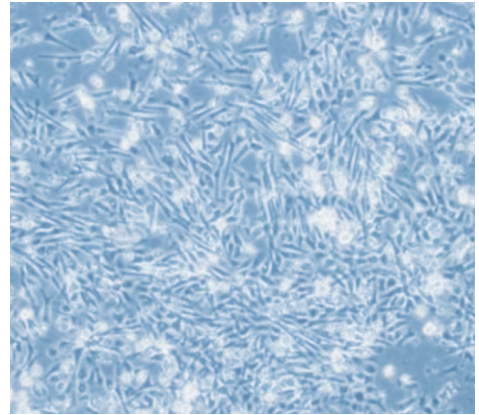


写真2 ホタテ中腸腺の初代培養細胞

線部)を維持したまま培養可能となった。

しかしながら、この培養方法をホタテに適用しても、生体のホタテ生殖腺で確認できる濾胞(写真1D)が壊れていた(写真1E)。ホタテ生殖腺の培養にはより生体に近い環境が必要であろうと考え、培地に海水を混ぜて浸透圧を高めたところ、写真1Fのように、濾胞を保持したまま1週間以上器官培養することが可能となり、国際誌に論文として投稿した(Otani et al., Zoolog Sci. 2017)。この培養の結果から、さまざまな条件をホタテ用に調整しなければならないと痛感した。

現在はホタテの生殖腺、貝柱、中腸腺から細胞を採取し、培養することに成功している。その際に、細胞を採取する方法、菌が混ざらないように洗浄する方法、細胞を播種するシャーレのコーティング方法をホタテ用に調整した。特に培地においては、それぞれの組織における浸透圧とpHを測定してそれに合わせており、基本となる培地の選定の他、加える栄養や増殖促進因子は、あらゆる生物の培地を参考に、ひたすら選抜していく作業だった。その実験方法は、さながら初期の哺乳類における細胞培養確立法と似ており、実際に実験を行った学生たちにはさぞかし苦行だったに違いない。その苦勞の結果、筋肉できている貝柱や、有害金属や微生物が貯蔵されている中腸腺といった、本来その性質か

ら細胞として単離することが困難である細胞をシャーレ上で生存させることに成功した(写真2、黒く細長く、一面に存在する細胞)。さらに、生殖腺においては、細胞増殖も確認でき、細胞を不死化して株細胞化する準備は整ったといえる。

今後の展望

軟体動物、貝類におけるの培養研究は少なく、ホタテにおいてはほとんど情報がない中でのスタートであったが、ホタテの器官・細胞培養に成功することができた。カキにおいては、単純に精巣と卵巣を一緒に培養することで人工授精させており、ホタテにおいても人工授精の研究を行うことが可能になったと言える。中腸腺における有害金属の蓄積メカニズムを研究することもできる。また、おいしい貝柱にはどんな成分が重要であるかが簡便に研究できる。これらの研究から、より安定的供給可能な、安心安全で、おいしいホタテの養殖に繋がることと思う。

ホタテ細胞における遺伝子導入方法の開発もほぼ完了しており、それを応用してホタテの株細胞が樹立できれば、ホタテ研究のみならず、軟体動物全般の研究が盛んになることが予想される。これらの研究が、長万部地域社会への貢献に繋がると、我々は考えている。