

## マガキを用いた初中等教育における 視覚情報を伴う心拍恒常性実験の開発と実践

伊藤 篤子

国立高等専門学校機構東京工業高等専門学校 物質工学科

(〒193-0997 東京都八王子市櫛田町 1220-2)

\*itoh@tokyo-ct.ac.jp

### Developing and testing the effectiveness of a laboratory experiment to provide visual information on homeostasis using the Pacific oyster

Atsuko ITOH

Department of Chemical Science and Engineering, National Institute of Technology, Tokyo College  
1220-2 Kunugida, Hachioji, Tokyo 193-0997 Japan

(Received September 15, 2016; Accepted October 20, 2016)

As part of the “basic biology” course in Japanese high school, students are taught about homeostasis. One learning component about homeostasis is that neurotransmitters regulated by the automatic nervous system change heartbeat frequency. I developed a novel laboratory experiment on this component within the framework of the “basic biology” learning unit using the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. The heart of the Pacific oyster is located in the pericardial cavity under the adductor muscle, making it easy for students to observe the heartbeat. Like in humans, the heart-beat of the Pacific oyster becomes hyperactive with the addition of adrenaline and hypoactive with the addition of acetylcholine. Thus, students may directly observe how exposure to these neurotransmitters alters the heartbeat of Pacific oysters. For teachers, this laboratory experiment is easy to manage, including the preparation and disposal of materials and the use of relatively cheap reagents and standard experimental instruments. I trialed this laboratory experiment on the Pacific oyster using second grade students of chemical science and engineering at National Institute of Technology, Tokyo College, Japan, which correspondent to second grade students in Japanese high school. As a result, I confirmed that the level of animal handling and amount of time required for this laboratory experiment is suitable for students in a 50 -minute class.

Key Word; homeostasis, laboratory experiment, neurotransmitters, Pacific oyster

#### 1. 緒言

学習指導要領高等学校生物基礎で学習する「生物の体内環境の維持」は、実験・観察を通して生物には体内環境の維持の仕組みがあることを理解し、健康との関係を認識することが目標とされ、体内環境の維持に自律神経とホルモンがかか

わっていることの理解にまで言及されている[1]。本研究は「体内環境の維持」のなかから「自律神経の作用による心拍の調節」に着目した。教科書に掲載された「自律神経の作用による心拍の調節」の学習のための実験は、メダカを用いたホルモンによる心拍数の変化[2]、ヒト心拍の香辛料による変

化[3], 運動によるヒト心拍数の変化[4-6], ヒト心拍の計測[7]である。自身(ヒト)の心拍を利用した実験は設備も必要なく非常に簡便である。しかし, 教科書で学習する自律神経を調節する神経伝達物質と, 自身の心拍の変化を実験で直接視覚的に認識できない。その点, メダカホルモンによる心拍観察実験は, 神経伝達物質と心拍との変化を直接観察できる。同様の実験には, メダカ鱗色素細胞の神経伝達物質による変化の観察[8]やウズラ初期発生胚を用いた心拍の観察[9]が挙げられる。しかし, いずれも用いている動物は脊椎動物である。脊椎動物を実験に用いる場合, その動物の調達と, 調達後の維持管理, 実験後の処理に多大な労力を必要とする。また, 動物実験は, 「動物の愛護及び管理に関する法律」や「動物実験の適切な実施に向けたガイドライン」等で適切な実施を求められる。特に虫類以上の脊椎動物を用いた実験は制約が多い。

そこで, 本研究では神経伝達物質と心拍との変化を直接観察できる実験として, 軟体動物マガキ *Crassostrea gigas* を用いることを提案する。マガキは原口がそのまま口となる旧口動物である。旧口動物では節足動物門がその最も進化した段階と考えられているが, カキは節足動物門に次ぐ旧口動物の進化段階である軟体動物門に属する。さらに, 軟体動物の二番目の規模の分類群である二枚貝綱に属していることから分かるように, 二枚の貝殻とそれを開閉するための閉殻筋(貝柱)という特異な構造をもつ。循環系は二心房, 一心室を持つ開放血管系であり, 心臓の心拍は貝殻を開いて貝柱の下を露出することで容易に観察ができる(Fig. 1)[10]。この露出したマガキ心臓には神経伝達物質の直接の滴下が可能である。加えて, マガキは全国で養殖されている食品であることから, 年間を通して容易に安定して小売店等で個体を入手できる。実験前の個体の維持は, 1週間程度は家庭用冷蔵庫内で可能で, 実験後の廃棄は可燃物として各自治体, 各施設の規則に従えばよい。調達, 維持管理, 廃棄物処理のいずれにおいても少ない労力で済むことから, 教員の負担軽減につながり, 実験実施の促進が期待できる。本研究では, 高等学校生物基礎で学習する「生物の体内環境の維持」から, 心拍に与える神経伝達物質の作用を視覚情報を伴って確認できるマガキを用いた実験を構築し, その実施効果を検証した。

## 2. 実験条件の構築

マガキは八王子総合卸売市場の小売店(東京都八王子市北野町584-21)または以下の通信販売を利用して購入した。通信販売による購入先は北海道仙鳳趾産を『旨い牡蠣屋 <http://www.umaikaki.com/>』, 宮城県松島産を『蟹職人かねと <http://kaneto-net.co.jp/>』, 広島県産を『瀬戸内たいたい CLUB <http://www.rakuten.co.jp/taitai/>』の3店舗を利用した。発注先から冷蔵輸送された個体を, 使用まで海水を浸した新聞紙で覆い, 4°Cで保存した。保存期間は最大で3日間であった。心拍測定条件および神経伝達物質濃度は, ウズラを用いた実践例[9], [11]およびカキにおける神経伝達物質の作用例[10]を元に検討した。

神経伝達物質として, 交感神経末端から分泌されるノルアドレナリンと同様の働きをするエピネフリン(和光, 生化学用, 050-04081)と, 副交感神経末端から分泌されるアセチルコリンと同様の働きをする塩化アセチルコリン(和光, 一級, 011-00592)を使用した。両試薬はヒトをはじめとする動物の自律神経系を調節する神経伝達物質である。マガキ心臓も神経系の発達した動物と同様に神経からの刺激によって拍動が変化する[10]。マガキにおいてアドレナリン(エピネフリン)の添加は心拍を著しく増加させ, 対してアセチルコリンの添加は心拍を沈静させることが知られている[10]。マガキ心臓に与えたこれらの神経伝達物質の濃度は  $1.0 \times 10^{-5}$  g/mL エピネフリンと  $2.0 \times 10^{-5}$  g/mL 塩化アセチルコリンになるように MilliQ 水を用いて希釈した。エピネフリンは水に難溶性であるため, あらかじめ 2 N 塩酸を 1 滴加えて溶解後に希釈した。

カキは実験前に開殻し, 心臓を Fig. 1 のように露出させた。マガキ心拍は温度によって影響を受ける。心臓の振幅は 15°C で最大となり, 心拍数は 35°C 程度まで温度上昇に伴って増加することから [10], 室温を 20~25°C 程度

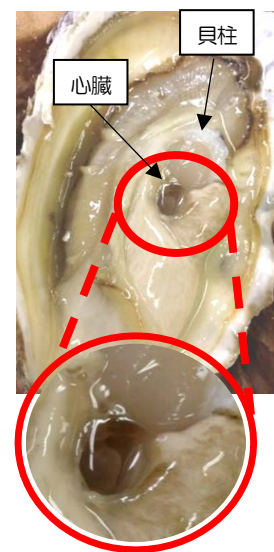


Fig. 1 開殻したマガキ

に保ち、実験室内で温度順化させた。約 1 mL の人工海水を開殻したマガキにかけ、1 分間の心拍数を 3 回測定して平均を算出した (コントロール)。その後、3 mL のエピネフリン溶液を、ポリエチレン製スポイト (サンブラテック、未滅菌) を用いて 5 滴心臓部に投与し、投与時からの 1 分ごとの心拍数を測定した。4 分後、人工海水約 1 mL を心臓部付近にかけてエピネフリン溶液を洗い流し、再び 4 分間、1 分間ごとの心拍数を測定した。引き続き、3 mL の塩化アセチルコリン溶液を、ポリエチレン製スポイトを用いて 5 滴心臓部に投与し、投与時からの 1 分ごとの心拍数を測定した。4 分後、人工海水約 1 mL を心臓部付近にかけ、塩化アセチルコリン溶液を洗い流してから再び 4 分間、1 分間ごとの心拍数を測定した。実験者には、以上の測定結果を、縦軸を心拍数、横軸を時間としてグラフにプロットさせた。

### 3. 対象者の選定および知識の定着度の調査

2014 年度東京高専物質工学科 (以下、C 科)2 年生 39 名 (男 32 名、女 7 名) は、検定教科書「東京書籍 生物基礎」を使用して週 1 回、90 分の「生物学」を受講した。「体内環境の

調節 (第 3 編第 2 章)」は 2014 年 6 月から 7 月にかけて 3 回の授業時間を費やして学習した。学習内容の習熟度の確認は、7 月末に実施された前期末試験で行った。前期末の成績を元に上位三分の一を「成績上位群 (略称: 上位群)」、下位三分の一を「成績下位群 (略称: 下位群)」、残りを「成績中位群 (略称: 中位群)」にわけた。本実験の実験者は、実験経験の有無

① 自律神経系は動きの異なる二つの交感神経と副交感神経に分けられる。多くの場合、この二つの神経は反対の作用を持つ。この二つの神経系に起こる正反対となる作用を何というか。

② 心拍の調節をするときにこれら二つの神経はどのような動きをしているか。促進、抑制のどちらかに丸を付けてください。

交感神経は心拍を 促進 抑制 する。

副交感神経は心拍を 促進 抑制 する。

③ 交感神経および副交感神経末端から分泌されている神経伝達物質を以下から選び、答えなさい。

ノルアドレナリン      インスリン      ディフェンシン  
バソプレシン      アセチルコリン      ペプシン

交感神経 \_\_\_\_\_

副交感神経 \_\_\_\_\_

Fig. 2 理解・定着確認テスト

#### 生物学実験(2C) マガキの心拍数の変化

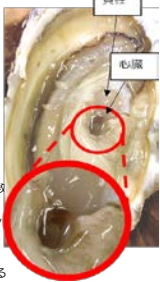
1. 目的  
自律神経系の交感神経・副交感神経それぞれから分泌される神経伝達物質のはたらきが、体内環境の恒常性(ホメオスタシス)を維持していることを理解する。

2. 実験内容(2人1組)  
☆実験生物  
マガキ *Crassostrea gigas* (軟体動物二枚貝類)

☆試薬  
1.0×10<sup>-6</sup>g/mL アドレナリン溶液、2.0×10<sup>-6</sup>g/mL 塩化アセチルコリン溶液、人工海水

☆器具  
溶液滴下用のスポイト、ストップウォッチ、温度計

☆手順  
1) 時計の確認係と心拍数の計数係に役割分担を決める。  
2) マガキの心臓(図. 1 丸枠内拡大部)が露出されており、動いていることを確認する。  
3) マガキの体全体にスポイトを使って海水を約 1mL かけておく。またこのときの室温を記録する。  
4) 1 分間心拍数を測定する。これを 3 回繰り返す(コントロール)。  
5) スポイトでアドレナリン溶液約 5 滴を心臓部に投与する。投与時から時間を測り始める。投与直後から心拍数を計測する。1 分ごとに心拍数を記録し、4 分後まで続ける。  
6) 心臓部とその周りにスポイトで人工海水を約 1mL かけ、アドレナリンを洗い流して除去する。除去開始時から時間を測り始める。投与直後から心拍数を計測する。1 分間ごとに心拍数を記録し、4 分後まで続ける。  
7) 5)~6) と同様の手法で、アドレナリンを除いたカキに塩化アセチルコリン溶液を投与・除去する。投与直後から 4 分後まで、除去直後から 4 分後までの 1 分間ごとの心拍数をそれぞれ測定する。  
※役割は投与試薬が変わるタイミングで交代し、同じ役割をずっとやり続けることがないようにする。  
8) アドレナリン溶液を投与してから塩化アセチルコリン溶液を除去するまでの 1 分毎の心拍数を、縦軸を心拍数、横軸を時間としてグラフにプロットする。0 分時点での心拍数は、試薬の投与前に 3 回測定した心拍数の平均とする。また、試薬の投与・除去を行なった時点グラフ中に記入する。



3. 結果 室温  °C

☆記録  
・実験前の心拍数: ①  回 + ②  回 + ③  回 / 3 = 平均  回

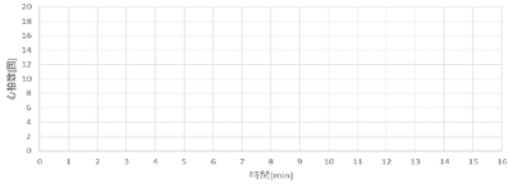
・アドレナリン

操作	時間(min)	累計心拍数(回)	1分毎の心拍数(回)
投与	1		
	2		
	3		
	4		
除去	5		
	6		
	7		
	8		

・アセチルコリン

操作	時間(min)	累計心拍数(回)	1分毎の心拍数(回)
投与	1		
	2		
	3		
	4		
除去	5		
	6		
	7		
	8		

☆グラフ  
各班の結果を以下のグラフにプロットする。



☆個体差  
個体差について調べるため、少なくとも 2 つのグループと平均心拍数の比較を行いましょう。

・グループ \_\_\_\_\_

実験前:  回/min      アドレナリン投与:  回/min

・グループ \_\_\_\_\_

実験前:  回/min      アドレナリン投与:  回/min

4. まとめ  
・自律神経系の交感神経と副交感神経が起こる正反対となる作用を( )作用という。  
・心拍数は、アドレナリン溶液を加えたとき( )し、塩化アセチルコリン溶液を加えたとき( )した。従って、自律神経末端から分泌される神経伝達物質(交感神経からは( )、副交感神経からは( ))が分泌されることで各組織や臓器へ信号を伝え、ホメオスタシスが維持されていると考えられる。

Fig. 3 実験時配布プリント(レポート付)

による知識定着の差を検討するため、成績の偏りのないよう「上位群」から4人、「下位群」と「中位群」からそれぞれ3人の合計10人を選んで実践した。

2014年12月2日に2014年度東京高専C科2年生全員に前期末試験と同範囲の事前確認テストを行った (Fig. 2)。加えて、12月9日に当該範囲の復習を授業内で実施した。2015年1月5日16時より先述のように選抜した東京高専C科2年生10名に実験を実施した (実験参加者)。実験者には記入式の実験レポートをあわせた実験用プリントを配布した (Fig. 3)。2015年1月27日に2014年度東京高専C科2年生全員に当該範囲の確認テストを行った。設問は2014年12月2日に実施したもの (Fig. 2)と同様とした。

#### 4. 結果と考察

2014年度東京高専C科2年生の自律神経による恒常性の調節に関する知識の定着の確認は3点満点のテスト (Fig. 2)を用いて行った。その結果、獲得点数の平均値は、実験参加者10名は1.6点、実験非参加者29名は1.3点であったが (Fig. 4, 実験前), t検定(等分散, 両側)を行ったところP値は0.28となり、有意な差はなかった。従って、実験実施前に、実験参加者と非参加者間には自律神経による恒常性の調節に関する知識の定着における差異はなく、知識の定着に関して両群

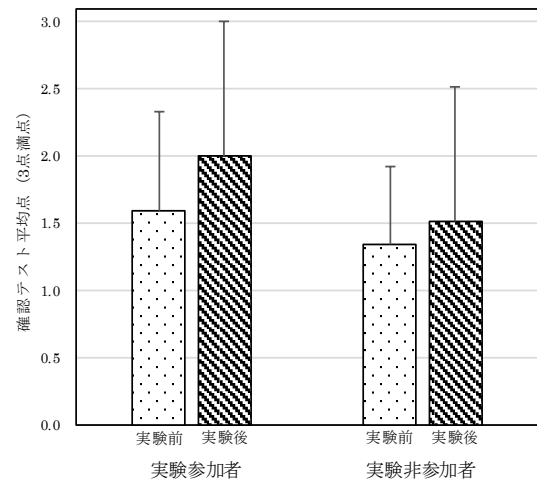


Fig. 4 実験前後の定着確認試験結果

2015.01.05 実験の参加者と非参加者で実験の前後における定着確認試験の結果を示した。各設問1点で採点し、3点満点とした。合計点の平均値を縦軸に取り、エラーバーは標準偏差を示す。実験前及び後でそれぞれ実験参加者と非参加者間でt検定を実施した。加えて、実験参加者と非参加者のそれぞれで実験前後の点数に関してもt検定を実施した。いずれもP値は0.05を上回った。

間の比較は可能と考えられる。

2015年1月5日に「マガキを用いた神経伝達物質による心拍の変化」の実験を、前述の10名を対象に二人一組で5班に分かれ、各班1個体のマガキを用いて実施した。班の構成員はB班が成績上位群2名、C班が成績下位群と中位群の

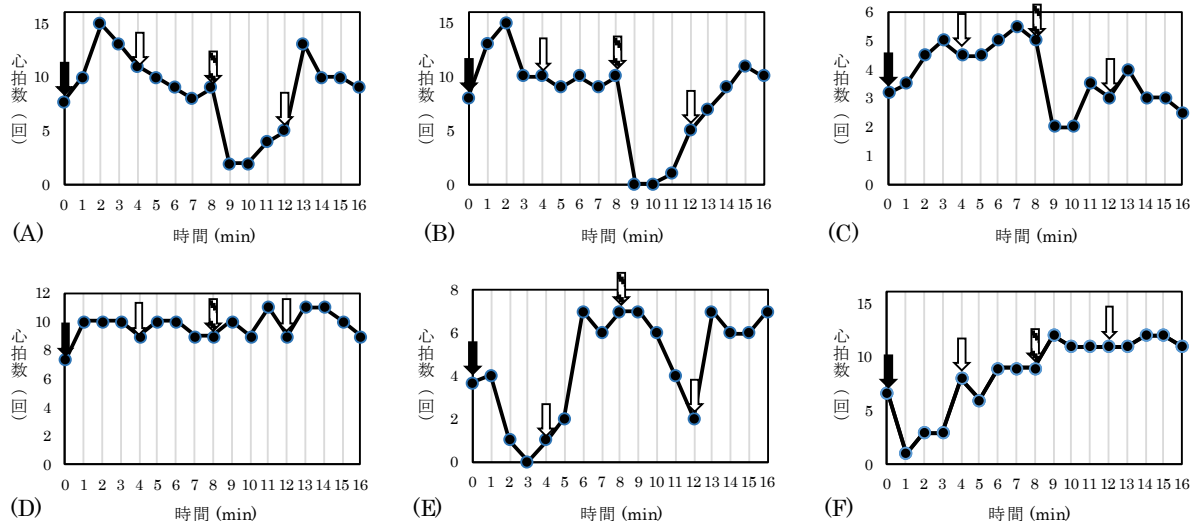


Fig. 5 実践および予備検討結果

予備検討の結果(A)と2015.01.05に実験を実践した各班の結果(B-F)。縦軸に1分間の心拍数の合計、横軸に経過した時間 (min)を示した。黒矢印はエピネフリン (アドレナリン)、斜線矢印はアセチルコリンの添加、白矢印は人工海水による洗浄を示す。

各 1 名, D 班は上位群・下位群各 1 名, E 班は中位群・下位群各 1 名, F 班は上位群・中位群各 1 名であった。予備検討から, エピネフリンによる心拍の亢進とアセチルコリンによる心拍の鎮静効果によって Fig. 5 (A)に示すような変化を示すグラフが得られると期待された。最初に測定した心拍数は 1 分あたり 7~8 回の個体が 4 個体ある (Fig. 5 A, B, D, F) 一方で, 3~4 回の個体も 2 個体あり (Fig. 5 C, E), 個体差が認められた。5 班のうち 2 班からは予備検討と同様の結果が得られた (Fig. 5 B, C)。一方, 5 班のうち 1 班は神経伝達物質をかけても心拍が殆ど変化しなかった (Fig. 5 D)。さらに残りの 2 班は, エピネフリンの投与によって心拍数が減少した (Fig. 5 E, F)。エピネフリン投与によって心拍数が減少した班のうち一班は, アセチルコリンの投与によって心拍の鎮静効果がみられたが (Fig. 5 E), 残りの一班は変化が見られなかった (Fig. 5 F)。実験結果が予測と異なっていた 3 班はいずれも現象が共通していなかった。従って, 神経伝達物質の作用によって予想とは異なる反応が得られたのではなく, マガキの解剖や加える試薬を間違えるといった人為的な操作ミスによる可能性が高い。また, 最初の心拍数が 7~8 回であっても実験結果は予備検討結果と異なっており (Fig. 5 D, F),

反対に最初の心拍数が 3~4 回であっても C 班の神経伝達物質に対する応答は予備検討と一致している (Fig. 5 C) ことから, カキの個体差による実験の成否への影響は少ないと考える。最初の試薬添加によって心拍が低下した 2 班は, エピネフリン (ノルアドレナリン)ではなくアセチルコリンを添加した可能性がある。また, マガキ心臓は比較的広い空洞である囲心腔に存在しているが, 囲心腔はほぼ透明な囲心腔膜に覆われている [10]。解剖時にこの囲心腔膜も除去する必要があるが, 心拍が変化しなかった残りの一班は, 囲心腔膜が除去されず, 試薬が作用しなかった可能性もある。班の構成員が実験の影響に与える影響を考えたが, 成功班の構成員は B 班: 成績上位群 2 名, C 班: 成績下位群と成績中位群の各 1 名, 失敗班の構成員は, D 班: 上位群・下位群各 1 名, E 班: 中位群・下位群各 1 名, F 班: 上位群・中位群各 1 名なことから, 座学の成績と実験の成否に大きな関係はない可能性が高い。

実験参加者に難易度および時間についてアンケートを実施した。難易度については簡単: 1 名, やや簡単: 3 名, 普通 4 名, やや難しい 2 名であった (Fig. 6 上)。また, 実験時間 (45 分間)については短い: 2 名, やや短い: 1 名, 適切: 4 名, やや長い: 2 名, 長い: 1 名であった (Fig. 6 下)。以上の結果より, 実験操作は概ね平易で, 実験時間も初等中等教育の授業時間 (45~50 分間)に適切な実験であったと考えられる。自由記述で, この実験を通して初めて知ったことを尋ねたところ「カキ心臓がいつでもドクドク動いていたこと」「カキの心臓の形」「カキの心臓の位置 (3 人)」「カキの心臓がわりと簡易に確認できること」との回答を得た。生きている心臓を観察する機会が少なく, その様子にまずは強い印象を受けた様子をうかがうことができた。また, 再確認できたことは何か, という設問に対しては「アドレナリン, アセチルコリンの作用」「アセチルコリンによる心拍数の減少 (2 人)」と回答され, 座学で学習したことを再確認していた。一方, 実験結果が予測と異なっていたと思われる実験者の回答で「アドレナリンで興奮するかと思っていた」が得られた。実験結果が予測と異なったことですでに持っている知識との混乱をきたしていると予測される。

以上より, 本実験は初等中等教育の授業時間 50 分以内に容

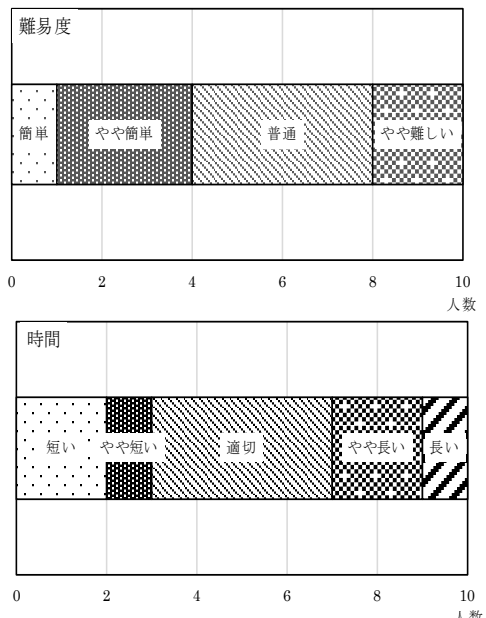


Fig. 6 実験事後アンケート結果  
2015. 01. 05 の実験参加者 10 名に実験の難易度について 5 段階(簡単~難しい), 実験時間の適切性についてアンケートを実施した。

易に実施でき、学生・生徒の興味喚起に一定の効果が得られることが明らかとなった。一方、実験者が操作を誤る可能性のある個所もいくつかみられた。とくに神経伝達物質を指示通り心臓に添加できないと座学で得た知識との混乱をもたらすことになることから、表示や容器を明確に区別するなど工夫が必要である。動物の心臓の拍動によって生命を維持する仕組みは、今回取り上げた高等学校生物基礎だけでなく、小学校第6学年での「ヒトの体のつくりと働き」、中学校第2学年での「動物の体のつくりとはたらき」でも繰り返し取り上げられる。本実験は、これらの学習段階でも利用が可能である。

2015年1月27日に東京高専C科2年生全員に2014年12月2日に実施したものと同様の確認テストを実施した。結果を解析することで、実験の実施が知識の定着に与える影響を考察した。3点満点の試験で、実験参加者の平均点は2.0点、実験非参加者の平均点は1.5点であった(Fig. 4, 実験後)。t検定(等分散, 両側)を行ったところP値は0.12となり、有意な差はなかった。実験の参加者の実験前後の平均点は、実験前は1.6点、実験後は2.0点となったが、一対の標本によるt検定(両側)を行ったところP値は0.33となった。また、実験非参加者の実験前後の平均点は、実験前は1.3点、実験後は1.7点であったが、一対の標本によるt検定(両側)を行ったところP値は0.21となった。以上より、実験の前後で実験実施による知識の定着に有意な差は見られなかった。知識の定着は実験の経験によって大きな差はみられなかったが、一方で成績上位群の一対の標本によるt検定(両側)のP値は、実験非参加者は0.13であったのに対し、実験参加者は0.080と0.1より小さくなり、有意な差がある傾向が認められた。解析対象数に検討の余地はあるが、実験は、成績上位群の知識の定着を上昇させる可能性が示された。今後、指導者用の実験テキストを整備し、高等学校を始めとした初中等教育課程における実験の導入を働きかけていきたい。その過程において、成績上位層への実験実施が知識の定着に有効な傾向から、進学校や高大一貫校に対する働きかけを模索したい。

## 5. 謝辞

本研究に当たり、実験の構築に大きく寄与した藤田 翠 氏

(平成26年度東京工業高等専門学校物質工学科卒業、現アサヌマコーポレーション株式会社)、データの解析にご尽力いただいた平成28年度ダイバーシティ研究環境実現イニシアティブ(特色型)研究支援員の木村 妙子 氏(首都大学東京)、そして論文執筆にあたり多くの御助言をいただいた東京工業高等専門学校物質工学科 庄司 良 准教授に深く感謝する。

本研究は平成26年度東京工業高等専門学校重点配分経費の一部、およびJSPS 科研費 16K01046 の助成を受けたものである。

## 6. 引用文献

- 1) 文部科学省, 高等学校学習指導要領解説 理科編 理数編 大日本図書 pp. 73-81 (2009)
- 2) 浅島誠 他 20名, 高等学校理科用文部科学省検定済教科書生物基礎 東京書籍 p. 105 (2014)
- 3) 浅島誠 他 20名, 高等学校理科用文部科学省検定済教科書生物基礎 東京書籍 pp. 134-136 (2014)
- 4) 本川達雄・谷本英一 他 16名, 高等学校理科用文部科学省検定済教科書生物基礎 啓林館 p. 91 (2014)
- 5) 庄野邦彦 他 9名, 高等学校理科用文部科学省検定済教科書生物基礎 実教出版 p. 91 (2015)
- 6) 吉里勝利 他 17名, 高等学校理科用文部科学省検定済教科書生物基礎 第一学習社 p. 181 (2015)
- 7) 嶋田正和 他 11名, 高等学校理科用文部科学省検定済教科書生物基礎 数研出版 p. 115(2014)
- 8) 金子洋之 「新しい実験テーマの開発と実験マニュアルの整備—生物学(発信事業)—」平成19年度慶應義塾大学特色GP-文系学生への実験を重視した自然科学教育・活動報告書, 慶應義塾大学日吉キャンパス特色GP, pp. 81-176 (2007)
- 9) 薄井芳奈 「Newの培養法によるウズラ胚の観察—ニワトリからウズラへのスケールダウンの工夫と授業実践—」兵庫県高等学校教育研究会生物部会誌 36 pp. 10-13 (2012)
- 10) 高槻俊一, 牡蠣, 技報堂, pp. 63-100 (1949)
- 11) 兵庫県インスパイアハイスクール事業教材授業実践報告県立須磨東高等学校「ウズラ初期胚の心拍数」(2011)