

シンクロトロン放射光で、壊さずに恐竜の骨化石内部の微細構造を明らかにする！ ：SPring-8 での新たな試み

今井 拓哉

Imai Takuya

1. はじめに

X線コンピュータ断層撮影法(以下,X線CT)は,X線を用いて物体を透過し,その内部構造を3次的に撮影する手法である。2000年代以降では,恐竜等の化石を対象とした古生物学の研究に積極的に活用されている。本稿では,そういった研究の最先端であるSPring-8のシンクロトロン放射光を用いた,シンクロトロン放射光X線マイクロ断層撮影法(Synchrotron-radiation X-ray Micro Tomography,以下,SXMT)の恐竜化石研究への応用を行った研究¹⁾を紹介し,福井県産の恐竜骨化石に残された微細構造のSXMTによる観察とその意義について述べる。

2. 恐竜の化石

恐竜は約35億年と言われる生物の歴史の中で地球に現れた無数の古生物(絶滅し,化石でしか見られない生物の総称)の1グループに過ぎないが,その知名度は群を抜いており,恐竜について見たことも聞いたこともないという人は本稿の読者にはいないだろう。それはもちろん,恐竜が一般的にイメージされる,「かつて陸上を支配した謎の多い巨大な爬虫類」という独自の魅力によるものと思われる。さて,イメージはともかく,古生物学的な定義に則れば,恐竜(便宜上,恐竜から進化したとされる鳥類はここでは除く)は,「およそ2億3000万年前に出現し,6600万年前に絶滅した,直立歩行を行う陸上双弓類」とざっくり言ってよい。また,双弓類の定義をここで詳細に述べることは難しいが,非常に大雑把に,大部分の爬虫類とすべての鳥類を包括

する大きな分類群と置いていただければ良いだろう。なお,恐竜という点では,福井県は“恐竜王国”と呼ばれており,国内で最も多くの新種の恐竜が発見されている地域である(図1)。

恐竜化石の研究と言えば,一般的には化石を発掘し,新種を命名することだと認識されていることが多い。しかし実際には恐竜の研究は多岐にわたり,主に骨化石に残された情報からその姿(形態)や,類縁関係(系統進化),生息範囲(生物地理),そして習性や生理(生態)等,様々な視点から恐竜の研究は行われている。特に恐竜の生態を理解するために重要な情報となるものが,骨の微細構造である(図2)。動物における骨は単なるリン酸カルシウムの塊ではなく,様々な組織を有する複合構造物であり,その構造は持ち主の成長速度や年齢を反映する。例えば,成長中の骨には,骨に栄養を供給するための,直径1mmに満たない無数の毛細血管の通り道(血管通路)が見られる。また,新たな骨は骨芽細胞と呼ばれる細胞から作られるが,成長中の骨には,これを含む2次骨単位と呼ばれるものが多く見られ,成長が終わった骨ではこれがあまり見られない。一方,骨の成長の過程で,骨に成長停止線と呼ばれる,幅0.1mm未満のリング状の線が残される。これは樹木の年輪と基本的に同様のもので,(動物種にもよるが)1年に1つの成長停止線が形成される。よって,骨の成長停止線を数えることにより,その骨が何歳の動物のものかが分かる。そして,成長が完了した骨の外縁には,External Fundamental Systemと呼ばれる構造が形成される²⁾。なお,これらの微細構造は,それぞれ空間だったり,骨の成分が緻密に集まったものだったりするため,周囲の骨とは微

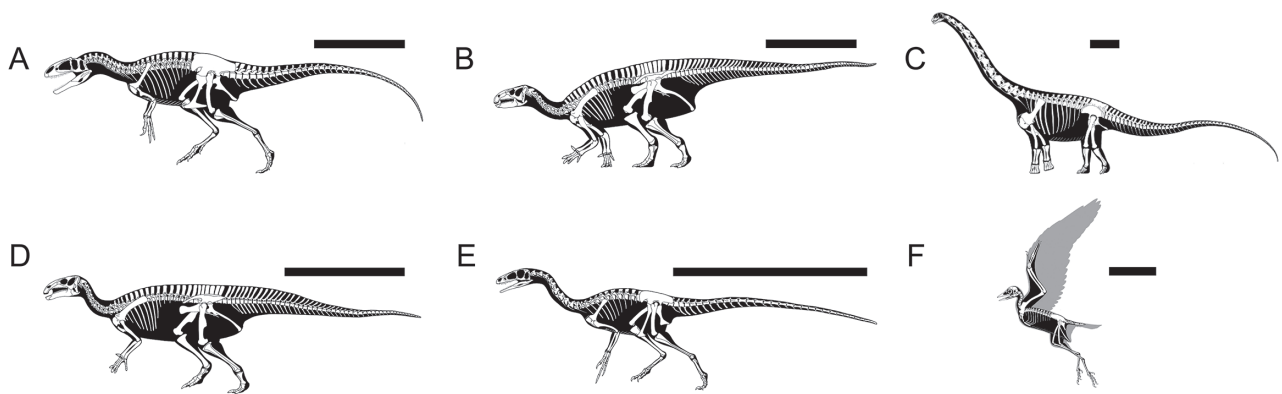


図1 福井県産の新種恐竜の例

A. フクイラプトル, B. フクイサウルス, C. フクイティタン, D. コシサウルス, E. フクイベナートル, F. フクイプテリクス（鳥類）。スケールバー＝1 m (A～E), 10 cm (F) (骨格復元図制作：G.Masukawa)

妙な密度差が存在する。そして、こういった構造は、保存状態が良い骨化石であれば、骨の主成分が他の鉱物と置き換わる。つまり化石化した後でも保存されるのである。

これらの微細構造をある恐竜の個体の骨化石から観察すれば、その個体が幼かったのか、若かったのか、成熟していたのか、といったことが分かる。更に同じ種類の恐竜の骨化石がたくさん手に入れば、寿命や成長速度も推定が可能である。これは、生きていたころの姿を観察することができない恐竜に対して、その成長を学ぶ貴重な手段の1つとなる。だがこの研究には、1つの難点があった。それは、構造の観察のために、骨化石を切り、組織切片を作らなければいけないことだ。この「切る」とは比喩表現ではない。文字どおり、骨化石を岩石カッターで切るのだ。こういった研究では、腕や脚の棒状の骨が利用されることが多いのだが、キュウリの輪切りのごとき切片を、今度は研磨機で厚さ0.03 mmまで薄くすると、輪切りの骨化石を光が透過するようになり、組織薄片が完成する。それを偏光顕微鏡で観察することで、やっと骨化石の微細構造が観察できるのである。骨化石を切って研磨すれば、当然その部位は無くなってしまう。これは、貴重な恐竜骨化石に対しては、資料の保存の理由等から、簡単に行えないことである。実際に国内の恐竜骨化石の多くは国や地方自治体の天然記念物等に指定されていることが多く、そんなものを研究のためとはいえ輪切りにするなど、一般的に理解が得られるはずもない（正式な手続きを踏んで許可を得られる場合も稀にあるが）。このような事情から、恐竜骨化石の微

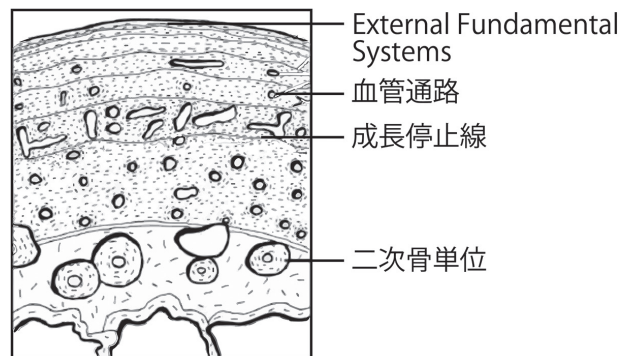


図2 恐竜の骨断面に見られる微細構造の模式図

文献2のFigure 1 (CC BY 4.0) を改変

細構造から得られる貴重な情報にアクセスできないというケースが多々あった。そこで登場するのが、SXMTによる非破壊の恐竜骨化石微細構造研究である。

3. SXMTによる化石観察

SXMTは、シンクロトロン放射光をX線として使い、 μm スケールの断層撮影を行う手法というわけである。医療や工業用途のX線CTで用いられるX線と、シンクロトロン放射光X線の大きな違いの1つとして、後者ではその波長が高度に一致しているという点が挙げられる。シンクロトロン放射光を用いたX線は波長のムラが非常に少ないため、微妙な密度差の違いを有する物質同士を、明瞭なコントラストの違いとして分離することができるのである。そしてこのSXMTの精度こそが、恐竜骨化石微細構造を明らかにできる理由なのである。

SXMT を古生物の骨化石に利用する研究は、2010 年代から行われてきた。その研究の中心となっているのは、European Synchrotron Radiation Facility (ESRF) と呼ばれる、フランスのシンクロトロン放射光施設である。例えば、魚類から陸上動物へ進化する前後の段階にあり、約 3 億 6000 万年前に存在した、アカンソステガ (*Acanthostega*) と呼ばれる原始的な四肢動物においては、骨格の微細構造を SXMT で可視化することにより、その動物の成長速度や、陸上進出にあたっての骨格構造の進化を評価することに成功している³⁾。他にも米国等の放射光施設でも同様の実験が複数回行われ、成果をあげている。

ところが恐竜化石において、骨格の微細構造を SXMT によって評価しようという試みは、これまで世界的にもほとんど見られなかった。その理由は、SXMT の視野とエネルギー量にある。これまで開発されてきた多くの SXMT は、非常に高い空間分解能 (2 つの物体を 2 つのものとして見分けられる最小距離であり、これが高いほど小さな物体を識別できる) を持ち、数十 nm の物体すら観察可能なものもある。一方で、こういった高い空間分解能は、視野とトレードオフの関係にある。つまり、空間分解能を高くすればするほど、断層画像に写すことができる試料の範囲が小さくなるのだ。どの放射光施設でも、この空間分解能と視野のどちらを優先するかはある程度調整が可能だが、多くの放射光施設では小さな対象物を非常に高い空間分解能で撮影することに特化しており、最大の視野が 1 cm に満たない場合も多い。こういった視野では、恐竜のような大型動物の骨化石を対象にした際、十分な範囲の断層撮影が行えない。更に、小さな対象物に特化することとは、あまり強い X 線のエネルギー量を必要としないということにもつながる。SXMT に限らず、すべての X 線 CT において、X 線のエネルギー量は物体を X 線が透過する率に影響する。懐中電灯と厚紙で例えれば、弱い光の懐中電灯で厚紙を照らした時には、厚紙の反対側では光が遮られるが、強い光の場合にはある程度の光が通る。SXMT を骨化石に利用するケースでも、X 線の光の強さ、つまりエネルギー量が低すぎれば、骨化石を X 線が全く透過せず、骨化石の内部の微細構造を断層撮影することもできない。実は、前述の小さな対象物に特化した放射光施設では、厚さ数 cm に達する鉱物 (化

石なので骨ではなく鉱物化している) を透過するために十分な X 線エネルギー量は、そもそも設定できないのである。そのため、恐竜骨化石のような、(一般的な SXMT の尺度では) 硬く大きな対象物は断層撮影が困難なのだ。

一方、SPring-8 は、 μm スケールの空間分解能を維持しつつ、視野を最大で 3 cm 以上にできるビームラインを 2 つ備えており、それぞれ BL20B2、BL28B2 と呼ばれている。また、X 線エネルギー量は BL28B2 で 200 keV (keV = キロ電子ボルト、エネルギーの単位) まで設定でき、これは世界の SXMT でもトップクラスの値である。そのため、恐竜骨化石の SXMT に対して、これらのビームラインは理想的な条件を整えられるのである。

筆者らによる研究グループは、骨微細構造の評価とは別の目的で BL20B2 や BL28B2 における恐竜骨化石の SXMT を 2017 年から行っていた。これらの研究は、恐竜骨化石が岩石の中に埋まった状態で、その外形態の断層画像を SXMT により取得し、3 次元復元するという試みだった。その研究を進めていく中で、骨の外形態だけでなく、骨内部の血管通路が断層画像に捉えられていることに気が付いた。そこで、ESRF での先行研究例もあったことから、SPring-8 では恐竜骨化石の微細構造を観察可能ではないかと着想し、筆者らの研究がスタートしたのだ。

4. 恐竜フクイラプトルにおける骨の微細構造

筆者らが SPring-8 での CT 実験に用いた試料は、フクイラプトルと呼ばれる、福井県で発見された恐竜の大腿骨化石だ (図 1A)。フクイラプトルの大腿骨は福井県の恐竜化石発掘現場から数点見つかったが、筆者らが用いたものはこのうち、比較的若い個体のものと思われる長さ 20 cm ほどのもの 2 点だ。若い個体であるということは、フクイラプトルの成長過程を骨の組織から調べることができる貴重な試料である。ちなみに、フクイラプトルの化石のうち、2000 年に初めて論文で公表されたものは国の特別天然記念物に指定されており、筆者らが用いた若いフクイラプトルの大腿骨化石もそれに準ずる重要な化石と見なされている。筆者らは今回の実験で、CT 画像によって観察できる微細構造と従来の

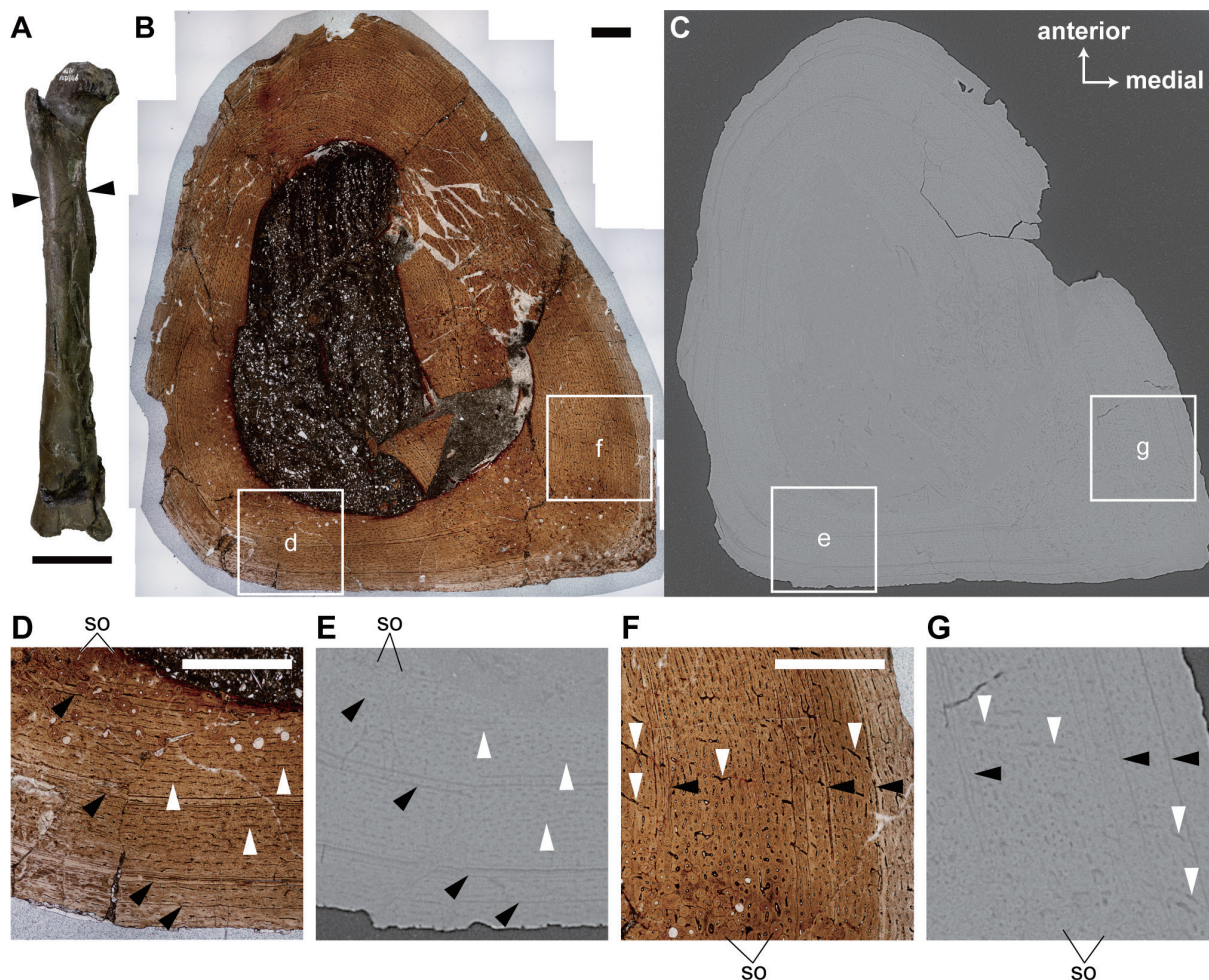


図3 試料の外観 (A), 断面薄片写真 (B,D,F), 同部位の断層画像 (C,E,G)

Aの矢印は、断面薄片並びに断層画像が取得された位置を示す。BとCの四角は、それぞれD～Gで拡大された位置を示す。D～Gの黒矢印は成長停止線を、D～Gのsoは2次骨単位を示す。スケールバー＝20 mm (A), 1 mm (B, D, F)

組織薄片によって観察できる微細構造を比較するため、これら2点の試料において特別に骨幹の組織薄片を作る許可を得ることができた。

実験では、BL28B2において、大腿骨の骨幹と呼ばれる部分の断層画像を取得することにした。この部分には前述の成長停止線が最もよく残されるため、試料にした大腿骨が何歳のフクイラプトルのものかが推定できるのである。なお、試料を試料台に設置するために、100円ショップの縦長円筒形のプラケースに、メラミンスポンジを詰め込んで固定している。貴重な化石に対してそのような固定方で良いのかと言われてしまいそうだが、この方法がいまのところ一番安定し、様々な形や大きさの化石試料に対応できている。試料を設置し終わったら、撮影に移る。今回は骨幹の一部範囲に関する数十枚程度の

断層画像を取得すれば良かったため、それぞれの試料において実験時間は90分程度だった。

取得できた断層画像と、従来の組織薄片を比較したものが図3である。BL28B2で取得された断層画像では、血管通路や多くの2次骨単位、成長停止線が、組織薄片と同様によく観察できる。よって、恐竜骨化石において少なくとも前記の3つの微細構造を観察するにあたっては、SXMTが有効であることが分かった。また、2次骨単位が数多く見られることは、これらの骨が生きていたころは盛んに成長していたことの証左である。更に成長停止線は4本数えられることから、これらの骨の持ち主は4歳という年齢で死に、化石化したことが推定できる。フクイラプトルが成熟する年齢はまだ分かっていないが、比較的近縁な恐竜であるアロサウルスでは15歳で

大人になるとされることから、4歳という年齢はフクイラプトルでも成長期だったと考えられ、2次骨単位が多く見られることも整合性がある。これらの結果から、BL28B2でのSXMTには、恐竜の年齢を骨組織の断層画像から推定するだけの精度があることが判明した。

5. SXMTを活用した恐竜化石研究の今後

今回の筆者らの研究は、どちらかと言えばパイロット・スタディに近い。まずはSPring-8でのSXMTが恐竜化石に対してどの程度有効であるかを確認する必要があったのだ。結論としては、今回の実験は成功と言って良く、今後は組織薄片を作ることが困難な保護された恐竜化石においても、骨組織の断層画像から成長段階を評価することができる(直径3 cm程度までという制限はあるが)。

SPring-8でのSXMTができることは、成長段階の評価だけではない。骨化石に残された μm スケールの血管や神経の通り道を可視化することで、歯等の成長する組織に対する栄養供給の効率を評価することもできる。また、こうした骨組織の観察は、これまでは組織断面の観察に基づく2次元的なもの(つまり輪切りの表面だけを観察したもの)ばかりだったが、SXMTを用いれば例えば骨化石1つ分の微細構造を丸ごと可視化することもでき、2次元的

な観察よりもはるかに大きな情報を得ることができる。更に、SXMTによる断層画像の取得は1枚あたり数分と短いことから、1日で数十試料に及ぶ骨化石の断層画像を1枚ずつ取得することも可能である。恐竜化石が大量に発見されている現場において、恐竜の年齢層を網羅的に検証するためには非常に有効な手法である。

この手法以外にも、SXMTの恐竜骨化石に対する応用は多岐にわたるだろう。もちろん今後も様々な恐竜骨化石に対して様々な目的でこの手法を試し、恐竜学研究の新たな分野としての確立を目指していきたいと思っている。しかし、より多くの、特に柔軟な発想と熱意を持つ学生や若手研究者には、恐竜のみならず、多種多様な古生物化石においてSXMTを活用していただき、新たな手法の開発や、これまで予想もされていなかった発見を行っていただきたいと願っている。そういった研究の啓発のためにも、今後もSPring-8におけるSXMTを用いた恐竜骨化石の評価を続けて行く。

参考文献

- 1) Imai T., *et al.*, *J. Synch. Rad.*, **30**, 627-633 (2023)
- 2) Bailleul, A., *et al.*, *PeerJ*, **7**, e7764 (2019)
- 3) Sanchez, S., *et al.*, *Nature*, **537**, 408-411 (2016)

(福井県立大学恐竜学研究所)