

カワウの循環機能調節における
自律神経系の役割に関する研究

山本 麻希

博士（理学）

総合研究大学院大学

数物科学研究科

極域科学専攻

平成 12 年度

(2000)

甲524

目次

1. 序論	3
1.1. ウ類の形態的、生理的特徴	3
1.2. ウ類への心拍変動解析の応用	5
1.3. 動物に与える影響を最小限に止めた心電波形計測方法の確立	6
1.4. 本研究の目的と構成	7
2. データロガーを用いた心電図計測方法及び心拍変動解析方法の確立	9
2.1. 緒言	9
2.2. 方法	10
2.2.1. 被験動物	10
2.2.2. マイクロデータロガー	10
2.2.3. 電極装着方法	11
2.2.4. 心電波形計測	12
2.2.5. 心拍変動解析	13
2.3. 結果	15
2.3.1. ECG ロガーによるカワウの心電図記録	15
2.3.2. 心拍間隔変動の周波数解析結果	15
2.4. 考察	16
2.4.1. ECG ロガーを用いた心電波形計測法	16
2.4.2. 心拍変動解析	17
2.4.3. カワウの低い呼吸頻度	18
3. 心拍変動解析によるカワウの自律神経機能の評価	21
3.1. 緒言	21
3.2. 方法	22
3.2.1. 被験動物と心電波形計測	22
3.2.2. 自律神経薬物遮断	22
3.2.3. 心拍変動解析	23
3.3. 結果	24
3.3.1. 自律神経遮断薬投与による心拍数及び自律神経緊張度の変化	24
3.3.2. 心拍変動解析に及ぼす自律神経遮断薬の影響	24
3.4. 考察	25
3.4.1. カワウの自律神経機能指標の信頼性と特徴	25
3.4.2. カワウの循環機能特性	26

4. カワウの環境温度に対する体温調節機構の役割	28
4.1. 緒言.....	28
4.2. 方法.....	29
4.2.1. 被験動物と電極・ロガーの装着.....	29
4.2.2. 温度環境の設定と心電波形、酸素消費速度計測.....	29
4.2.3. 体温計測と熱コンダクタンス.....	30
4.2.4. 心拍変動解析.....	31
4.3. 結果.....	31
4.4. 考察.....	32
4.4.1. 体温調節と自律神経機能について.....	32
4.4.2. ウ類の体温調節の特徴.....	33
5. カワウの人為的ストレスに対する反応.....	37
5.1. 緒言.....	37
5.2. 方法.....	38
5.2.1. 被験動物と電極・ロガーの装着.....	38
5.2.2. 人為的ストレスの設定と酸素消費速度計測.....	38
5.2.3. 心拍変動解析.....	39
5.3. 結果.....	39
5.4. 考察.....	40
6. 総合考察.....	44
6.1. マイクロデータロガーを用いた心電波形計測方法の有効性.....	44
6.2. カワウの自律神経活動と循環機能特性.....	46
6.2.1. カワウの自律神経機能と代謝余裕.....	46
6.2.2. カワウの自律神経系による循環機能調節機構.....	49
謝辞.....	53
引用文献.....	55
図表.....	62

1. 序論

1.1. ウ類の形態的、生理的特徴

地球上に存在する動物は、それぞれの生息環境に適応した形態的、生理的特性を有している。水と空気は、粘性、密度などの物理的性質が異なるため、潜水・飛翔行動に適した形態的、生理的特性も異なると考えられる。潜水と飛翔の両行動に適応している動物は少なく、ウ類（Phalacrocoracidae）等の飛翔する潜水性鳥類に限られる。近年のマイクロデータロガーを用いた研究によって、ウ類などの潜水性鳥類は高い潜水能力を持っていることが明らかになってきた（Croxall et al. 1991, Watanuki et al. 1996, Kato et al. 2000）。ウ類（ペリカン目ウ科 1 属 27~28 種）は、熱帯域から温帯域を主要な分布域とし、一部の種は極域にまで生息域を持つ体重約 0.6~3.5kg の海鳥である（Cooper 1986）。

一般に、翼面積は揚力と正比例の関係があるため、翼面積が小さく相対的に体重が重い鳥は飛翔することが出来ないと考えられる（Pennycuik 1989b）。一方、潜水する際に保有可能な酸素量は体重に比例することが知られており、潜水行動においては体重が重い方が有利であると考えられている（Butler and Jones 1997）。ウ類は潜水する際後肢を用いて推進力を得ており水中で翼を使って潜水する他の鳥類のように水中での翼の抵抗を考慮する必要がないため、他の潜水性鳥類に比べその重い体重に応じた相対的に大きな翼面積を有している（長 1994）。また、一般に潜水行動に必要なエネルギーコストは、主に浮力の克服に費やされると考えられているが（Lovvorn and Jones 1994, Wilson et al. 1992）、ウ類は水の浸入しやすい性質の羽毛を有しており（Rijke 1968）、水中における浮力が他の海鳥類に比べ小さいため、水中で移動する際のエネルギーコストは小さいと考えられている（Lovvorn and Jones 1991, Wilson et al. 1992）。このようにウ類は形態的に潜水行動と飛翔行動に適応している。

ウ類が飛翔と潜水の2つの行動を行うためには、形態的にだけでなく生理的にも適応する必要があると考えられる。ウ類が行う羽ばたき飛翔はエネルギーコストの高い運動のため (Pennycuick 1989a)、飛翔中、継続して高い循環速度を維持することが必要と推測される。一方、潜水行動においては、開始前に体内に保有している限られた酸素を使用するので、ウ類は潜水中代謝速度を低下させる必要があり、潜水後は次の潜水を出来るだけ早く開始するため、潜水中の酸素負債からの回復のために急激に代謝速度を上昇させる必要があると考えられる。心拍ロガーを用いた亜南極に生息するアオメウ

(*Phalacrocorax georgianus*) の研究から、潜水前の水面で 293 bpm (beat per minute) だった心拍数が、潜水開始と同時に 103 bpm まで急激に減少し、再び潜水を終え水面に戻ってくると 306 bpm まで急激に増加するという潜水行動に伴う著しい心拍数変化があること、また、飛翔中も 309 bpm という高い心拍数であることが報告されている (Bevan et al. 1997)。ウ類は潜水・飛翔行動の両方に適応するため生理的に特殊化しており、それぞれの行動に付随して心拍数を変化させることが可能な循環調節機能を有していると考えられる。飛翔・潜水行動に伴う心拍数の変化は自律神経系によって調節されているため、ウ類の循環機能調節における自律神経系の役割は比較生理学的観点からも大変興味深い対象である。

本研究では、日本に生息するカワウ (*Phalacrocorax carbo*) を研究対象とした。カワウは、極域から熱帯域まで世界的に広く分布することが知られている (Harrison 1985)。日本にいる亜種 (*P. c. hanedae*) は留鳥であり (高野 1990)、カワウが経験する環境温度は冬期から夏期にかけて大きく変化すると考えられる。また、ウ類は潜水行動に適応する形態的適応として水が浸入しやすい羽毛構造を持つため (Rijke 1968)、比熱の高い水中での体温保持に必要なエネルギーコストは大きいと考えられる (Schmid et al. 1995)。ところが、ヨーロッパに生息するカワウの1亜種 (*P. c. sinensis*) は寒冷な北極にも生息していることが知られており (Grémillet et al. 1999)、低温、高温環境に対する体温調

節機構を調べる上でも大変興味深い対象である。

1.2. 鳥類への心拍変動解析の応用

動物の自律神経活動を調べることは、これまで大変困難とされてきた。しかし、1980年代から脊椎動物の心拍間隔が自律神経系によって調節されていることに着目し、心拍間隔変動の周波数解析から自律神経の活動を推定する試みが行われてきた (Kitney and Rompelman 1980, Akselrod et al. 1981, Pagani et al. 1986)。現在では、心拍変動の周波数解析法は、動物に与える影響を最小限に止め、かつ簡便に自律神経機能を評価できることから、哺乳類では、運動やストレスの影響 (Pagani et al. 1991, Puig et al. 1993, Sloan et al. 1996, Ishida and Okada 1997, Physick-Sheard et al. 2000)、安静時の自律神経活動の種間比較 (Ishii et al. 1996)、自律神経活動の日内変動を調べるなど (Kuwahara et al. 1999, Hashimoto et al. 1999)、さまざまな目的に応用されている。しかし、心拍変動解析を鳥類に応用した例は少なく、ヒメウズラ (*Coturnix chinensis*) の発生過程における自律神経機能の分化に関する研究が報告されているのみである (Pearson et al. 1998)。

また、自律神経活動の遮断薬を投与することで、各々の動物の安静時の自律神経活動の特徴を明らかにすることができる (Jose 1966, Jose and Stitt 1967, Jose and Collison 1970, Sturkie and Chillseyzn 1972)。哺乳類においては、自律神経活動の特徴がその動物の生態、行動において適応的かどうかについて比較生理学的な研究が行われている

(Matsui and Sugano 1987, Ishii et al. 1996, Kuwahara et al. 1996)。鳥類は、哺乳類や爬虫類と同様に自律神経系による循環調節機構を有していることがわかっている (Akester 1979, Bennett 1974)。したがって、これまで哺乳類で蓄積された自律神経活動の特性と動物の行動特性の関係と比較することで、カワウの自律神経活動の特徴がカワウの生態、行動にどのように貢献しているかについて類推できると期待される。更に、カワウの自律神経活動の特徴に加えて循環機能に関わる諸特性を他の鳥類と比較することで、カワ

ウの循環機能特性について更に深い理解が得られると考えられる。

環境温度、ストレス、摂餌、運動などは循環機能を変化させることが知られており、そのような循環機能の変化は自律神経系によって調節されていることがわかっている (Ganong 1997)。安静時における自律神経活動に加え、このようにウ類の循環機能に影響を与える要因が変化した場合、各々の自律神経活動がどのように変化して循環機能を調節しているかを調べることで、ウ類における自律神経系による循環調節機構を明らかにすることができると思われる。これまで鳥類で循環機能に影響を与える要因に対する自律神経活動の変化を調べるには、神経遮断薬や自律神経切除などを行った鳥を用いて循環機能の反応を調べる研究が行われてきた (Furilla and Jones 1987, McPhail and Jones 1999)。心拍変動解析を応用することで、カワウに投薬や神経切除などの負荷を与えずに循環機能を変化させる要因に対する自律神経系の役割を調べることが出来ると考えられる。

1.3. 動物に与える影響を最小限に止めた心電波形計測方法の確立

鳥類にヒトが近づいたり、それらを取り扱う際に動物に与える心理的ストレスは、心拍数の上昇を引き起こすことがわかっている (Culik et al. 1990, Nimon et al. 1995, Giese 1998, Korte et al. 1999)。哺乳類や鳥類の心理的ストレスは、一般に血液中のグルカゴンなどのホルモンを定量することによって評価されている (Becker et al. 1985, Herd 1989, Morton, et al. 1995)。ところが、動物においては採血するという行為自体が心理的ストレスになる可能性があるため、動物に与える影響を最小限に止めたストレス評価法の確立は重要と考えられる。ストレスはグルカゴンなどのホルモンを分泌させると同時に交感神経活動を活性化するため (Ganong 1997)、心拍変動解析を用いて交感神経活動をモニターすることでストレスを評価することができれば、カワウのみならず多くの野生動物において有効なストレス評価法となると考えられる。

また、心拍変動解析を用いて自律神経活動を調べる上で動物に与える影響を最小限に止めた心電波形の計測方法を確立することは、大変重要である。動物に装着するタイプのマイクロデータロガーやラジオトランスミッターは、機械を動物に装着した後人為的な影響を最小限に止めた状態で心電波形を計測することが出来るため、無拘束の動物の心電波形計測に適している。現在、海鳥類の心電波形計測でよく用いられている体内に電極を埋め込む電極装着方法は、心電波形に混入する電位的なノイズが少なく動物に剥奪されにくいという長所を有しているが、動物が手術から回復するまで心電波形計測を行うことができないという短所がある (Woakes et al. 1995)。もし手術を必要としない電極装着方法が確立されれば、動物に与える影響を更に減らすことが出来る上、手術からの回復を待つ時間が大幅に短縮できるため、大変有効であると考えられる。

1.4. 本研究の目的と構成

本研究では、カワウの循環機能特性と循環機能調節における自律神経系の役割を明らかにする事を目的として、以下の項目で構成されている。

(1) データロガーによる動物への影響が少なく、手術を必要としない簡便な心電波形計測方法を確立する。

(2) (1)の方法を用いて、哺乳類等で広く用いられている心拍変動解析がカワウに応用可能か検証する。

(3) 自律神経の神経伝達物質を遮断する薬剤を投与し、心拍変動解析より得られる自律神経活動の指標の有効性を検証し、カワウの自律神経による循環機能調節の特徴を明らかにする。

(4) 熱産生、放熱、自律神経活動の指標を同時に計測し、異なる環境温度下におけるカワウの体温調節機構を明らかにする。

(5) 人為的なストレスをカワウに与え、心拍変動解析がストレスの評価として適して

いるかを検証する。また、人為的ストレスが代謝、循環機能に与える影響を自律神経活動の視点から考察する。

2. データロガーを用いた心電図計測方法及び心拍変動解析方法の確立

2.1. 緒言

自律神経系による循環機能調節機構を明らかにするためカワウに心拍変動周波数解析を応用するには、長時間の継続的な心拍間隔のデータを得る必要がある。これまでマイクロデータロガーを用いて海鳥類の心電図を記録するため、針電極法、埋め込み式電極法が試みられた (Kuroki et al. 1999)。針電極法は、電極装着が簡便という利点があるが、動物が動くとノイズが多く混入するため、心室拍動を表す波形の識別が困難であり、皮膚に電極を固定することが難しいため動物に容易に剥奪されるという欠点がある (Kuroki et al. 1999)。埋め込み式電極法は、針電極法に比べ電氣的ノイズが著しく減少し、体内に電極を埋め込むため動物に電極を剥奪される事は無くなったが、電極装着に外科手術を伴うため、外科手術から動物が回復するために時間がかかり、装着作業が複雑である (Kuroki et al. 1999)。よって、動物に与える影響を最小限に止め、動物が動いても心電波形に混入するノイズが少なく、かつ、動物に電極を剥奪されない電極装着方法の確立が期待されている。

心拍間隔は自律神経系によって調節されており、各々の自律神経活動が心拍変動のパターンに表れる事に着目して、心拍変動の周波数解析から得られる指標を用いて自律神経活動を推定する試みが行われている (Kitney and Rompelman 1980, Akselrod et al. 1981, Pagani et al. 1986)。哺乳類に應用された心拍変動解析の結果から得られるパワースペクトル図には、ヒト、イヌ、サラブレッド馬、マウス、ハタネズミ (*Microtus arvalis*) のように血圧変動、呼吸頻度に対応した2つの明瞭なピークの表れる動物と (Pagani et al. 1986, Kuwahara et al. 1994, Ishii et al. 1996, Kuwahara et al. 1996)、ウサギやヒツジのよう

にピークが明瞭に表れない動物が存在する (Moguilevski et al. 1996, Yu and Lumbers 2000)。自律神経活動を推定する指標を算出するためには、2つの主要な周波数成分を明瞭に区別する境界が設定可能であることが必要である (Pagani et al. 1986, Kuwahara et al. 1994, Ishii et al. 1996, Kuwahara et al. 1996)。よって、カワウに心拍変動解析による自律神経機能評価法を応用するためには、カワウの心拍間隔データを周波数解析して得られるパワースペクトル図の形状を検証し、自律神経機能評価指標の算出に必要な2つの周波数成分の境界を決定する必要がある。

本章では、カワウを対象に、ECG ロガーを用いて外科手術を必要としない簡便な電極装着手法による心電図記録方法を確立すること、さらに、心拍変動の周波数解析法がカワウに適用可能かどうかを検証することを目的とした。

2.2. 方法

2.2.1. 被験動物

実験に用いた4羽のカワウは、野生個体を東京湾にて捕獲後、日本獣医畜産大学（東京都武蔵野市）において、1999年5月から2000年7月まで、2m×2m、高さ4mのケージ内で飼育された。餌は鳥が自由に食べられるようマアジを十分に与え、飲料水として水道水を与えた。動物飼育室内は自然光の明暗環境条件で、温度調節は行わなかった。

2.2.2. マイクロデータロガー

心電図の記録には、ECG データロガー（以下 ECG ロガー、UWE-200ECG、（有）リトルレオナルド、重量 52 g、Fig2-1）を用いた。CPU は 12bit で、+5.9~-5.9mV の電位差を 2.88×10^{-3} mV の精度で計測できる。サンプリングインターバルは、1~10³ ms に設

定可能であるが、今回は 1ms に設定した。ロガー本体と電極は、電極と一体型の取り外し可能なコネクタによって接続されている。電極に接続するリードワイヤー 2 本とリファレンス用電極に接続するリードワイヤー 1 本がコネクタから外部に導出されている。リードワイヤーには銅線をビニールコーティングしたものをを用いた。

データは、8Mbyte のフラッシュメモリーに記録され、1ms で設定した場合の最大計測時間は、約 2 時間半である。計測条件の設定、データのダウンロードは、ロガーを専用インターフェイスボックス (IFB-LM、(有) リトルレオナルド) に専用ケーブルを用いて接続し、コンピューター上の専用ソフトウェア Logger Tools ver. 2 ((有) リトルレオナルド) を用いて行う。得られたデータは、同ソフトウェアを用いて 2 つの電極間の電位差のテキストデータに変換する。

2.2.3. 電極装着方法

電極には、ディスプレイザブル心電図電極 (新生児用レクトロード N、(株) アドバンス) を更に直径 1.2cm の円形に切断して加工したものをを用いた。ECG ロガーのコネクタに接続されているリードワイヤーをハンダでディスプレイザブル電極に接続し、防水と固定のため、エポキシ樹脂で接続箇所をコートした。

ウミウ (*Phalacrocorax capillatus*) の死体解剖より、心臓付近の筋肉の配置は、胸骨を覆っている巨大な胸筋が卓越しているが、胸骨の中央上部と中央下部では、比較的に少ないことがわかっている (黒木 未発表)。また、カワウの心臓は、胸骨中央部体軸の中心付近に位置しており (Fig. 2-2)、多くの野生鳥類の心起電ベクトルは約-90 度、すなわち鉛直下向き方向であることがわかっている (町田 2000)。よって、本研究では、心拍間隔を QRS 群の頂点間隔として計数するため、筋電の影響を受けにくく QRS 波を顕著に検出する誘導位置である胸骨の中央上部と中央下部に電極を装着した (Fig. 2-2)。リファレンス電極は、ロガー本体の装着位置と近い場所に配置すればケーブル処理をす

る距離も少なく、動物に剥奪される可能性が少ないと考え、背部のロガー装着位置下部に装着した (Fig. 2-2)。

電極装着場所の皮膚が直径 2cm の円形状に露出するように、大きな羽軸はハサミで根元付近で切除し、細かい羽毛については抜き取った。アルコール綿で電極装着場所の皮膚を消毒し、ディスプレイ電極をコロジオン接着剤 (A.EEG、NEC メディカルシステム (株)) で固定した。胸骨上部に装着した電極のリードワイヤーは、肩の上部からロガーを装着する背部まで通し、羽毛と羽毛の間に挟んでコロジオン接着剤を用いて数カ所固定した。胸骨下部に装着した電極のリードワイヤーは、脇腹から背部まで通し、同様に羽毛に固定した (Fig. 2-2)。

背部の羽毛に小型のプラスチック製の格子網を置いて、メッシュの穴から、羽毛を引き出して、メッシュに羽毛を絡ませた。そして、瞬間接着剤を用いて格子網を羽毛に固定した。格子網上にマスティックテープを乗せて、その上にデータロガーを固定し、さらにインシロックタイで格子網とデータロガーを固定した。

データ取得後は、コロジオン接着剤をアセトン溶液で溶解し、電極とリードワイヤーを取り除いた。その後、羽毛を抜いた皮膚の感染症を防ぐため、皮膚をイソジン液で消毒した。インシロックタイを切断して、データロガーとマスティックテープを取り除き、背中中の格子網は、次の実験に再使用するためそのまま放置した。

2.2.4. 心電波形計測

カワウは、事前の予備実験よりヒトに保定された際やヒトが視界に入った際に心拍が早まることがわかっていたため、電極装着後カワウの視界に人為的影響がない状態で 1 時間安静にした後、安静時の心電図を ECG ロガーを用いて約 5 分間記録した。また、カワウの高周波領域の周波数成分が呼吸頻度と一致しているかどうかを検証するため、ヒトがカワウを保定した状態で 5 分間の心電図記録を行うと同時に、鳥の腹部に手を当

てて、30 秒間の呼吸回数を計数した。

データロガーによる心電波形のデジタル記録による影響を検証するため、アナログ心電計（動物用心電図自動解析装置 α 6000AX-D, フクダエム・イー工業（株））を用いて、データロガーと同じ電極配置で、約 5 分間の安静時の心電図を記録した。

安静時のアナログ心電計と ECG ロガーを用いた心電波形記録実験においても、また、呼吸と心電波形を同時に記録した実験においても、環境温度は 25℃ に保たれ、摂餌が自律神経活動へ与える影響を排除するため、カワウは計測前約 24 時間、水だけを与え、給餌は行わなかった。

2.2.5. 心拍変動解析

鳥類の心電波形における QRS 群は、rS 型または QS 型を示すのが一般的であるが (Kisch 1957, Szabuniewicz and McCrady 1967, Amend and Eroschenko 1976, Sawazaki et al. 1976, Boulianne, et al. 1992, Nap, et al. 1992)、カワウの心電波形は典型的な QS 型を示した (Fig. 2-3)。そこで、Q 波と Q 波の頂点を検出し、その間隔を心拍間隔とした。その後、Igor 日本語版 ver 3.1.6 ((株) ヒューリンクス) 上で作成したマクロを用いて、心電波形から Q 波が起こった時刻を検出し、心拍間隔の時系列テキストデータに変換を行った。

心拍間隔のテキストデータを ECG プロセッサ ((株) ソフトロン) に読み込み、心拍変動の周波数解析を行った。具体的な解析手法は、Kuwahara et al. (1994) に従って行った。心拍間隔を表すテキストデータは、変換アプリケーション ((株) ソフトロン) を用いて、ECG プロセッサというアプリケーションに 1ms サンプルングで等間隔データに補間された波形として取り込まれた。この波形を 1 セット 512 点として、5 ~ 10Hz 間隔で再サンプルングを行った。この 1 セットの長さは解析を行う上で最適なものと考えられている (Pagani et al. 1986)。各々のデータセットは、ハミングウィンド

処理（江原 1991）されパワースペクトルを得るために高速フーリエ変換（FFT）された。FFT 解析法を用いて得られるパワースペクトル図には、イヌ、ヒトなどの哺乳類では、低周波数領域（Low Frequency ; LF）と高周波数領域（High Frequency ; HF）に 2 つの主要な周波数成分の存在が知られている（Fig. 2-4）。これまでの哺乳類の研究から、LF 成分は、交感神経と副交感神経の両方の神経活動によって行われる血圧調節のリズムと一致していることがわかっている（Pagani et al. 1986）。動物の体内では、自律神経あるいは、ホルモンなどの作用によってもたらされる体内の血圧変化を、常に動脈にある圧受容体がモニターしている。圧受容体が圧変化を感知すると、その刺激が脳にある血管運動中枢に伝わり、血圧の高さに応じて、交感または副交感神経が刺激され、心臓の洞結節の興奮リズムに影響を与える。このような血圧を一定に保つフィードバック機構が、LF 成分に表れていると考えられる。一方、HF 成分は、呼吸頻度の周波数成分と一致する（Pagani et al. 1986）。呼吸中枢から循環中枢へ働く直接的な影響と肺や右心房の受容体からの循環中枢への刺激が副交感神経を通じて、心拍数を調節しており、このリズムが HF 成分として表れていると考えられている（Pagani et al. 1986）。したがって、呼吸に依存した刺激を心臓に伝える神経経路は、副交感神経だけが関与し、交感神経は関与しないと考えられている。このことにより、一般に HF 成分は、副交感神経活動の定量的指標として用いられている。一方、LF 成分には、両方の自律神経活動が含まれているため、交感神経と副交感神経の活動のバランスを表す指標として、LF/HF 比が一般的に用いられている。全データセットについて 1 分間当たりの心拍数（beat per minute; bpm）、心拍間隔の変動係数（=心拍間隔の標準偏差/平均心拍間隔×100%）、ピーク周波数（Hz）、LF (ms^2/Hz)、HF (ms^2/Hz)、総パワースペクトル (ms^2/Hz)、LF/HF 比を算出した。

また、本博士論文のカワウを使用した実験はすべて文部省の「大学等における動物実験について（通知）文学情第 141 号」の基準に基づいて計画された。

2.3. 結果

2.3.1. ECG ロガーによるカワウの心電図記録

同じ電極の配置で計測したマイクロデータロガーとアナログ心電計の心電図を Fig.2-3 に示す。サンプリングインターバルが十分短いため、曲線の波形がデジタルのデータでも十分再現できていた。また、今回用いた電極装着位置は、QRS 群が大きく波形に表れるベクトル方向を選んだため、QRS 群の波形は良好に検出できた。

心拍数が低い時には P 波、ST 分節が見られるが、心拍数が高い時には、P 波は検出できず、ST 分節も非常に短くなった (Fig. 2-5)。しかし、運動中も電極が動くために生じるノイズや筋電の影響は少なく、QRS 群に関しては明瞭に検出することが可能だった。

2.3.2. 心拍間隔変動の周波数解析結果

心電図波形から Q 波のピークを検出し、テキスト化した心拍変動の時系列データを Fig.2-6 に示す。この心拍変動データを FFT 解析した結果、安静時もヒトが保定した状態でも 2 つのピークを持ったパワースペクトル図が得られた (Fig. 2-7)。安静時には、0.078-0.117Hz 付近に、ヒトが保定して呼吸を計測中には、0.2-0.6Hz に 2 つ目の明瞭なピークが見られた (Fig. 2-7)。このピークは、保定時では、呼吸頻度の周波数と一致していた。

安静時の心拍間隔変動の FFT 解析結果から、HF のピークは最低で 0.078Hz 付近まで低下することが確認された。従って、カワウの LF の帯域を 0.02-0.07Hz、HF の帯域を 0.07-1.5Hz と設定した。呼吸頻度を同時に計数した際の結果は、ヒトに保定された影響を含んでいるため、安静時における心拍数、変動係数、総パワースペクトル値、LF、HF、LF/HF 比を Table 2-1 に示した。各パラメーターには、統計的に有意な個体差が見られた (Table 2-1)。

2.4. 考察

2.4.1. ECG ロガーを用いた心電波形計測法

アナログ心電計と ECG ロガーから記録された波形を比較すると、ほぼ同様の波形が得られたことから (Fig.2-3)、ECG ロガーによるデジタル心電波形は本研究における解析に使用できるものと考えられた。カワウの QS 持続時間は、通常、46~48 ms だったので、1ms サンプルングであれば QS 波中に 40 以上のサンプルングポイントが含まれるため、十分に QS 波のピークを検出し、その変動について検討を行うことが可能であった。

これまでの研究から、手術による埋め込み式電極法は針電極法よりも心電図に混入するノイズが少なく、十分に解析が可能な波形が得られるが、電極装着に外科手術の施設が必要であり、しかも動物に手術の影響が残るといった問題があった (Kuroki et al. 1999)。今回用いたディスプレイ電極は電極が十分に固定され、針電極の計測で観察された電極自体の動きによって生じるノイズは見られなかった (Fig. 2-5)。更に、針電極の場合、固定が不十分であったため、動物が電極を引き抜いてしまうことがあった。今回のディスプレイ電極は、電極の周りの接着面積を広くとって固定することができ、さらに、ワイヤーケーブルを羽毛に固定したため、カワウが電極を抜き取ることは稀だった。

鳥類の胸骨上部の電極装着位置の内側には前気嚢があり、皮膚から前気嚢までの間には、筋肉はほとんど存在しない (Proctor and Lynch 1993)。また、胸骨下部の電極装着位置の内側は腹腔を覆っている腹筋が存在する (Proctor and Lynch 1993)。しかし、ウ類は腹筋を使った運動をあまり行わないため、動物が動いても大きな筋電位のノイズが見られることはなく QRS 波は計測可能な場合が多かった (Fig. 2-5)。同じ電極装着方法を用いて計測したウミウの心電図は、海で遊泳させた場合でも、ほとんど筋電のノイズは

見られず、良好に QRS 波を計数出来た (黒木 未発表)。

今回のディスプレイ電極による心電波形の計測は、埋め込み式の電極装着のように手術を必要としないため、電極装着後 30 分以内に、カワウの心拍数は安静時と変わらない状態に回復した。計測後の電極の除去方法についても、コロジオン接着剤はアセトンで溶解するため、電極の取り外しが容易になり、計測後動物の体に残留する接着剤の量が減少した。また、ディスプレイ電極を用いた心電波形計測は、装着に特別な装備を必要としないため、生理学的な情報を得る簡便な方法として有効に利用できると考えられる。更に、外科手術を必要としないため麻酔による死亡事故の危険がなく、水族館などで飼育されている動物や稀少動物などにおいても心電図記録を安全に行うことができ、対象動物の適応範囲が広がることが期待される。

2.4.2. 心拍変動解析

カワウの安静時における心拍間隔データを FFT 解析した結果、2つのピークを持つパワースペクトル図が得られた (Fig. 2-7a)。心電図と同時に呼吸数を計数したデータセットから、高周波数領域 (0.078~0.6Hz) に見られるピークは、呼吸数の周波数と一致していた。よって、このピークは、呼吸に依存した副交感神経活動を反映しているものと考えられた。鳥類は哺乳類と圧受容器の数、配置が異なるが、圧受容器の性質、血圧調節のフィードバック制御については、同様のシステムを持っていると考えられている (Smith 1994)。また、これまでの研究から哺乳類では、LF 成分が、血圧変動の周波数成分と一致していることがわかっているため (Pagani et al. 1986, Kuwahara et al. 1996, Kuwahara et al. 1999)、カワウでも低周波数領域に存在するピーク (0.02~0.07Hz) は、血圧変化が圧受容体反射を介して血管運動中枢に伝わり、その血圧値に応じてフィードバックされた刺激が、自律神経系を通じて心臓の洞結節の興奮リズムに反映されたものと考えられた。

カワウにおいても交感神経と副交感神経の両方の自律神経活動を反映する LF と副交感神経活動を反映する HF の帯域を設定することが出来たため、HF の面積を副交感神経活動の指標として、LF/HF 比を自律神経活動のバランスを表す指標として、応用すること可能であると考えられた。

また、カワウの安静時の心拍数と心拍変動解析によって得られた各パラメーターには、統計的に有意な個体差が認められた (Table 2-1)。したがって、心拍数、総パワースペクトル、LF、HF の検定には以後、Two-Way ANOVA を用いて、比較を行うカテゴリーと個体を要因に加えて検定を行うこととした。また、変動係数、LF/HF 比などの比率変数については、各個体ごとのデータについて比較を行うカテゴリーを要因として Kruskal-Wallis 検定を行うこととした。

2.4.3. カワウの低い呼吸頻度

HF 成分は呼吸に依存した副交感神経活動を反映していると考えられるため、カワウの HF 成分が低い周波数領域に位置するのは、カワウの呼吸頻度が低いことを意味している。哺乳類で設定された帯域と比較すると、カワウにおける HF の帯域の下限 (0.07Hz) は非常に低い周波数領域にあり (Table 2-2)、カワウと同じ HF と LF の境界を持つ哺乳類の動物として、ウマ (448kg) とミニブタ (22.2~30.2kg) があげられる。一般に、哺乳類も鳥類も、呼吸頻度 (f_{rsp}) は、体重 (M_b) とアロメトリーの関係にあることがわかっており、鳥類の呼吸頻度 ($f_{rsp} = 17.2 M_b^{-0.31}$) は同じサイズの哺乳類の呼吸頻度 ($f_{rsp} = 53.5 M_b^{-0.26}$) に比べて低い (Lasiewski and Calder 1971)。酸素消費速度 (V_{O_2}) と体重もアロメトリーの関係にあり、同じサイズの鳥類 ($V_{O_2} = 11.3 M_b^{0.72}$) と哺乳類 ($V_{O_2} = 11.6 M_b^{0.76}$) の酸素消費速度はほぼ同じなので、鳥類の 1 回あたりの換気量 ($V_t = 13.2 M_b^{1.08}$) は、哺乳類 ($V_t = 7.69 M_b^{1.04}$) よりも高いことがわかっている (Lasiewski and Calder 1971)。このように鳥類と哺乳類で呼吸頻度と体重の関係が異なるのは、両動物間で呼吸器の

特性が異なっているためと考えられる (Schmidt-Nielsen 1984)。

スズメ目以外の安静時における呼吸頻度と体重のアロメトリー式 (Lasiewski and Calder 1971) と今回のカワウの呼吸頻度のデータを比較すると、カワウの呼吸頻度の計測値 (0.078Hz) は、体重から推定される値よりも低かった。この回帰式とこれまでの文献値にある鳥類の呼吸頻度を比較してみたところ、回帰式から推定される呼吸頻度より実際の呼吸頻度の方が高かった鳥は、ムクドリ (*Sturnus Vulgaris*)、カラス (*Corvus cryptoleucus*, Butler 1991)、ヒメウズラ (*Excalfactoria chinensis*, Lasiewski and Calder 1971) であり、一方、実際の呼吸頻度の方が推定値より低かった鳥は、キンクロハジロ (*Aythya fuligula*, Woakes and Butler 1986, Keijer and Butler 1982)、カワウ (本研究)、アデリーペンギン (*Pygoscelis adeliae*, Chappell and Souza 1988) などの潜水性鳥類であった。マガモ (*Anas platyrhynchos*) とキンクロハジロの酸素保有能力を比較した結果によると、潜水性鳥類であるキンクロハジロの方が潜水をしないマガモより体重当たりの血液量や呼吸器官体積が大きいため、合計すると多くの酸素を保有することができるという報告がある (Keijer and Butler 1982)。また、アデリーペンギンの呼吸器官体積 (約 700ml, Kooyman et al. 1973) は、Lasiewski and Calder (1971) の体重に対する呼吸器官体積のアロメトリー式から推定される呼吸器体積 (約 600ml) よりも大きかった。潜水性鳥類は、呼吸器官の体積が大きく、安静時には呼吸頻度が低くても、1回換気量が多いことで十分な酸素補給を可能にしていると考えられる。キンクロハジロの1回換気量 (21.4ml, Woakes and Butler 1986) は、Lasiewski and Calder (1971) の1回換気量の体重に対するアロメトリー式から推定される値 (7ml) を大きく上回っていた。また、アデリーペンギンでも、最小1回換気量は 96.3ml で、推定値 (63.2ml) を大きく上回っていた (Chappell and Souza 1988)。このように潜水性鳥類は、明らかに安静時の1回換気量が多い傾向にある。

カワウの安静時における呼吸頻度が低いのは、潜水性鳥類としての適応的な生理的特徴の1つと考えられる。カワウの呼吸器官体積や1回換気量を測定した例はないが、

一般的な潜水性鳥類は潜水中における酸素保有量を増やすため、相対的に大きな呼吸器官体積を有している。さらに、大きな呼吸器官体積は、潜水と潜水の間の短い表層滞在時間に素早く酸素負債から回復するための代謝を上昇させる際も役立っている可能性が考えられる。そして、大きな呼吸器官体積に伴い1回換気量も他の鳥に比べて大きい傾向が見られることから、特に安静時には、低い呼吸頻度でも十分に酸素を摂取することが可能であると考えられる。

以上より、カワウを対象に ECG ロガーを用いて外科手術を必要としない電極装着方法と心電波形記録方法が確立された。そして、カワウの心拍変動のデータを周波数解析したところ、パワースペクトル図に明瞭な2つのピークが見られ、自律神経機能評価の指標をカワウにも応用可能であることが示唆された。

3. 心拍変動解析によるカワウの自律神経機能の評価

3.1. 緒言

第2章の結果から、カワウの心拍変動にも、哺乳類と同様に、LF成分とHF成分に相当するピークが検出され、心拍変動解析を用いた自律神経活動の推定が応用できることが示された。LF成分とHF成分の生じる周波数帯域は動物種によって異なるため

(Pagani et al. 1986, Kuwahara et al. 1994, Ishii et al. 1996, Kuwahara et al. 1996, Moguilevski et al. 1996, Kuwahara et al. 1999)、パワースペクトルに表れたピークが、本当に交感・副交感神経活動を反映しているのかを動物種ごとに調べる必要がある。一般的には、薬物を用いて人為的に各々の自律神経を遮断した際のパワースペクトルの変化から、それぞれのピークが、交感・副交感神経活動に依存して生じることを検証する方法が用いられている (Kuwahara et al. 1994, Ishii et al. 1996, Kuwahara et al. 1996, Moguilevski et al. 1996, Kuwahara et al. 1999, Yu and Lumbers 2000)。そこで、カワウの心拍変動解析結果に見られたLF、HF成分についても自律神経遮断薬を用いて自律神経活動の指標としての信頼性を検証する必要がある。

また、自律神経の薬物遮断によって、安静時の自律神経機能の特性についての情報を得ることが出来る (Jose 1966, Jose and Stitt 1967, Jose and Collison 1970, Sturkie and Chillseyzn 1972)。哺乳類における比較生理学的研究から、自律神経機能の特性は動物種によって異なることが明らかになっている。例えば、ヤギ、ウシ、ウマなどでは、副交感神経活動が優位であり、ブタ、ラットでは、交感神経の活動が優位であった (Matsui and Sugano 1987, Kuwahara et al. 1994)。このような自律神経機能特性は、鳥類では研究例が乏しく、ニワトリとキンクロハジロで、固有心拍数や心拍間隔変動の分散等についてわずかに報告されているにすぎない (Matsui and Sugano 1987, Korte et al. 1999)。しかし、

哺乳類も鳥類も心拍調節は自律神経系によって行われているため (Jones and Johansen 1972, Ganong 1997)、カワウにも自律神経の薬物遮断実験を応用することで、哺乳類と同様に自律神経機能の特性を調べることが可能であると推定される。

本章では、自律神経の薬物遮断によって、カワウの自律神経機能の特徴を調べるとともに、心拍変動解析によって求められた自律神経活動の指標に関する信頼性を検証することを目的とした。

3.2. 方法

3.2.1. 被験動物と心電波形計測

第2章と同じカワウ4羽を用いた。電極は、着脱が容易な針電極を第2章で示した電極装着場所と同じ胸骨中央上部と胸骨中央下部に固定し、リファレンス電極をカワウの胸部に取り付けた。

心電図は、自律神経遮断薬の投与前約3分間、投与後約15分間、カワウを保定した状態で記録した。

実験中、環境温度は25℃に保たれ、摂餌が自律神経活動へ与える影響を排除するため、カワウは計測前約24時間、水だけを与え給餌は行わなかった。

3.2.2. 自律神経薬物遮断

自律神経活動を遮断する目的で、副交感神経の神経伝達物質であるアセチルコリンのムスカリン受容体を遮断する硫酸アトロピン (田辺製薬、0.3 mg/kg)、交感神経の神経伝達物質であるノルアドレナリンの β 受容体を遮断する塩酸プロプラノロール (アストラゼネカ (株)、0.4 ml/kg)、またはその両方を翼下静脈に投与した。アトロピンおよびプロプラノロールの投与量は、Matsui and Sugano (1987) のニワトリへの投与量と予

備実験の結果を参考にして、累積投与によって心拍数が変化しなくなる量を持って決定した。投与は、アトロピン、プロプラノロール、アトロピン・プロプラノロール同時投与の順に、24 時間以上の間隔をおいて行った。

3.2.3. 心拍変動解析

データロガーによって記録された心電波形データは、第 2 章と同様の方法を用いて、1 分間当たりの心拍数 (bpm)、心拍間隔の変動係数 (=心拍間隔の標準偏差 / 平均心拍間隔 × 100%) を求めた。また、自律神経機能指標を求めるため、心拍間隔変動の FFT 法による周波数解析を行った。第 2 章より求めた帯域を用いて、LF (ms²/Hz)、HF (ms²/Hz)、総パワースペクトル (ms²/Hz) と LF/HF 比を求めた。

Jose (1966) は、アトロピンとプロプラノロールの同時投与による完全な自律神経遮断状態での心拍数を固有心拍数 (intrinsic heart rate, IHR) と名付けた。動物の心拍数は、交感神経の刺激によって上昇し、副交感神経の刺激によって減少するので、固有心拍数に交感神経の刺激だけが与えられたとき最高になり、副交感神経だけの刺激だけが与えられたとき最低になると考えられる。固有心拍数と最大・最小心拍数の差から、各動物における交感神経、副交感神経の最大の緊張度を表す指標として交感神経緊張度と副交感神経緊張度が用いられ、以下のような式で求めることが出来る (Walsh 1969, Yayou et al. 1993)。また、動物の心拍数は、常に自律神経活動の影響を受けているが、交感・副交感神経活動の全体的なバランスを示す指標として、正味の自律神経緊張度に関しても以下のような式で求められている (Walsh 1969, Yayou et al. 1993)。

$$\text{交感神経緊張度 (S-tone)} = 100 \times (\text{HR}_a - \text{IHR}) / \text{IHR}$$

$$\text{副交感神経緊張度 (P-tone)} = 100 \times (\text{HR}_p - \text{IHR}) / \text{IHR}$$

$$\text{正味の自律神経緊張度 (N-tone)} = 100 \times (\text{HR}_{\text{cont}} - \text{IHR}) / \text{IHR}$$

ただし、HR_a : アトロピン投与時の心拍数、HR_p : プロプラノロール投与時の心拍数、

IHR：両方の薬物を投与したときの心拍数、 HR_{cont} ：投薬前の心拍数として計算した。

3.3. 結果

3.3.1. 自律神経遮断薬投与による心拍数及び自律神経緊張度の変化

心拍数は投与前に比べアトロピン投与によって著しく上昇し、プロプラノロール投与によって低下した。そして、固有心拍数は、投与前の心拍数よりも高値を示した (Table 3-1)。

自律神経遮断から推定される交感神経緊張度、副交感神経緊張度、正味の自律神経緊張度を Fig.3-1 に示した。正味の自律神経緊張度が負であることから、カワウは安静時には、副交感神経活動が優位に働いていることが示唆された。

3.3.2. 心拍変動解析に及ぼす自律神経遮断薬の影響

アトロピンを投与すると著しく心拍変動のばらつきが減少し、総パワースペクトル、LF、HF はすべて減少した。しかし、HF に比べ LF の減少が少なかったため、LF/HF 比は上昇した (Table 3-1)。

プロプラノロールを投与すると、投与前に比べ心拍数は有意に減少し、LF、LF/HF 比が減少し、HF が増加した (Table 3-1)。

アトロピン投与時と両薬投与時では、心拍数以外のパラメーターに有意な差は見られなかった (Table 3-1)。

3.4. 考察

3.4.1. カワウの自律神経機能指標の信頼性と特徴

アトロピンの投与によって副交感神経活動を遮断すると LF、HF がともに著しく減少したため、LF、HF は副交感神経活動を反映していることが示唆された。一方、プロプラノロールの投与によって交感神経活動を遮断した際、LF が減少したことから LF は交感神経活動を反映していると考えられた。また、LF/HF 比は副交感神経活動を遮断した際に高く、交感神経活動を遮断した際に低かったことから、LF/HF 比は確かに交感神経活動のバランスを表していることが示唆された。また、心拍数の変動係数は交感神経活動を遮断すると増加し、副交感神経活動を遮断すると減少したため、変動係数も副交感神経活動の良い指標になると考えられた (Table 3-1)。

カワウの固有心拍数は投与前に比べ高い値を示しており、正味の自律神経緊張度は、副交感神経活動が優位であることを示している (Table 3-1, Fig. 3-1)。よって、カワウは交感神経活動より副交感神経活動が優位な動物であると考えられる。副交感神経遮断薬であるアトロピンの投与が心拍数、LF、HF、総パワースペクトル、変動係数に与える影響の方が交感神経の遮断薬であるプロプラノロールの投与による影響より大きいことからカワウは遮断薬投与前、副交感神経活動の影響が交感神経活動の影響より大きいと推測される。

交感神経活動が遮断された際、LF は減少し、HF は変化しないと予想される。ところが、カワウにプロプラノロールを投与すると LF は減少したが、HF は増加していた (Table 3-1)。これは、投与前、交感神経活動と副交感神経活動が拮抗して心拍数をコントロールしている状況に、プロプラノロールを投与したことで交感神経活動が遮断されたため、交感神経活動による抑制がなくなることで副交感神経活動がより強く働き、HF のパワーが増加した可能性がある。副交感神経活動が優位なサラブレッド馬におい

でもプロプラノロールを投与した際に HF が増加する現象が確認されている (Kuwahara et al. 1996)。

投与前の心拍数は、第 2 章の安静時のデータと比べると、心拍数が高く、総パワースペクトル、LF、HF が低かった。また、投与前においては副交感神経緊張度も交感神経緊張度も同様に高いという結果が得られている (Fig. 3-1)。これは、投薬する際カワウをヒトが保定したことで、カワウの交感神経活動が活性化していたためと考えられる。したがって、カワウの安静時は、投与前の状態よりさらに交感神経活動が低く、副交感神経活動が高いと予想される。ここで第 2 章で計測した安静時心拍数とカワウの固有心拍数から、安静時における正味の自律神経緊張度を求めると 65.9% となり、カワウは安静時における副交感神経活動が著しく優位な動物であると考えられた。

3.4.2. カワウの循環機能特性

カワウが、普段から副交感神経を優位にして心拍数を下げることができるのは、鳥類の特徴である体重に比して大きな心重量に依存していると考えられる。心重量と拍出量には正の相関関係があることから (Grubb 1983)、鳥類は哺乳類に比べて低い心拍数でも十分な循環血液量を保てると考えられる。本実験に用いたカワウは、実験終了後、解剖され、心重量を計測した。その結果、カワウの体重に占める心重量の割合は、約 $1.4 \pm 0.1\%$ であった (羽山 未発表)。Calder (1968) や Lasiewski and Calder (1971) によって導かれたスズメ目以外の鳥類の心重量 (M_h) と体重 (M_b) の関係式 ($M_h = 0.0082 M_b^{0.91}$)、心拍数 (f_h) と体重の関係式 ($f_h = 155.8 M_b^{-0.23}$) を用いて、カワウと同じ体重の鳥における心重量と心拍数を推定すると、心重量は、体重の約 0.77-0.79%、心拍数は、133-144bpm となった。すなわちカワウは、哺乳類に比べて体重に対する心重量比が高いと言われている鳥類の中でも、さらに体重に対する心重量比が高いことが示唆された。また、第 2 章の安静時の平均心拍数 (85.5bpm、Table 2-1) は、体重より推定された心拍数より低

かった。つまり、カワウは鳥類の中でも、安静時の心拍数が低いと考えられる。よってカワウは安静時、副交感神経の活動を優位にして心拍数を低く保っていても心臓が相対的に大きいことで一拍心拍出量が多く、十分な血液を循環させることができるのではないかと推測された。

4. カワウの環境温度に対する体温調節機構の役割

4.1. 緒言

ウ類は、極域から熱帯まで世界的に広く分布し、アオメウのように極域という低温環境に適応した種やカワウのように多くの亜種が北極域から温帯、熱帯域にかけて広く分布する種など、さまざまなタイプが存在する。日本のカワウと北極域に生息するカワウの亜種は同種でありながら生息環境は大きく異なる。一方、日本のカワウとアオメウとは遺伝的にも生育環境も大きく異なっている。よってウ類の体温調節機構を種間及び亜種間で比較することで、体温調節機構における遺伝的効果、環境順応性について、深い理解を得ることが出来ると考えられる。

ある温度域において恒温動物は熱産生を変化させずに血管の収縮・拡張や立羽などによる放熱率を変化させるだけで体温調節を行うことが出来る。このような温度域は熱的中性圏 (Thermoneutral zone)、熱産生を増加させないと体温を保てなくなる限界の温度は下限臨界温度 (Lower critical temperature; LCT) と定義されている (Scholander et al. 1950)。カワウの熱的中性圏を知ることは、環境温度以外の様々な要因が循環機能や自律神経活動に与える影響を調べる上で重要である。また、体温調節に関わる放熱や熱産生は、自律神経系を通じてコントロールされている (Ganong 1997)。よって、第2章で確立された心拍変動解析を応用すれば、カワウの異なる環境温度下における自律神経活動を推定することが可能である。さらに、放熱、熱産生、自律神経機能の指標を同時にモニターすることで、カワウの環境温度に対する体温調節機構を総合的に理解することができると考えられる。

本章は、心拍変動解析を用いて異なる環境温度下におけるカワウの体温調節機構を解明し、種間、種内において比較検討することにより、カワウの体温調節機構の特徴に

ついて自律神経活動の視点から明らかにすることを目的とした。

4.2. 方法

4.2.1. 被験動物と電極・ロガーの装着

第2章と同じカワウ4羽を実験に用いた。第2章と同じ方法で、実験の前日にディスプレイ電極を装着し、実験当日、ECG データロガーを背部に装着した。摂餌が酸素消費速度、自律神経活動へ与える影響を排除するため、カワウは計測前約24時間水だけを与え、給餌は行わなかった。

4.2.2. 温度環境の設定と心電波形、酸素消費速度計測

実験は、室温が0-40℃まで設定可能な恒温恒湿室（日本医化器械製作所、山梨県立環境科学研究所）内で行った。温度環境は、カワウが日本で経験する環境温度域に相当する5、15、25、35℃の4つに設定した。30cm×40cm×58cmの透明なアクリルチャンバーを設置し、チャンバーの底部は、動物の糞尿でカワウが汚れることを防ぐため、木製の篋の子を置いた。ECG ロガーを装着したカワウ1羽をチャンバー内に入れ、恒温室内でそれぞれの温度に最低1時間順化させて、それから約1時間にわたって安静時の心電図と酸素消費速度を同時に計測した。

コンプレッサーを用いて恒温室内の空気を12L/minの速度でチャンバー内に送り込み、チャンバーから出る空気の一部をシリカゲルに通して脱水した後、酸素濃度分析計（PS-205、飯島電子（株））で酸素濃度を測定し、さらに二酸化炭素濃度分析計（赤外線CO₂コントローラZFP9、富士電子（株））で二酸化炭素濃度を測定した。チャンバー内の二酸化炭素濃度は、常に1%以下に保たれた。酸素濃度分析計は、計測前に純窒素を1時間流して0校正を行い、その後、純空気（酸素濃度20.95%）を1時間流してセ

ンサーの補正を行った。計測に際しては、5分おきに恒温室内温度、湿度、チャンバーから出る空気の酸素濃度、チャンバーに入る空気の流量を記録し、計測室内の空気の酸素濃度を30分ごとに5分間計測した。恒温室内の動物の様子は、ビデオカメラで撮影し、恒温室外から実験中常時モニターした。実験開始と終了時に大気圧と動物の体重を計測した。

酸素消費速度 (V_{O_2} , ml O_2 /min·kg) は、Schmid et al. (1995) と同様の方法を用いて計算した。

$$V_{O_2} = V_{in} (A_o - A_i) / 1 - (1 - RQ) \cdot A_o$$

上の式で、 V_{in} は流量 (ml/min) を、 A_i はチャンバーに入る空気の酸素濃度 (%), A_o はチャンバーから出てくる空気の酸素濃度 (%), RQ は呼吸商を表す。Bezzel and Prinzinger (1990) にしたがって、ウ類の呼吸商は 0.8 として計算した。酸素消費速度はすべて、単位体重当たり、標準状態 (0°C, 1atm) に換算した。

4.2.3. 体温計測と熱コンダクタンス

小型の温度ロガー (重量 20g, UME-2T, (有) リトルレオナルド, Ropert-Coudert et al. 2000) をカワウに飲ませて、酸素消費速度計測時に胃内温度 (体温とする) を計測した。温度ロガーの計測間隔は 1s で、温度を 0.1°C の精度で計測可能である。

一般に、熱産生の指標としては酸素消費速度が、また、放熱率の指標としては熱コンダクタンス (Thermal conductance; TC) が用いられている。熱コンダクタンスは、以下の式で表される (I. U. P.S. Commission for Thermal Physiology 1987)。

$$TC = H / (T_b - T_a)$$

H は熱産生率、 T_b は動物の体深部温度、 T_a は環境温度をそれぞれ表す。熱コンダクタンスは、個体と外環境との間の熱伝達を簡便に表す係数で、断熱効果の逆数に相当する。したがって値が小さいほど断熱効果が高く、放熱率が低いことを意味している。

カワウの体温 (T_b) は環境温度 (T_a) に関わらず一定であったので、各個体の平均値を用いた。熱産生率 (H) には、酸素消費速度 ($\text{ml O}_2/\text{min}\cdot\text{kg}$) を用いた (Gabrielsen et al. 1988)。他の文献値と比較するため、熱コンダクタンスは、換算式 ($1 \text{ ml O}_2=20.9\text{J}$, $1 \text{ W}=1\text{J/s}$; Schmidt-Nielsen 1995) を用いて単位 ($\text{W}/\text{kg}\cdot^\circ\text{C}$) を統一した。

4.2.4. 心拍変動解析

各環境温度下で、カワウが安静にしていた約 15-30 分間の連続心電波形を解析に用いた。得られた心電図は、第 2 章と同じ方法で、心拍数 (bpm)、変動係数 (%)、心拍変動解析より得られるパラメーター (総パワースペクトル、LF、HF、LF/HF 比) を算出した。ただし、帯域については、HF のピーク周波数が 0.068Hz まで下がる現象が確認されたため、本章では、 0.05Hz を LF と HF の境界として帯域を設定した。

4.3. 結果

カワウの酸素消費速度は、 $15\sim 35^\circ\text{C}$ に比べ 5°C で有意に高かった (Table 4-1)。熱コンダクタンスは、 $5\sim 25^\circ\text{C}$ に比べ、 35°C で有意に高い値を示した (Table 4-1)。呼吸に依存して生じる HF のピーク周波数から求めた呼吸頻度 (Hz) は、統計的に有意ではないが $5\sim 25^\circ\text{C}$ に比べ 35°C で高い傾向が見られた (Table 4-1)。

低温環境下では心拍数が高く、高温環境では心拍数が低かった (Table 4-2)。変動係数は、温度間で有意差はあったが、環境温度に応じた変化は見られなかった (Table 4-2)。

LF、HF、総パワースペクトルは、低温環境ほど低く、高温環境ほど高くなる傾向が見られた (Table 4-2)。また、 35°C では、 $5\sim 25^\circ\text{C}$ より、LF、HF、総パワースペクトルのばらつきが大きかった (Table 4-2)。LF/HF 比も低温環境ほど低く、高温環境ほど高くなる傾向が見られ、 35°C では、 $5\sim 25^\circ\text{C}$ に比べてばらつきが大きかった (Table 4-2)。

ビデオモニターによる観察の結果、5～25℃の温度下では、カワウの行動に大きな変化は見られなかったが、35℃になると暴れたり、行動に落ち着きが無くなる傾向が見られた。また、35℃においてのみパンティング（panting；のどの袋をふるわせてあえぐ行動）が観察された。

4.4. 考察

4.4.1. 体温調節と自律神経機能について

本実験の結果からカワウの酸素消費速度は5℃で有意に高く、15～35℃では有意差が認められなかったことから、5～15℃の間にカワウの下限臨界温度があると考えられた。

熱コンダクタンスと呼吸頻度は5～15℃ではほとんど変化がないが、35℃で増加傾向を示した（Table 4-1）。また、ビデオモニターの観察から、35℃ではパンティングをしている様子が観察されたが、5～25℃では観察されなかった。カワウは、パンティングによってのどの袋にある密集した毛細血管から効率的に放熱することができる

（Lasiewski 1972）。よって、35℃では、呼吸およびパンティングによる熱損失が増加している可能性が高い。呼吸頻度は酸素消費速度の増加に伴って増加する場合もあるが、35℃において酸素消費速度は5℃の時より低いため、35℃における呼吸速度の増加は酸素消費速度の増加に伴う増加とは考えにくい。すなわち、35℃という環境温度は、カワウにとって呼吸頻度とパンティング行動を増加させることによって熱コンダクタンスの増加を引き起こし、積極的に放熱を促進しなければならない高温環境であると考えられた。5～25℃において低い環境温度ほど熱コンダクタンスが低くなる傾向が見られたのは、血管収縮や立羽などによって断熱効果が高まったためと考えられた（Table 4-1）。

心拍数は、低い環境温度で高く、高い環境温度では低かった（Table 4-2）。また、LF、HF、総パワースペクトルは、高い環境温度ほど大きかったので高温環境ほど副交感神

経活動が増加していると推測された (Table 4-2)。一方、LF/HF 比も恒温環境ほど高かったため、交感神経活動のバランスも高いと考えられた。一般に、低温環境では交感神経活動が亢進し、断熱効果の増大と心拍数の増加が起こり、高温環境では副交感神経活動が亢進し、断熱効果の減少と心拍数の減少が起こると考えられている (Ganong 1997)。しかし、カワウは普段から副交感神経の活動が交感神経活動に比べて優位な動物であるため (第 3 章)、副交感神経活動の増加・減少が、交感神経活動の増加・減少よりも大きな影響を及ぼしている可能性が高い。つまり、低い環境温度では副交感神経活動が低下したため、相対的に交感神経活動の作用が強まったような反応 (断熱効果・心拍数の増加) が見られ、高環境温度においては副交感神経活動が増加したため、交感神経活動が弱まったような反応 (断熱効果・心拍数の減少) が見られたと考えられた。

35℃では、5~25℃の範囲と同じように副交感神経活動も自律神経活動における交感神経活動のバランスも優位になる傾向が見られるが、個体間のばらつきが増大していた。これは、35℃では計測中にカワウが暴れたり、落ち着かなくなる事が多く、1時間の計測時間中、動物が安静にしていた時間が他の温度環境下より短時間になってしまったため、ばらつきが増大した可能性がある。

以上のことから、環境温度以外のさまざまな要因が循環機能に与える影響を調べる実験を行う場合、環境温度の効果が取り除ける温度域として 15~25℃に設定するのが良いと考えられた。

4.4.2. ウ類の体温調節の特徴

カワウの北極域からヨーロッパ北部に広く分布する亜種 (*P. carbo sinensis*) と亜南極に生息するアオメウ、さらに比較のため極域に生息するアデリーペンギンの基礎代謝速度、異なる環境温度における酸素消費速度、そして熱コンダクタンスを Table 4-1 に示した。単位体重当たりの酸素消費速度は体重の 0.75 乗に比例し、単位体重当たりの

熱コンダクタンスは体重の-0.5 乗に比例するため、単位体重当たりの酸素消費速度も熱コンダクタンスも体重が大きな動物ほど低いという関係がある (Schmidt-Nielsen 1984)。

北極域に生息するカワウの亜種は、日本のカワウより若干体サイズが大きかったが、12.4℃ (環境温度) における北極のカワウの熱コンダクタンスと日本のカワウの 15℃ における熱コンダクタンスは、ほぼ同じ値であることから、カワウは北極に生息するものでも日本に生息するものでも断熱効果は等しいと考えられる。ヨーロッパ北部のカワウの基礎代謝速度と体重の回帰式 (Schmid et al. 1995) を用いて、日本のカワウの体重の鳥の基礎代謝速度を推定したところ、基礎代謝速度は日本のカワウの熱的中性圏の酸素消費速度とほぼ同じ値であった (Table 4-1)。よって、北極域で生息するカワウと日本で生息するカワウは、熱的中性圏における基礎代謝速度、同じ環境温度における熱コンダクタンスともに類似した性質を持っていると考えられる。

一方、亜南極域に生息するアオメウはカワウより若干サイズが大きいため、単位体重当たりの酸素消費速度は低いと予想されるが、カワウに比べ熱的中性圏 (20℃) の環境温度における酸素消費速度は 2 倍も大きかった。ヨーロッパ北部のカワウの体重と基礎代謝速度の回帰式から推定されるアオメウの体重の鳥の基礎代謝速度は、実測されたアオメウの基礎代謝速度の約半分の値であった。アオメウの下限臨界温度は 0℃

(Chappell et al. 1988) と、日本のカワウより 5℃ 以上低く、より低温に適応していると考えられる。一方、アオメウの熱コンダクタンスは、同じ温度の日本のカワウの熱コンダクタンスに比べて高かったため、アオメウはカワウに比べて高い断熱効果を持っているとは考えられない。以上のことから、亜南極域に生息するアオメウは、断熱効果を上げて熱損失を下げるよりも、高い熱産生によって低温環境下でも体温を保持していると考えられる。

羽毛の断熱効果がウ類より高く、体重も重いアデリーペンギンは、同じ温度でもアオメウより低い熱コンダクタンス (つまり高い断熱効果) であり、熱的中性圏における

酸素消費速度も低かった。そして、下限臨界温度も-10℃と低いことから、アデリーペンギンはアオメウよりも低温環境に適応していると考えられる。また、アデリーペンギンは、下限臨界温度以下の-20℃でも、熱コンダクタンスの大幅な減少によって断熱効果を増加させることができ、酸素消費速度を大幅には増加させない (Table 4-1)。つまり、アデリーペンギンはアオメウと違って熱産生を上げることなく、断熱効果を上げ、熱損失を下げることで低温環境下で体温を保持していると考えられる。

このようにアオメウとアデリーペンギンは、ともに低温環境に適応していると考えられるが、体温調節機構は異なっていた。一方、ヨーロッパ北部から北極域に生息するカワウは、亜南極域に生息するアオメウに比べ、低温環境に適応していないように見える。両種とも繁殖期はそれぞれの半球の夏期に相当するので温度環境はそれぞれのウの下限臨界温度より高く、酸素消費速度を増加させて体温調節を行う必要がなく、一方、非繁殖期である冬期に経験する環境温度は下限臨界温度以下で酸素消費速度を増加させて体温を保持しなくてはならない可能性がある。アオメウとカワウの繁殖地の条件を考えると、両種のカワウが冬期に経験する環境温度は、両種では異なっている可能性がある。例えば、アオメウは亜南極の離島で繁殖するため、冬期も亜南極域で越冬する留鳥であるが、北極域のカワウは、冬期南方に移動するなどの行動的体温調節を行っている可能性もある。今後、野外で自由に行動する両種のウが経験する冬期の環境温度変化を調査することが重要であると考えられる。

一方、日本に生息するカワウの生息環境を考えると、冬期は5℃以下の低温になるため、下限臨界温度より低温の環境を経験すると考えられ、酸素消費速度を増加させ、熱コンダクタンスを下げ、断熱効果を上げることによって、体温調節を行っていると考えられる。一方、夏期は35℃以上の高温になることもある。その際は、熱コンダクタンスを上げ、パンティングをしたり、水に浸かるなどの行動的体温調節によって、放熱率を増加させて体温調節を行っていると考えられる。空気より比熱が高い水に浸かること

で、たとえ同じ温度でも空気中よりはるかに効果的に放熱することが可能になる (Irving 1972, De Vries and Van Eerden 1995)。このように日本に生息するカワウは、下限臨界温度を下回る低温環境から、体温にほど近い高温環境下でも、放熱と熱産生を巧みにコントロールしていることが明らかとなった。

5. カワウの人為的ストレスに対する反応

5.1. 緒言

哺乳類や鳥類の心理的ストレスは、一般に血液中のグルカゴンなどのホルモンを定量することによって評価されている (Becker et al. 1985, Herd 1989, Morton et al. 1995)。一般に、グルカゴンなどのストレスホルモンの分泌を促すストレスは、交感神経の活動を同時に活性化することから (Ganong 1997)、鳥類では心拍数を用いてストレスをモニターする試みが行われている (Culik et al. 1990, Nimon et al. 1995, Giese 1998)。しかし、第4章の結果にもあるように、副交感神経活動の減少によっても心拍数は増加する可能性があるため、心拍数だけで正確にストレスをモニターすることはできない。

自律神経機能の指標を応用すれば交感神経と副交感神経活動の心拍数に与える影響を区別することができるため、心拍数だけの計測よりも正確にストレスの影響を示す指標となり得ると考えられる。近年では、心拍変動から求められる自律神経機能の指標を用いて、交感神経活動の活性の高さをストレスの指標とする方法が、ヒトやイヌで応用されつつあるが、結果が一様でなく (Pagani et al. 1991, Sloan et al. 1996)、これまで鳥類に応用された例はない。

カワウは、第3章の実験の投薬前の状態でも、第2章で示した安静時のデータより高い心拍数を保っていた。これはカワウが投薬実験の際、ヒトに保定されていたためと考えられる。ヒトに保定されることは、ニワトリでも大きな人為的ストレスとなりうることがわかっている (Korte et al. 1999)。また、第4章の実験において、恒温室にヒトが入ると、カワウの様子に変化が見られなくても心拍数が著しく増加することが確認された。このように、カワウは保定だけでなく、視界にヒトが立ち入るだけでも心理的ストレスを感じている可能性が示唆されている。

今後カワウを取り扱う上で、人為的ストレスがカワウの心拍数、酸素消費速度にどのような影響を与えるか、また、その効果がどれだけ持続し、どのように回復していくかを調べることは重要である。そして、心拍変動解析による自律神経活動の指標を用いて、ストレスによって上昇した心拍数、酸素消費速度がどのような自律神経活動によってもたらされるのか、また、自律神経活動が経時的にどのように変化するかを評価することが出来るものと考えられる。

本章の目的は、心拍変動解析法を応用し、人為的ストレスがカワウの循環機能、酸素消費速度に与える影響を自律神経活動の視点から考察することとした。

5.2. 方法

5.2.1. 被験動物と電極・ロガーの装着

第2章と同じカワウ4羽を実験に用いた。摂餌が代謝速度、自律神経活動へ与える影響を排除するため、カワウは計測前約24時間、水だけを与え給餌は行わなかった。

第2章で述べた方法にしたがって、電極およびECGロガーをカワウに装着した。

5.2.2. 人為的ストレスの設定と酸素消費速度計測

ECGロガーを装着したカワウを30cm×40cm×58cmの透明なアクリルチャンバー内に入れ、第4章と同じ方法で酸素消費速度の計測を行った。チャンバーの設置してある実験室内の温度は、24～26℃に保たれた。チャンバーから30cm離れた四方を約2mの高さまで布で囲い、カワウが視界の中に人間の存在を確認できない状態に保った。囲いの一部に穴をあけて、デジタルビデオカメラで内部の動物の様子をモニターした。

人為的ストレスには、ヒトがカワウの視界内に立つこととヒトがカワウを直接手で保定するという2つの処置を設定した。まず、安静状態でカワウの酸素代謝速度と心電

波形を同時に約 1 時間以上計測した。次に、チャンバーの周りの囲いの中に白衣を着たヒトが 1 人入り、カワウのチャンバーの横 10 cm の場所に 10 分間立った。その後、ヒトを囲いから出し、カワウの心電波形と酸素消費速度を約 1 時間に渡って計測した。続いて、チャンバーからカワウを取り出し、2 人のヒトが前方から首と後方から脚を押さえて台の上に置くようにして保定を行った。保定中は酸素消費速度は計測せずに、心電図だけを計測し続けた。10 分間保定後、カワウを再びチャンバーに戻し、心電波形を 1 時間計測した。

5.2.3. 心拍変動解析

人為的ストレスの持続効果を調べるため、チャンバーに入れてから人為的影響が無い状態で安静にしている間を「処置前」、「ヒトが脇に立った時」、人が脇に立った後から人為的影響の無い状態で 1 時間安静にしている間を「処置後 1」、「ヒトが保定した時」、ヒトが保定し終えてから人為的影響の無い状態で 1 時間安静にしている間を「処置後 2」とし、心拍変動解析には全実験行程の心電波形を用いた。

パワースペクトル解析における帯域は、第 2 章で決定したように低周波数成分 (LF) を 0.02~0.07Hz、高周波数成分 (HF) を 0.07~1.5Hz として、心拍数 (bpm)、心拍間隔の変動係数 (%)、自律神経活動の指標となる各パラメーター (総パワースペクトル、LF、HF、LF/HF 比) を第 2 章と同じ方法にて解析した。

5.3. 結果

ヒトがカワウの脇に立つというストレスを与えた時とその前後の心拍数、酸素消費速度、自律神経活動の指標の典型的な経時的変化を Fig. 5-1 に、また、ヒトが保定するというストレスを与えた時とその前後の心拍数、自律神経活動の指標の典型的な経時的変化を Fig. 5-2 に示した。ヒトが脇に立った時も、保定した時も、LF、HF はともに減

少し、LF/HF 比は、安静時にも周期的な変動が見られたが、ストレスを与えはじめた初期にピークが現れた。心拍数は、どちらの人為的ストレスを与えた時も急激に上昇し、1~2分後に減少し始めた。また、心拍数は、ヒトが立つ場合においてはストレスを与え終わってから5分以内にストレスを与える前と同じレベルに戻ったが、ヒトが保定した場合は回復に15分程度時間がかかった。酸素消費速度は、ヒトが脇に立ったときはストレスを与えはじめから2~3分間かけてゆっくりと増加し、ストレスを与える処置が終了してから5分以内に安静時と同じレベルまで減少した。

酸素消費速度は、ヒトが脇に立った時は処置前、また、処置前は処置後1に比べ、それぞれ統計的に有意に高かった (Table 5-1)。

カワウの処置前、ヒトがカワウのそばに立った時、処置後1、ヒトに保定された時、処置後2という5つの処置群ごとのカワウの心拍数、変動係数、総パワースペクトル、LF、HF、LF/HF 比を Table 5-1 に示した。ただし、カワウのストレスの効果はストレスを与えている間に順化して経時的に減少していたので、ストレスの効果が最も強く表れているストレスを与え始めてから2分間のデータを使用した (Fig. 5-1、Fig. 5-2 の波線で示されている範囲)。また、処置後1、2は、ストレスを取り除いてから15分後以降のデータを用いた。平均心拍数は、処置前、処置後1、処置後2で低く、ヒトに保定された時は、ヒトがそばに立った時より高かった (Table 5-1)。総パワースペクトル、LF、HF は、処置前、処置後1、処置後2に高く、人為的ストレスを与えた時に著しく減少した (Table 5-1)。また、LF/HF 比は、人為的ストレスを与えると上昇した (Table 5-1)。

5.4. 考察

カワウに人為的ストレスを与え始めると心拍数、LF、HF が急激に減少し、LF/HF 比は増加傾向を示した (Fig. 5-1, Fig. 5-2, Table 5-1)。このことから、人為的ストレスが加わると安静時優位に働いている副交感神経活動が急激に減少し、交感神経活動が活性化

されると考えられた。一般に、交感神経末端から放出される神経伝達物質のノルアドレナリンは放出されてから分解されるまで時間がかかるため、その効果はゆっくりと減少する (Warner and Cox 1962)。一方、副交感神経末端から放出される神経伝達物質のアセチルコリンは生体内ではすぐに分解されてしまうので、その効果は急激に減少することが知られている (Warner and Cox 1962)。カワウに人為的ストレスが加わると、それまで優位に働いていた副交感神経からアセチルコリンの放出が停止し、急激にその効果が減少する。それと同時に、交感神経から放出されるノルアドレナリンが作用を始め、急激に心拍数が上昇し、心拍変動のパターンも急激に変化すると考えられる。一方、人為的ストレスが一定時間持続的に与えられると心拍数は徐々に低下し、副交感神経活動が徐々に高まってくる (Fig. 5-1、5-2)。交感神経活動は、ストレスを与えた瞬間に急激にピークが見られるが2分以内に活性は減少する。よって、人為的ストレスを加えている間にゆっくりと心拍数が上昇するのは、副交感神経活動が徐々に回復することに依存していると考えられる。

人為的ストレスを与える処置が終わってから回復するまでの時間は、ヒトが脇に立つという処置に比べ、ヒトが保定する処置の方が長かった (Fig. 5-1、5-2)。心拍数の上昇率もヒトが脇に立つ処置より、ヒトが保定する処置の方が高かった (Table 5-1)。よって、カワウにとって、ヒトが脇に立つよりもヒトが保定する方が影響が大きく、かつ、長時間影響を与えられと考えられる。このように、人為的ストレスはその種類によって、循環機能、自律神経活動に与える影響の大きさが異なり、ストレスの効果が持続する時間にもストレスの種類によって差があることがわかった。

人為的ストレスを与えると心拍数の上昇とともに酸素消費速度も上昇した (Table 5-1, Fig. 5-1)。一般に、心拍数と酸素消費速度には正の相関関係があることが知られている (Schmidt-Nielsen 1995)。経時的な変化を見ると、本研究で計測された心拍数に比べて酸素消費速度の上昇速度は遅く、心拍数が低下してからもしばらく高い値を維持して

いた (Fig. 5-1)。このような心拍数と酸素消費速度の変化に時間差が生じるのは、心拍数は神経支配によってコントロールされているためその変化が敏速であるのに対し、酸素消費速度の変化は体内の循環を経由する長い行程を経て生じるため、心拍数ほど急激に変化しない可能性があるからと考えられる。また、カワウの酸素消費速度を計測する際に用いられたチャンバーが大型で、カワウによる酸素消費量の増加が酸素濃度変化に与える効果がチャンバー内の空気に平均的に分散し、酸素消費速度の変化が遅くなった可能性がある。いずれにしても、人為的ストレスは心拍数と酸素消費速度の上昇を引き起こすため、動物のエネルギーコストを増加させる働きがあることが示唆された。

一般に、ストレスに対する反応として、交感神経活動の活性化と ACTH やコルチゾールなどのホルモンの分泌が知られている (Ganong 1997)。物質定量によるストレスの指標は血液を採取する必要があるため、血管にカニューレを留置して採血するか、血管より直接採血をしなければならない。直接採血は、本章の結果を見ても明らかなおろ、ヒトがカワウに近づいたり、保定することによって動物に大きなストレスを与えてしまう。一方、カニューレ法は、一度留置してしまえば動物が安静状態まで落ち着いてから保定せずに連続採血が可能のため、直接採血に比べ動物に与えるストレスが少なく済むと考えられる。しかし、カニューレ法はカニューレ管で動物と分析器をつなぐ必要があるため、動物の行動に制約が課せられる。今回用いた心拍変動解析は、動物に小型の機器を装着して心電図を記録することにより自律神経活動の指標を解析することが可能なので、動物の行動を制限せず、動物に与える影響を最低限に抑えることが出来ると考えられる。また、心拍変動解析は、自律神経活動の各々の成分についても類推することができるため、心拍数よりもストレスを評価するためのより良い指標となりうる。また、ストレスに対する反応が経時的に変化することがわかったので、心拍変動解析より得られる自律神経活動の指標は長時間連続計測が可能であるという点からもストレスを評価する上で有用な指標と考えられた。

南極に生息するアデリーペンギンやコウテイペンギン (*Aptenodytes forsteri*) の繁殖地で、ヒトが近づいたり、ヘリコプターが頭上を飛んだりするとペンギンの心拍数が大きく上昇することが確認されている(Culik et al. 1990, Nimon et al. 1995, Giese 1998)。今回、実験で使ったカワウは、野生個体を捕獲し、半年以上飼育していた個体である。それでもヒトの姿を見ただけで、カワウはストレス反応を示した。またヒトを視認したカワウは、生理的なストレス反応を示しているにもかかわらず、外見の行動には何の変化も表れなかった。このような内面的なストレス反応が、その後長期間にわたって動物の記憶に残り、動物の行動を変化させたり (Woehler et al. 1994)、代謝速度が増加することによってエネルギー消費量が増加するなどの悪影響があると考えられる。よって、人間が動物に与えるストレスを評価する際には、動物の行動観察だけでなく、生理的情報を同時に計測する必要があるものと考えられた。また、その方法として心拍変動解析による自律神経機能評価の指標を計測することが最も適していると考えられる。

6. 総合考察

6.1. マイクロデータロガーを用いた心電波形計測方法の有効性

マイクロデータロガーは、近年、計測可能なパラメーターの多様化、大容量化、小型化が進み、野外で自由に行動する動物の行動、環境、生体情報を計測する上で大変有効な機器である (内藤 1997 の総説を参照)。中でも加速度、遊泳速度、水深を計測するセンサーを搭載したロガーの開発によって、水中や陸上における動物の行動について微細なモニタリングが可能となった (Arai et al. 2000, Yoda et al. 1999, Ropert-Coudert et al. 2000, Yoda et al. 2001)。加速度センサーのデータから陸上では、動物が立っていたか、寝ていたか、歩いていたか等の行動を判断することができ、水中では、遊泳速度、水深のデータを組み合わせることによって、羽ばたき頻度、ペンギンが高速で遊泳する際に用いる水面に飛び出す遊泳法であるポーパシング、採餌等の詳細な行動をモニターできる。

本研究で用いた ECG ロガーを用いることによって動物の心電波形計測が可能となり、動物の代謝速度と自律神経活動の指標について解析することが可能となった。本研究で確立された ECG ロガーによる心電波形計測の方法は手術を必要とせず、動物に与える影響を最小限に止めることができるため、今後の応用範囲は広いと考えられる。野外で自由に行動する動物にこれらのロガーを組み合わせれば、動物の行動と生理情報を同時に、マイクロスケールでモニターすることが可能であり、実験室では再現できないような動物の運動能力とそれに伴う生理的反応を計測することができるものと期待される。

現在、ECG ロガーの重量は 52 g であり、加速度など行動記録を行うロガーの重量も約 60 g のため、これらの機械を同時に装着できるのは、鳥類ではペンギン類、アホウ

ドリ類など大型種に限られている。将来的に対象種の範囲を広げるためには、一層の機器の小型化が必要である。また、現在の ECG ロガーは、測定間隔を 1ms に設定すると総計測時間は 2~3 時間である。よって、今後、野生動物に ECG ロガーを装着し、長期的に心電波形を計測する場合は、メモリーの大容量化が不可欠である。メモリーの大容量化に伴って、取得データ数も増加するため、専用ソフトを作成し解析効率を上げることも重要である。

第 5 章の結果から、カワウの自律神経機能を反映する指標が、心理的ストレスの指標としても有効であることが示唆された。今後、ECG ロガーと加速度ロガーを同時に装着すれば、動物の行動を直接観察しなくても、交感神経活動の増加が、運動による影響か、心理的ストレスによる影響かを判別できるため、野外で自由に行動する動物で計測の影響を最小限に押さえた状態で心理的ストレスをモニターすることが可能になると考えられる。また、人為的ストレスの影響は、経時的に変化することが示された。よって、動物にストレスが及ぼす影響を評価するためには、その経時的な推移を考慮する必要がある。例えば、アデリーペンギンは繁殖地にナンキョクオオトウゾクカモメ

(*Catharacta maccormicki*) が近づいた時も人間が近づいた時もともに心拍数は上昇するが (Giese 1998)、ナンキョクオオトウゾクカモメの場合、心拍数はすぐに減少しはじめるが、人間の場合は高い心拍数が長時間維持され、ストレスの影響が長時間持続することが知られている (Giese 未発表)。また、ストレスの影響は、ストレス刺激を与えた直後に一度減少しても、ストレスを受けた回数が多かったり、ストレスの影響が大きかった場合、そのストレスが動物の記憶に残り、後の行動に影響をもたらす場合もあると考えられる。人間が良く訪れる海鳥繁殖地での繁殖個体数の減少などがその良い例であると考えられている (Woehler et al. 1994)。また、第 5 章で取り扱ったヒトによる保定とヒトが動物の脇に立った時の影響のように、動物に与える影響の大きさやストレスからの回復速度、ストレスへの順化速度などがストレスの種類によって異なる可能性があ

る。ストレスの影響を調べる場合、ストレスの指標に表れる影響を一時的に調べるのではなく、その影響が持続する時間、回復までにかかる時間、ストレスの影響が消失してからもそのストレスが動物の行動に影響を与えるかどうか等を様々な時間スケールで考えていく必要がある。

現在、日本に生息するカワウの個体数は増加傾向にあり、その保護管理が急務となっている (Ishida et al. 2000)。カワウがどのような刺激に対してストレスを感じ、そのストレスに対してどの程度順化するのか、そして順化までにはどのくらいの時間経過が必要なのか、また、そのストレスがカワウの行動にどのような影響を与えるのかについて調べた結果は、カワウのねぐらや被害の多い繁殖地からの追い出しと保護区への誘致に応用できると考えられ、カワウの保護管理において有効な情報を提供できるものと考えられる。本研究によって確立された心拍変動解析より得られる指標は、カワウに与える人為的な影響を最小限に止めてストレスの影響を検出できる点、また、時系列的な影響を長期間に渡って計測できる点から、カワウのストレス研究に非常に有効な手法であると考えられる。また、同様な手法はカワウのみならず野外で自由に行動するさまざまな野生動物や希少な飼育動物にも応用可能である。

6.2. カワウの自律神経活動と循環機能特性

6.2.1. カワウの自律神経機能と代謝余裕

主に哺乳類で研究された結果から安静時における各々の自律神経の緊張度は、動物種によって異なることがわかっている (Table 6-1)。一般に安静時の副交感緊張度の高い動物は、安静時と副交感神経遮断時の心拍数の差が大きい傾向が見られ、副交感神経緊張度の低い動物は、安静時と副交感神経遮断時の心拍数の差が小さい傾向が見られた (Table 6-1)。更に副交感神経活動が高い動物は、安静時の心拍数が固有心拍数に比べ

低く抑えられている (Table 6-1)。このように安静時に副交感神経活動が優位な動物は、副交感神経活動が減少すると大きな心拍数上昇を起こす可能性があり、さらに、交感神経活動が上昇すれば、飛躍的に大きな心拍数上昇を起こす可能性を有していると予想される。実際にサラブレッド馬では、安静時には 30bpm 程の心拍数が最大運動時には 200bpm 以上になることが知られており (Butler et al. 1993)、安静時優位に働いている副交感神経活動を下げて、ほとんど働いていない交感神経活動を上昇させることで、安静時に比べ 7 倍近く心拍数を上昇させていると考えられる。

心拍数と代謝速度には良い相関があるため、安静時から運動時への心拍数上昇率が高いと代謝速度も大きくなる (Butler et al. 1993)。基礎代謝率と最大運動時の代謝率の比は、代謝余裕 (Aerobic scope) と呼ばれている。近年、Bishop (1999) によって様々な鳥類と哺乳類の代謝余裕がレビューされた結果、多くの種では 6~35 だが、ウマは 60 以上という特に高い値であった (Jones et al. 1989)。一方、マウスのように普段から交感神経活動が優位な動物は、安静時から交感神経の緊張度が高いため、運動時における心拍数上昇率は低いと予想される。実際に、マウスの代謝余裕は、他の動物に比べ低いことがわかっている (Bishop 1999)。このように哺乳類では、動物の運動性の違いにより心臓の拍動を調節する自律神経系の働きが異なっていた。そして、安静時における副交感神経緊張が優位な動物ほど酸素消費速度の高い運動に適応していると考えられる。

一方、鳥類の自律神経緊張度に関する報告は哺乳類に比べて著しく少なく、本研究の他にはニワトリとコスズガモ (*Aythya affinis*) の報告がある (Table 6-1)。本研究の結果、カワウは安静時の副交感神経活動が非常に優位であると考えられた。また、カワウの安静時心拍数と副交感神経遮断時の心拍数を比較すると 4 倍近くの高い値であった。また、コスズガモもカワウと同じように安静時に交感神経緊張度が低く、副交感神経緊張度が高く、正味の自律神経緊張度は副交感神経が優位に働いていた (Table 6-1)。一方、ニワトリは、安静時において交感神経緊張度が高く、副交感神経緊張度が低くなり、

正味の自律神経緊張度は交感神経活動が優位であった。また、ニワトリの安静時と副交感神経遮断時の最大時の心拍上昇率は、カワウに比べ著しく低かった。このように鳥類においても哺乳類と同様に自律神経の緊張度は種によって異なり、副交感神経活動が優位なタイプと交感神経活動が優位なタイプが見られた。

哺乳類では、ウマ、イヌ、エダツノレイヨウ (*Antilocapra americana*) など速く走ることができる動物の他にコウモリで代謝余裕が高いことが知られている (Bishop 1999, Tomas 1975)。コウモリの自律神経緊張度に関する報告はないが、循環機能に関わる特性は、哺乳類より鳥類に近いことが示唆されており、体サイズに比して大きな心臓を持ち (Jürgens et al. 1981)、高い1拍拍出量を示す (Thomas 1981)。飛翔行動は、高速で走る場合と同様にエネルギーコストが高い運動であることが知られている (Shmidt-Nielsen 1984)。よって、哺乳類、鳥類も飛翔に対する循環機能的適応は、代謝余裕を増加させるという共通の方向に働いている可能性がある。

飛翔行動において、体重と飛翔エネルギーには正の相関関係があることが知られており (Pennycuick 1989b)、飛翔エネルギーが高いと予想される大型鳥類は、羽ばたき飛翔と滑空飛翔のどちらかの飛翔方法を用いている。はばたき飛翔は滑空飛翔に比べ、酸素消費速度の高い飛翔法である (Pennycuick 1989b)。羽ばたき飛翔をするアオメウの飛翔時の平均心拍数 (309bpm) は安静時 (104bpm) の約3倍だが (Bevan et al. 1997)、滑空飛翔をするワタリアホウドリ (*Diomedea exulans*) の離陸時の心拍数 (約130bpm) は安静時 (約60bpm) の2倍まで上昇し、更に滑空を続けると約95bpm近くまで心拍数が減少することがわかっている (Weimerskirch et al. 2000)。カワウの心重量比 (1.39%) は、体重から推定される心重量比 (0.72%) より大きかった。また、長い渡りを行う、ガン (*Branta spp.*) やハクチョウ (*Cygnus spp.*) などの大型の羽ばたき飛翔性鳥類も、相対的に大きな心臓を持つことが知られており、その心重量比は1.1%である (Bishop and Butler 1995)。一方、コアホウドリ (*Diomedea immutabilis*)、クロアシアホウドリ (*Diomedea*

nigripes) などの滑空飛翔性の海鳥類は、心重量比が0.5~0.6%と低いことがわかっている(長 1994)。このように鳥類の心重量は、それぞれの鳥の飛翔様式の酸素消費速度の違いに依存して異なっていた。

カワウは、相対的に大きな心臓を持っているため、1拍拍出量も大きいと考えられる。したがって、カワウは安静時に副交感神経緊張度が高く心拍数を低く保つことができ、一方、運動時には高い心拍数上昇率を再現できる可能性が高い。カワウは、安静時から運動時への高い心拍数上昇率によって高い代謝余裕を有していると考えられ、羽ばたき飛翔というエネルギーコストの高い飛翔方法を行うことができると考えられる。また、ウ類は、潜水中に蓄積した酸素負債からの回復と次の潜水の準備をするため、潜水後、急激に心拍数を増加させることが知られている(Bevan et al. 1997)。したがって、カワウの高い代謝余裕は、飛翔時だけでなく、潜水サイクルを効率的に行う上でも有効であると考えられた。

6.2.2. カワウの自律神経系による循環機能調節機構

低い環境温度にさらした際と人為的ストレスを与えた際、ともにカワウの心拍数は上昇した。心拍数上昇の程度は低温度環境に対して、5℃では25℃の心拍数の1.4倍に増加したのに対し、人為的ストレスを加えたときはストレスを与える前の1.6-2.2倍まで増加した。低温環境では副交感神経活動の低下による影響が大きく、相対的に交感神経活動が減少しているにもかかわらず、高温環境に比べて心拍数、代謝速度が高かった。一方、人為的ストレスを与えた際は、副交感神経活動が低下し、同時に交感神経活動が相対的に増加するため、急激な心拍数上昇が起こると考えられた。低温環境下では副交感神経活動の低下によって、人為的ストレスを与えたときにはさらに交感神経活動を賦活することによって心拍数の上昇を調節していた。このように、心拍変動解析をカワウに応用することによって、カワウにおける循環機能調節のための自律神経系の働きには

2つのタイプが存在することが明らかとなった。

アオメウの飛翔時の心拍数は、安静時の約3倍まで上昇していることが知られている (Bevan et al. 1997)。カワウの飛翔時の心拍数がアオメウ同様飛翔時に安静時の3倍まで心拍数が増加していると仮定すると、第3章のアトロピン投与時と同様に交感神経緊張度を45%まで上昇させて、副交感神経緊張度を下げることで、そのような飛翔時の高い心拍数は再現可能と考えられる。

一方、潜水行動に伴う心拍数変化は飛翔時とは異なり、限られた酸素を有効に利用するため、潜水中心拍数は減少することが知られている (Butler and Jones 1997)。潜水に伴う心拍数減少には、潜水開始直後に起こる劇的な心拍数低下と潜水中、経時的に徐々に起こる心拍数低下の2つの段階があることが知られている (Butler and Jones 1997)。まず、潜水開始とともに起こる急激な心拍数の低下 (潜水反射) は、潜水性の哺乳類、鳥類だけでなく他の陸生動物にも共通な反応であると考えられている (Kooyman 1989の総説を参照)。また、カモ類などでは、潜水が長時間に及ぶと圧受容体の影響は減少し、血液中の酸素分圧の減少、二酸化炭素分圧の増加が末梢の化学受容器に与える刺激の効果が増大するため、このような潜水時間の経過に伴う更なる心拍数の低下が起こると考えられている (Smith and Jones 1992)。

アオメウは、潜水前の約半分の低い心拍数、すなわち低い代謝速度で、空気中より抵抗、粘性が高い水中で採餌行動を行うことができる (Bevan et al. 1997)。水中での移動はエネルギーコストがかかると考えられるが、安静時と同様に低い代謝速度でなぜ採餌行動を行うことができるのかは依然として疑問が残る。カワウの胃内温度やアオメウの腹腔内温度は潜水中に低下することが報告されている (Bevan et al. 1997, Grémillet et al. 1998)。このような潜水に伴う体温低下は、キングペンギン (*Aptenodytes patagonicus*) でも報告されている (Handrich et al. 1997)。野外で自由に行動する潜水性鳥類で見られる潜水中の体温低下は、潜水中において限られた酸素を有効に使うため、体の末梢部や

潜水行動に必要な部位への血流量を減らし、生命活動に重要な臓器だけに血流を送るという血流再分配を行うことによって、個体全体として酸素代謝速度を減少させる生理的適応ではないかと考えられている (Handrich et al. 1997, Butler and Jones 1997)。ウ類でも潜水中このような酸素代謝の節約機構が働くため、潜水中においても低い心拍数で採餌活動を可能にしていると考えられる。

潜水カモの研究の結果から Furilla and Jones (1987) は、潜水行動に伴う2種類の心拍数減少は、潜水中の運動レベルや交感神経活動に無関係ですべて副交感神経活動によって調節されているというモデルを提唱している。その後、コスズガモに交感神経遮断薬を投与して潜水させると潜水に伴って心拍数は減少するが、副交感神経遮断薬を投与して潜水させると心拍数は減少しないことを示した (McPhail and Jones 1999)。ウ類は水が浸入しやすい構造の羽毛を有している (Rijke 1968)。よって、潜水前、ウ類は水面で羽毛に水が浸入し熱が奪われるので、体温保持のため安静時の2~3倍に代謝速度を上昇させていると考えられる (De Vries et al. 1995, Schmid et al. 1995, Bevan et al. 1997)。したがって、潜水前のウ類は、低温環境下にある時と同様に安静時に比べ副交感神経緊張度が著しく低下している状態にあると予想される。よって、ウ類でもカモ類のように、副交感緊張度を上昇させることで心拍数を大幅に低下させることが可能であると考えられる。これまで潜水行動に伴う心拍変化を調節している自律神経活動を調べるには、潜水カモで行われたように神経遮断薬を投与した鳥の潜水行動に伴う心拍数変化を検証するか、自律神経を切除した鳥の潜水行動に伴う心拍数変化を検証する方法が用いられてきた (Furilla and Jones 1987, McPhail and Jones 1999)。本研究によって、投薬や外科的な神経切除を行うことなく自由に行動するウ類においても交感神経、副交感神経活動を評価する方法が確立された。この方法を応用することで、これまで潜水カモ類で提唱されてきた Furilla and Jones (1987) の心拍数調節モデルが、野外で自由に行動しているウ類に適用可能か否かについて検証することが可能になると考えられる。

これまで潜水生理学的な研究は、飼育が容易なカモ類を対象として集中的に行われてきたが、カモ類とウ類では、潜水行動への生理的、形態的適応の程度は大きく異なっている。カモ類は、ウ類と違って羽毛による水中での断熱効果が高いが、浮力も大きいため水中における移動コストもウ類に比べると高いと予想される (Wilson et al. 1992, Lovvorn and Jones 1994)。さらに、ウ類は 40~100m 近い深度まで繰り返し潜水可能であり、カモ類に比べて高い潜水能力を有している (Croxall et al. 1992, Schreer and Kovacs 1997, Kato et al. 2000)。本研究によって確立された自律神経の機能評価法は、潜水行動により適応していると考えられるウ類などの野生鳥類に幅広く応用が可能である。今後、様々な程度に潜水行動に適応した海鳥類の潜水に伴う自律神経系による循環機能調節機構を調べることで、比較生理学的にも興味深い知見が得られることが期待される。

以上のことから、カワウは、安静時から副交感神経活動が優位に働いているため、安静時から運動時にかけての心拍数の上昇率が高いと考えられる。そして、相対的に大きな心臓と高い心拍上昇率によってもたらされる高い代謝余裕によって、羽ばたき飛翔という酸素消費速度が高い飛翔方法を行うことが可能であると考えられた。また、このような高い代謝余裕は、潜水後の酸素負債から回復する際にも有効に働くと予想される。一方、潜水中は、副交感神経活動を上昇させることで潜水中の代謝速度を低下させ、限られた酸素を有効に利用していると考えられた。このようにカワウは、飛翔、潜水という二つの行動に循環機能の面でも、その調節機構の面でも見事に適応していることが明らかになった。

謝辞

本博士論文をまとめるにあたり、総合研究大学院大学数物科学研究科内藤靖彦教授には、懇切な指導と多くの助言を頂いた。また、国立極地研究所寒冷生物学研究部門加藤明子助手には、実験計画から論文作成まで細部に渡る多くの示唆と助言を頂いた。日本獣医畜産大学野生動物学研究室羽山伸一獣医学博士には、心電波形計測法の確立における実技指導から被験動物の提供まで、本研究を行う上で多くの助言と惜しみないご協力を頂いた。総合研究大学院大学数物科学研究科福地光男教授、神田啓史教授、小達恒夫助教授、東京大学農学生命科学研究科桑原正貴助教授、三重大学生物資源学部吉岡基助教授には、本論文の執筆にあたり多くの助言を頂いた。東京大学大学院農学生命科学研究科局博一教授、石川圭司助手には、データ解析にあたり多くの助言とご協力を頂いた。日本獣医畜産大学獣医内科学教室小山秀一獣医学博士には、実験器具の貸与と心電波形計測についての助言を頂いた。山梨環境科学研究所動物生態学研究室今木洋大博士、環境生理学研究室永井正則医学博士、ならびに山梨環境科学研究所環境生理学研究室の皆様には、高温恒湿室の使用を許可して頂き、山梨環境科学研究所に滞在中、惜しみないご協力を頂いた。総合研究大学院大学数物科学研究科ヤンロペルクデル氏には、すべての実験において惜しみないご協力を頂き、本論文の図表作成において多大なるご尽力を頂いた。また、総合研究大学院大学数物科学研究科高橋晃周氏、鮎川恵理氏には、すべての実験でご協力いただき、更に、本論文執筆中たくさんの激励を頂いた。北海道天売島での心電波形計測方法確立における実験と島での滞在中、青塚松寿氏、綿貫豊助教授、新妻靖章博士、帖地美千代氏、石川宏司氏、福田佳弘氏、吉川昌嗣氏、日下部美憲氏、天売海鳥研究室の皆様には、多大なご協力を頂き、本当にお世話になった。国立極地研究所寒冷生物学研究部門田中秀二博士、南川真吾博士、京都大学大学院理学研究科依田憲氏には、日本獣医畜産大学における実験において惜しみないご協力と激励を頂い

た。京都大学理学大学院研究科東野陽子氏、北海道大学大学院水産科学研究科河邊玲氏には、周波数解析について多くの助言と本論文作成にあたり激励を頂いた。日本獣医畜産大学野生動物学教室の皆様には、実験に際して惜しみないご協力を頂いた。(有)リトルレオナルドの鈴木道彦氏、MMTの村元宏行氏には、心電波形計測法の確立にあたり、多くの助言と計測機器の改良にご協力を頂いた。岩尾香氏、光岡心子氏、丸井美穂氏、山本一彦氏には博士課程在籍中、絶えることのない激励と惜しみないご協力を頂いた。また、国立極地研究所生物研究グループの教官、事務補佐員ならびに学生諸氏には、日常の研究活動中に多くの激励とご協力を頂いた。

ここに心より深く感謝の意を表したい。

引用文献

- Akester, A. R. (1979) The autonomic nervous system. A. S. King and J. McLelland (eds.) Form and function in birds. 4 vols. Academic Press, New York 1 pp381-441.
- Akselrod, S., Gordon, D., Ubel, F. A., Shannon, D. C., Barger, A. C., and Cohen, R. J. (1981) Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: A quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science* 213:220-222.
- Amend, J. F. and Eroschenko, V. P. (1976) Scalar electrocardiographic measurements in unrestrained young Japanese quail. *Lab. Anim. Sci.* 26: 190-194.
- Arai, N., Kuroki, M., Sakamoto, W. and Naito, Y. (2000) Analysis of diving behavior of adélie penguins using acceleration data logger. *Polar Biosci.* 13: 95-100
- Becker, B. A., Nienaber, J. A., Christenson, R. K., Manak, R. C., DeShazer, J. A., and Hahn, G. L. (1985) Peripheral concentrations of cortisol as an indicator of stress in the pig. *Am. J. Vet. Res.* 46:1034-1038.
- Bennett, T. (1974) The peripheral and autonomic nervous systems. D. S. Farner, J. R. King, and K. C. Parkes (eds.) *Avian biology*. 8 vols. Academic Press, New York 4 pp1-77.
- Bevan, R. M., Boyd, I. L., Butler, P. J., Reid, K., Woakes, A. J., and Croxall, J. P. (1997) Heart rates and abdominal temperatures of free-ranging South Georgian shags, *Phalacrocorax georgianus*. *J. Exp. Biol.* 200: 661-675.
- Bezzel, E. and Prinzinger, R. (1990) *Ornithologie*. Verlag. Eugen, Ulmer., Stuttgart.
- Bishop, C. M. (1999) The maximum oxygen consumption and aerobic scope of birds and mammals: getting to the heart of the matter. *Proc. R. Soc. Lond. B* 266: 2275-2281.
- Bishop, C. M. and Butler, P. J. (1995) Physiological modelling of oxygen consumption in birds during flight. *J. Exp. Biol.* 198: 2153-2163.
- Boulianne, M., Hunter, D. B., Julian, R. J., O'Grady, M. R., and Physick-Sheard, P. W. (1992) Cardiac muscle mass distribution in the domestic turkey and relationship to electrocardiogram. *Avian. Dis.* 36: 582-589.
- Butler, P. J. (1991) Exercise in birds. *J. Exp. Biol.* 160:233-262.
- Butler, P. J. and Jones, D. R. (1997) Physiology of diving of birds and mammals. *Physiol. Rev.* 77:837-899.
- Butler, P. J. and Woakes, A. J., Smale, K., Roberts, C. A., Hillidge, C. J., Snow, D. H. and Marlin, D. J. (1993) Respiratory and cardiovascular adjustments during exercise of increasing intensity and during recovery in thoroughbred racehorses. *J. Exp. Biol.*
- Calder, W. A. (1968) Respiratory and heart rate of birds at rest. *Condor* 70: 358-365.
- Chappell, M. A., Morgan, K. R., and Souza, S. L. (1989) Convection and thermoregulation in two

- Antarctic seabirds. *J. Comp. Physiol. B* 159: 313-322.
- Chappell, M. A. and Souza, S. L. (1988) Thermoregulation, gas exchange, and ventilation in adélie penguins (*Pygoscelis adeliae*). *J. Comp. Physiol. B* 157:783-790.
- Clabough, D. L. and Swanson, C. R. (1989) Heart rate spectral analysis of fasting-induced bradycardia of cattle. *Am. J. Physiol.* 257:R1303-R1306.
- Cooper, J. (1986) Diving patterns of cormorants *Phalacrocoracidae*. *Ibis* 128:562-570.
- Croxall, J. P., Naito, Y., Kato, A., Rothery, P., and Briggs, D. R. (1991) Diving patterns and performance in the Antarctic blue-eyed shag *Phalacrocorax atriceps*. *J. Zool.* 225: 177-199.
- Culik, B. M., Adelung, D., and Woakes. (1990) The effect of disturbance on the heart rate and behaviour of adélie penguins (*Pygoscelis adeliae*) during the breeding season. K. R. Kerry and G. Hempel (eds.) *Antarctic ecosystems: ecological change and conservation*. Springer-Verlag, Berlin pp177-182.
- De Vries, J. and Van Eerden, M. R. (1995) Thermal conductance in aquatic birds in relation to the degree of water contact, body mass, and body fat: energetic implications of living in a strong cooling environment. *Physiol. Zool.* 68: 1143-1163.
- 江原 義郎 (1991) ユーザーズデジタル信号処理 東京電気大学出版局 pp71-78。
- Furilla, R. A. and Jones, D. R. (1987) The relationship between dive and pre-dive heart rates in restrained and free dives by diving ducks. *J. Exp. Biol.* 127: 333-348.
- Gabrielsen, G. W., Mehlum, F., and Kkarlsen, H. E. (1988) Thermoregulation in four species of arctic seabirds. *J. Comp. Physiol. B* 157: 703-708.
- Ganong, W. F. (1997) *Review of medical physiology* 18th ed. Appleton & Lange, Connecticut.
- Giese, M. (1998) Guidelines for people approaching breeding groups of adélie penguins (*Pygoscelis adeliae*). *Polar Record* 34:287-292.
- Grémillet, D., Schmid, D., and Culik, B. (1995) Energy requirements of breeding great cormorants *Phalacrocorax carbo sinensis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 121: 1-9.
- Grémillet, D., Tuschy, I., and Kierspel, M. (1998) Body temperature and insulation in diving great cormorant and European shags. *Func. Ecol.* 12: 386-394.
- Grémillet, D., Wilson, R. P., Wanless, S., and Peters, G. (1999) A tropical bird in the Arctic (the cormorant paradox). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 188: 305-309.
- Grubb, B. 1983 Allometric relations of cardiovascular function in birds. *Am. J. Physiol.* 245: H567-H572.
- Handrich, Y., Bevan, R. M., Charrassin, J. -B., Butler, P. J., Pütz, K., Woakes, A. J., Lage, J., and LeMaho, Y. (1997) Hypothermia in foraging king penguins. *Nature* 388: 64-67.
- Harrison, P. (1985) *Seabirds. : an identification guide*. Christopher Helm Ltd. London.
- Hashimoto, M., Kuwahara, M., Tsubone, H., and Sugano, S. (1999) Durnal variation of

- autonomic nervous activity in the rat. *J. Electrocardiol.* 32:167-171.
- Herd, R. M. (1989) Serum cortisol and "stress" in cattle. *Aust. Vet. J.* 66:341-342.
- Irving, L. (1972) Arctic life of birds and mammals. *Zoophysiology and Ecology* 2. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Ishii, K., Kuwahara, M., Tsubone, H., and Sugano, S. (1996) The telemetric monitoring of heart rate, locomotive activity, and body temperature in mice and voles (*Microtus arvalis*) during ambient temperature changes. *Lab. Anim.* 30:7-12.
- 石田 朗、松沢 友紀、亀田 佳代子、成末 雅恵 (2000) 日本におけるカワウの増加と被害—地域別・問題別も概況と今後の課題— *Strix* 18:1-28.
- 石田 利一郎、岡田 正彦 (1997) スポーツにおけるトレーニング効果判定を目的とした心拍変動のスペクトル解析 *臨床病理* 45:685-688.
- I. U. P. S. Commission for Thermal Physiology. (1987) Glossary of terms for thermal physiology. *Pflügers Archiv* 410: 567-587.
- Jones, D. R., Longworth, K. E., Lindholm, A., Conley, K. E., Karas, R. H., and Kayar, S. R., and Taylor, C. R. (1989) Oxygen transport during exercise in large mammals. I. Adaptive variation in oxygen demand. *J. Appl. Physiol.* 67: 862-870.
- Jose, A. D. (1966) Effect of combined sympathetic and parasympathetic blockade on heart rate and cardiac function in man. *Am. J. Cardiol.* 18:476-478.
- Jose, A. D. and Collison, D. (1970) The normal range and determinants of the intrinsic heart rate in man. *Cardiovasc. Res.* 4:160-167.
- Jose, A. D., and Stitt, F. (1967) Cardiac function after combined beta-adrenergic and cholinergic blockade. Relationship of intrinsic rate to contractile force of the heart in dogs. *Circ. Res.* 20: 231-242.
- Jürgens, K. D., Bartels, H., and Bartels, R. (1981) Blood oxygen transport and organ weights of small bats and small nonflying mammals. *Resp. Physiol.* 45: 243-260.
- Kato, A., Watanuki, Y., Nishiumi, I., Kuroki, M., Shaughnessy, P., and Naito, Y. (2000) Variation in foraging and parental behavior of king cormorants. *Auk* 117: 718-730.
- Keijer, E. and Butler, P. J. (1982) Volumes of the respiratory and circulatory systems in tufted and mallard ducks. *J. Exp. Biol.* 101:213-220.
- Kisch, B. (1957) The electrocardiogram of birds (chicken, duck, pigeon). *Exp. Med. Surg.* 9: 103-124.
- Kitney, R. I. and Rompelman, O. (1980) *The Study of Heart Rate Variability*. Clarendon Press, Oxford.
- Kooyman, G. L. (1989) *Diverse divers*. Springer-Verlag, Berlin.
- Kooyman, G. L., Schreder, J. P., Greene, D. G. and Smith, V. A. (1973) Gas exchange in

- penguins during simulated dives to 30 and 68 m. *Am. J. Physiol.* 225:1467-1471.
- Korte, S. M., Ruesink, W., and Blokhuis, H. J. (1999) Heart rate variability during manual restraint in chicks from high- and low-feather pecking lines of laying hens. *Physiol. Behav.* 65:649-652.
- Kuroki, M., Kato, A., Hayama, S., and Naito, Y. (1999) Preliminary report of new method for ECG measurement of exercising birds. *Polar. Biosci.* 12:40-46.
- Kuwahara, M., Hashimoto, S., Ishii, K., Yagi, Y., Hada, T., Hiraga, A., Kai, M., Kubo, K., Oki, H., Tsubone, H., and Sugano, S. (1996) Assessment of autonomic nervous function by power spectral analysis of heart rate variability in the horse. *J. Auton. Nerv. Syst.* 60: 43-48.
- Kuwahara, M., Suzuki, A., Tsutsumi, H., Tanigawa, M., Tsubone, H., and Sugano, S. (1999) Power spectral analysis of heart rate variability for assessment of diurnal variation of autonomic nervous activity in miniature swine. *Lab. Anim. Sci.* 49: 202-208.
- Kuwahara, M., Yayou, K., Ishii, K., Hashimoto, S., Tsubone, H., and Sugano, S. (1994) Power spectral analysis of heart rate variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat. *J. Electrocardiol.* 27:333-337.
- Lasiewski, R. C. (1972) Chapter 5 Respiratory function in birds. F. King (eds.) *Avian Biology*. II Academic Press, New York. pp 288-342.
- Lasiewski, R. C. and Calder, W. A. (1971) A preliminary allometric analysis of respiratory variables in resting birds. *Resp. Physiol.* 11:152-166.
- Lovvorn, J. R. and Jones, D. R. (1991) Body mass, volume, and buoyancy of some aquatic birds, and their relation to locomotor strategies. *Can. J. Zool.* 69:2888-2892.
- Lovvorn, J. R. and Jones, D. R. (1994) Biomechanical conflicts between adaptations for diving and aerial flight in estuarine birds. *Estuaries* 17: 62-75.
- 町田 登 (2000) 鳥類の比較心電図学 第27回比較心電図学研究会抄録集 pp1-3.
- Matsui, K. and Sugano, S. (1989) Relation of intrinsic heart rate and autonomic nervous tone to resting heart rate in the young and the adult of various domestic animals. *Jap. J. Vet. Sci.* 51:29-34.
- McPhail, L. T. and Jones, D. R. (1999) The autonomic nervous control of heart rate in ducks during voluntary diving. *Physiol. Biochem. Zool.* 72: 164-169.
- Moguilevski, V. A., Shiel, L., Oliver, J., and McGrath, B. P. (1996) Power spectral analysis of heart-rate variability reflects the level of cardiac autonomic activity in rabbits. *J. Auton. Nerv. Syst.* 58:18-24.
- Morton, D. J., Anderson, E., Fogginm, C. M., Kock, M. D., and Tiran, E. P. (1995) Plasma cortisol as an indicator of stress due to capture and translocation in wildlife species. *Vet. Rec.* 136:60-63.

- 内藤 靖彦 (1997) マイクロデータロガーの現状 月間海洋 29: 137-141.
- Nap, A. M. P., Lumeij, J. T., and Stokhof, A. A. (1992) Electrocardiogram of the African grey (*Psittacus erithacus*) and Amazon (*Amazona spp.*) parrot. Avian Pathol. 21: 45-53.
- Nimon, A. J. Schroter, R. C. and Stonehouse, B. (1995) Heart rate of disturbed penguins. Nature 374: 415.
- 長 雄一 (1994) 海鳥類の潜水ならびに飛翔に関する機能形態学的研究 博士論文
- Pagani, M., Lombardi, F., Guzzetti, S., Rimoldi, O., Furlan, R., Pizzinelli, P., Sandrone, G., Malfatto, G., Dell'Orto, S., Piccaluga, E., Turiel, M., Baselli, G., Cerutti, S., and Malliani, A. (1986) Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. Circ. Res. 59: 178-193.
- Pagani, M., Rimoldi, O., Pizzinelli, P., Furlan, R., Crivellaro, W., Liberati, D., Cerutti, S., and Malliani, A. (1991) Assessment of the neural control of the circulation during psychological stress. J. Auton. Nerv. Syst. 35:33-41.
- Palazzolo, J. A., Estafanous, F. G., and Murray, P. A. (1998) Entropy measures of heart rate variation in conscious dogs. Am. J. Physiol. 274: H1099-H1105.
- Pearson, J. T., Tsudzuki, M., Nakane, Y., Akiyama, R., and Tazawa, H. (1998) Development of heart rate in the precocial king quail *Coturnix chinensis*. J. Exp. Biol. 201: 931-941.
- Pennycuik, C. J. (1989a) Span-ratio analysis used to estimate effective lift: drag ration in the double-crested cormorant *Phalacrocorax auritus* from field observations. J. Exp. Biol. 142:1-15.
- Pennycuik, C. J. (1989b) Bird flight performance. Oxford University Press, Oxford.
- Physick-Sheard, P. W., Marlin, D. J., Thornhill, R., and Schorter, R. C. (2000) Frequency domain analysis of heart rate variability in horses at rest and during exercise. Equine. Vet. J. 32: 253-262.
- Proctor, N. S and Lynch, P. J. (1993) Manual of ornithology. Avian structure and function. Yale University Press, New Haven.
- Puig, J., Freitas, J., Carvalho, M. J., Puga, N., Ramos, J., Fernandes, P., Costa, O., and de Freitas, A. F. (1993) Spectral analysis of heart rate variability in athletes. J. Sports Med. Phys. Fitness 33:44-48.
- Rijke, A. M. (1968) The water repellency and feather structure of cormorants. J. Exp. Biol. 48:185-189.
- Ropert-Coudert, Y., Sato, K., Kato, A., Charrassin, J. -B., Bost, C. -A. Le Maho, Y., and Naito, Y. (2000) Preliminary investigations of prey pursuit and capture by king penguins at sea. Polar Biosci. 13: 101-112.
- Ropert-Coudert, Y., Baudat, J., Kurita, M., Bost, C-A., Kato, A., Le Maho, Y., and Naito,

- Y. (2000) Validation of oesophagus temperature recording for detection of prey ingestion on captive Adélie penguins. *Mar. Biol.* 137: 1105-1110.
- Sawazaki, H., Hirose, H., Matsui, K., Yamamori, K., and Hanyu, I. (1976) Comparative electrocardiographical studies on the wave form of QRS complex in vertebrates. *Jpn. J. Vet. Sci.* 38: 235-240.
- Scholander, P. F., Hock, R., Walters, V., Johnsson, F., and Irving, L. (1950) Heat regulation in some arctic and tropical mammals and birds. *Biol. Bull.* 99: 237-258.
- Schmid, D., Grémillet, D. J. H. and Culik, B. M. (1995) Energetics of underwater swimming in the great cormorant (*Phalacrocorax carbo sinensis*). *Mar. Biol.* 123: 875-881.
- Schmidt-Nielsen, K. (1984) *Scaling*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Schmidt-Nielsen, K. (1995) *Animal Physiology*. Fourth edition. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Schreer, J. F. and Kovacs, K. M. (1997) Allometry of diving capacity in air-breathing vertebrates. *Can. J. Zool.* 75: 339-358.
- Signore, P. E. and Jones, D. R. (1995) Effect of pharmacological blockade on cardiovascular responses to voluntary and forced diving in muskrats. *J. Exp. Biol.* 198: 2307-2315.
- Sloan, R. P., Shapiro, P. A., Bagiella, E., Bigger, J. T. Jr, Lo, E. S., and Gorman, J. M. (1996) Relationships between circulating catecholamines and low frequency heart period variability as indices of cardiac sympathetic activity during mental stress. *Psychosom. Med.* 58:25-31.
- Smith, F. M. (1994) Blood pressure regulation by aortic baroreceptors in birds. *Physiol. Zool.* 67:1402-1425.
- Smith, F. M. and Jones, D. R. (1992) Baroreflex control of arterial blood pressure during involuntary diving in ducks (*Anas platyrhynchos var.*) *Am. J. Physiol.* 263:R693-R702.
- Sturkie, P. D. and Chillseyzn, J. (1972) Heart rate changes with age in chickens. *Poult. Sci.* 51:906-911.
- Szabuniewicz, M. and McCrady, J. D. (1967) The electrocardiogram of the chicken. *Southwest. Vet.* 20: 287-294.
- 高野 伸二 (1994) フィールドガイド 日本の野鳥 増補版 (財) 日本野鳥の会、東京。
- Thomas, S. P. (1975) Metabolism during flight in two species of bats, *Phyllostomus hastatus* and *Pteropus gouldii*. *J. Exp. Biol.* 63: 273-293.
- Thomas, S. P. (1981) Ventilation and oxygen extraction in the bat *Pteropus gouldii* during rest and steady flight. *J. Exp. Biol.* 94: 231-250.
- Walsh, R. R. (1969) Heart rate and its neural regulation with rising body temperature in anesthetized rats. *Am. J. Physiol.* 217: 1139-1143.

- Warner, H. R. and Cox, A. (1962) A mathematical model of heart rate control by sympathetic and vagus efferent information. *J. Appl. Physiol.* 17:349
- Warren, J. H., Jaffe, R. S., Wraa, C. E., and Stebbins, C. L. (1997) Effect of autonomic blockade on power spectrum of heart rate variability during exercise. *Am. J. Physiol.* 273: R495-502.
- Watanuki, Y., Kato, A., and Naito, Y. (1996) Diving performance of male and female Japanese cormorants. *Can. J. Zool.* 74: 1098-1109.
- Weimerskirch, H., Guionnet, T., Martin, J., Shaffer, S. A., and Costa, D. P. (2000) Fast and fuel efficient? Optimal use of wind by flying albatrosses. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267: 1869-1874.
- Wilson, R. P., Hustler, K., Ryan, G. P., Burger, A. E., and Nöldeke, E. C. (1992) Diving birds in cold water: Do Archimedes and Boyle determine energetic costs? *Ame. Nat.* 140: 179-200.
- Woakes, A. J. and Butler, P. J. (1986) Respiratory, circulatory and metabolic adjustments during swimming in the tufted duck, *Aythya fuligula*. *J. exp. Biol.* 120:214-231.
- Woakes, A. J., Butler, P. J., and Bevan, R. M. (1995) Implantable data logging system for heart rate and body temperature: its application to the estimation of field metabolic rates in Antarctic predators. *Med. & Biol. Eng. & Comput.* 33: 145-151.
- Woehler, E. J., Penney, R. L., Creet, S. M., and Burton, H. R. (1994) Impacts of human visitor on breeding success and long-term population trends in Adélie Penguin at Casey, Antarctica. *Polar Biol.* 14:269-274.
- Yayou, K., Annen, Y., Kuwahara, M., Tsubone, H., and Sugano, S. (1993) Studies on the autonomic nervous function in Tsukuba emotional rats – with special reference to their cardiac function. *J. Vet. Med. Sci.* 55:1017-1023.
- Yu, Z-Y. and Lumbers, E. R. (2000) Measurement of baroreceptor-mediated effects on heart rate variability in fetal sheep. *Pediatric Res.* 47:233-239.
- Yoda, K., Sato, K., Niizuma, Y., Kurita, M., Bost, C-A, Le Maho, Y., and Naito, Y. (1999) Precise monitoring of porpoising behavior of Adélie Penguins Determined using acceleration data loggers. *J. Exp. Biol.* 202:3121-3126.
- Yoda, K., Naito, Y., Sato, K., Takahashi, A., Nishikawa, J., Ropert-Coudert, Y., Kurita, M. and Le Maho, Y. (2001). A new technique for monitoring the behaviour of free-ranging Adélie penguins. *J. Exp. Biol.* 204: 685-690.

図表

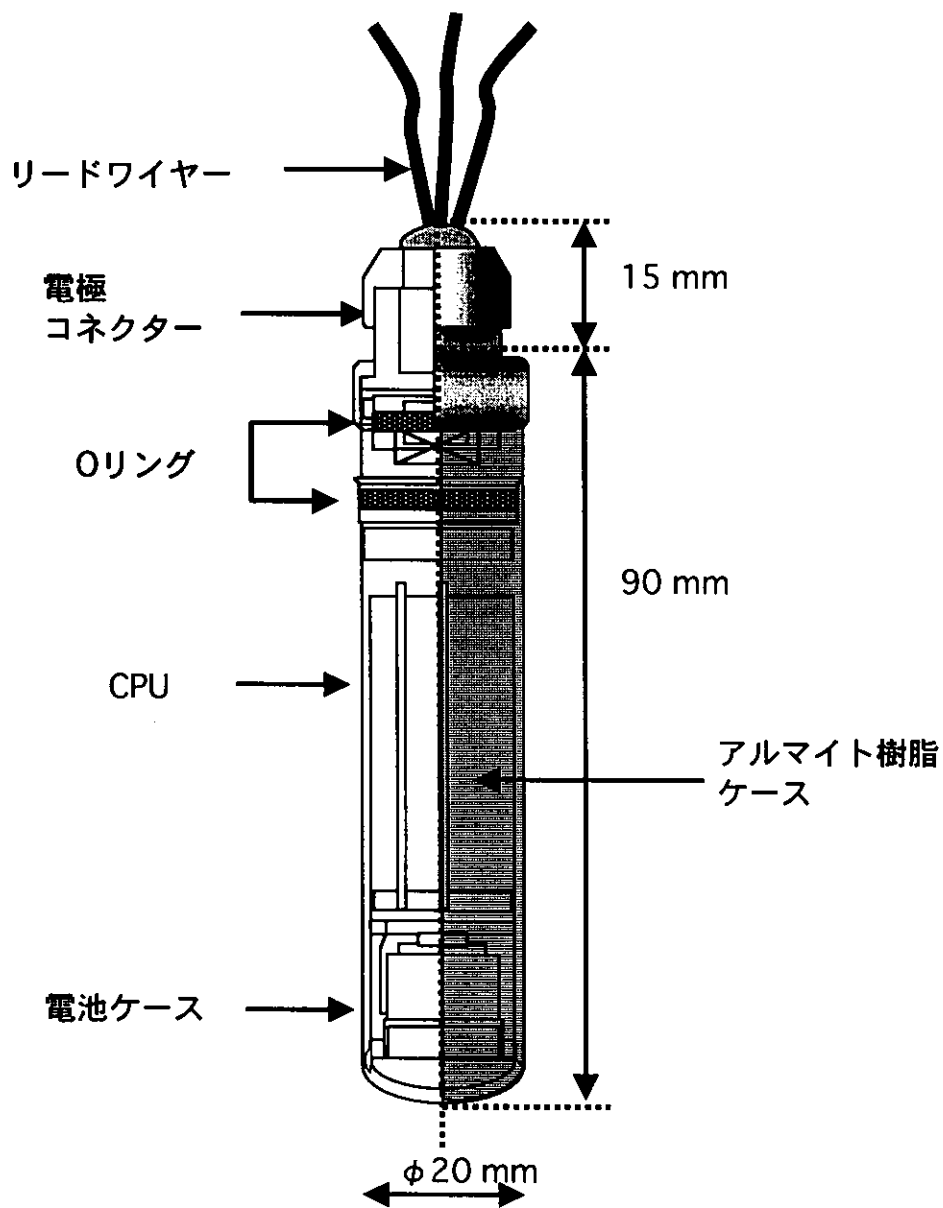


Fig. 2-1 ECGロガーのサイズと構造

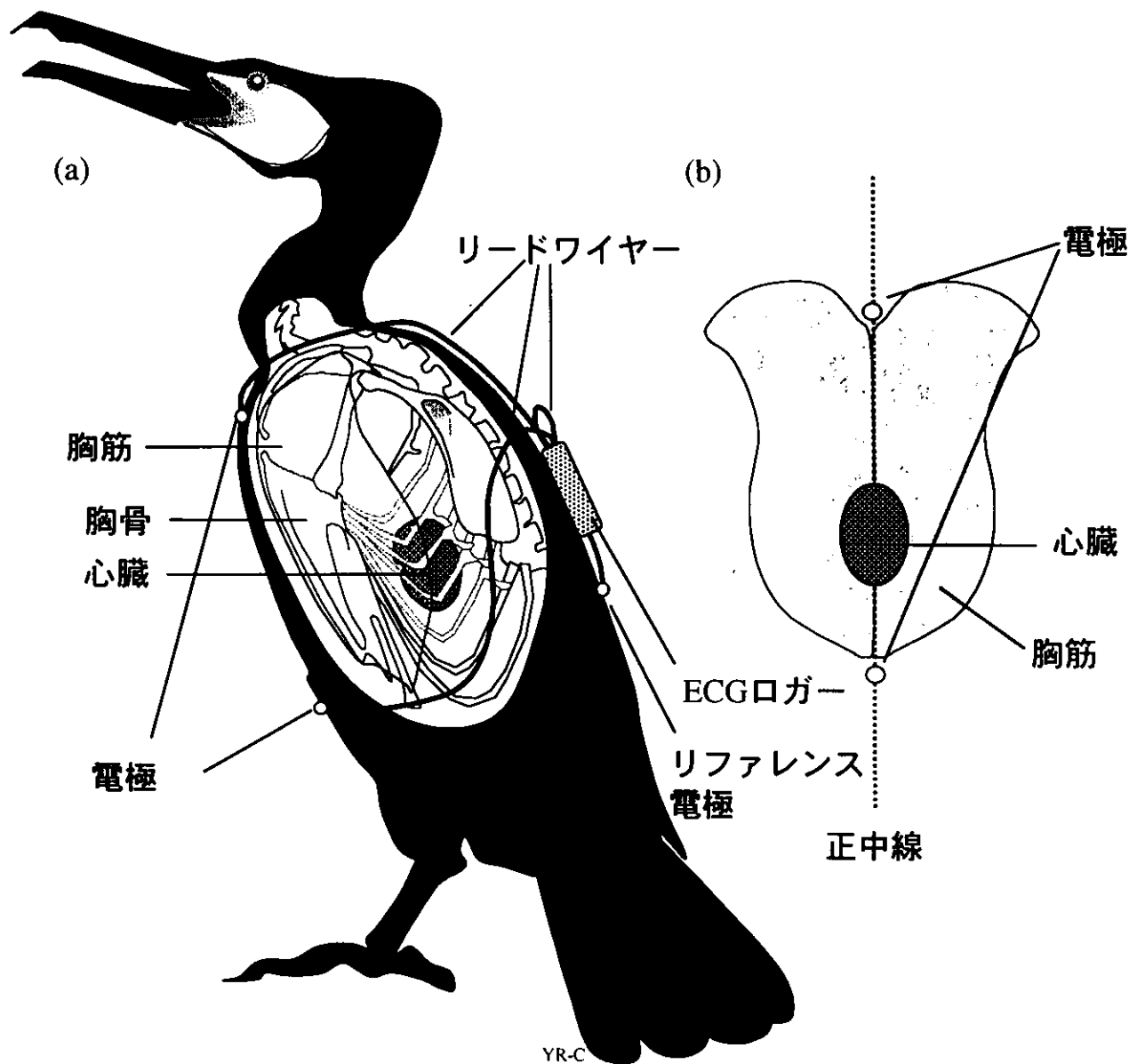


Fig. 2-2 カワウにおける心電図電極とECGロガーの装着方法
 (a) 側面から見た骨格、胸筋、電極とロガー装着位置を示す模式図、
 (b) 正面から見た胸筋、心臓、電極の位置関係を示した模式図

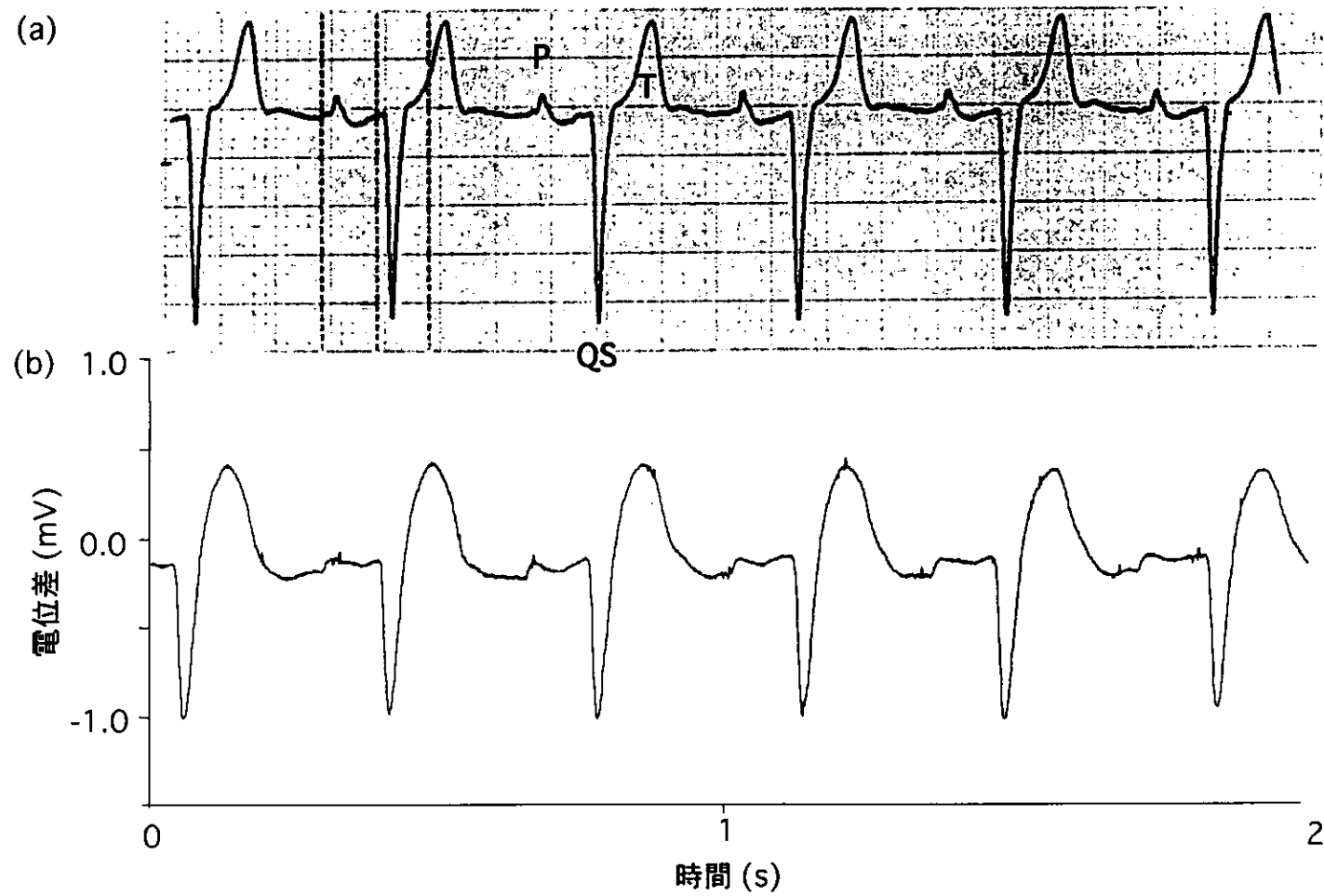


Fig. 2-3 アナログ心電図記録計 (a) とECGロガー (b) によって得られた心電図
(a)は、50目盛り/秒のスピード、アルファベットは、P波、QS波、T波を表す。

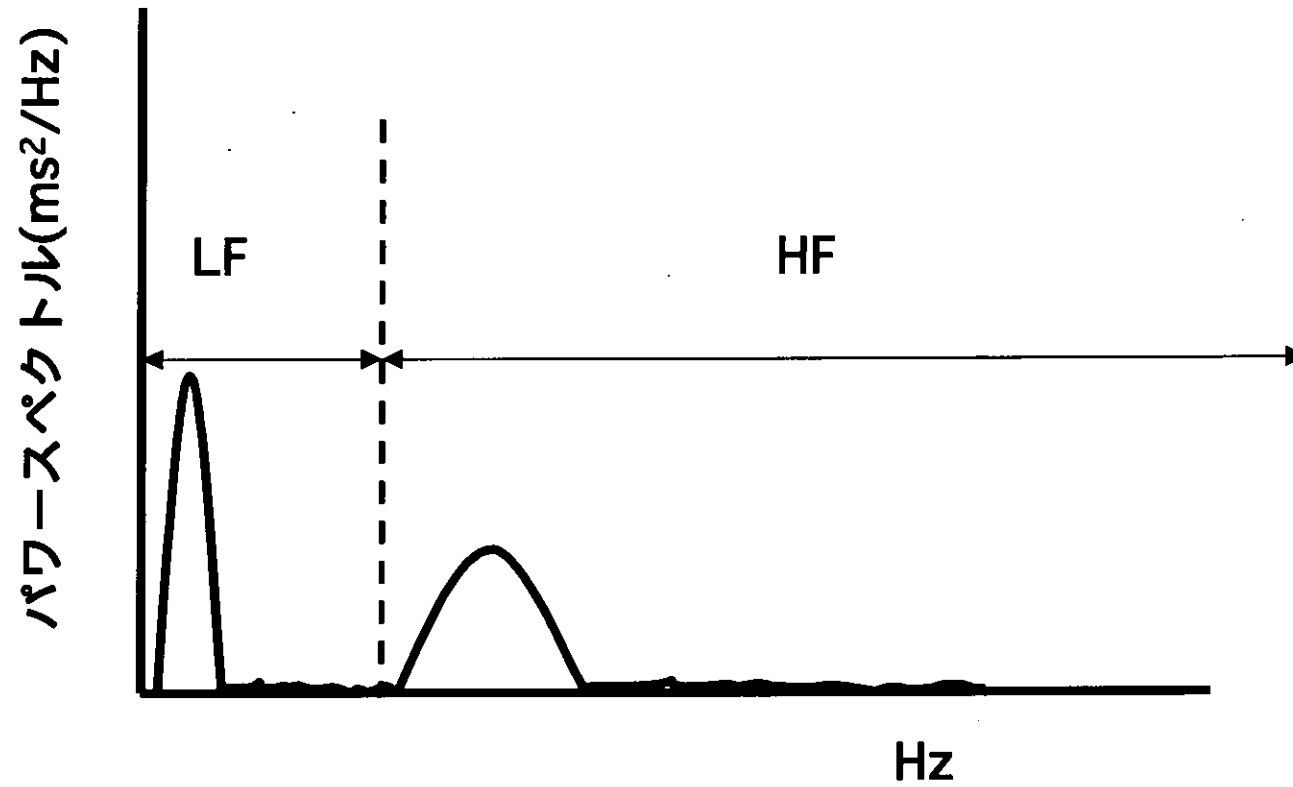


Fig. 2-4 心拍間隔変動のFFT解析より得られるパワースペクトルの模式図
矢印はLF, HFそれぞれの帯域を表す。

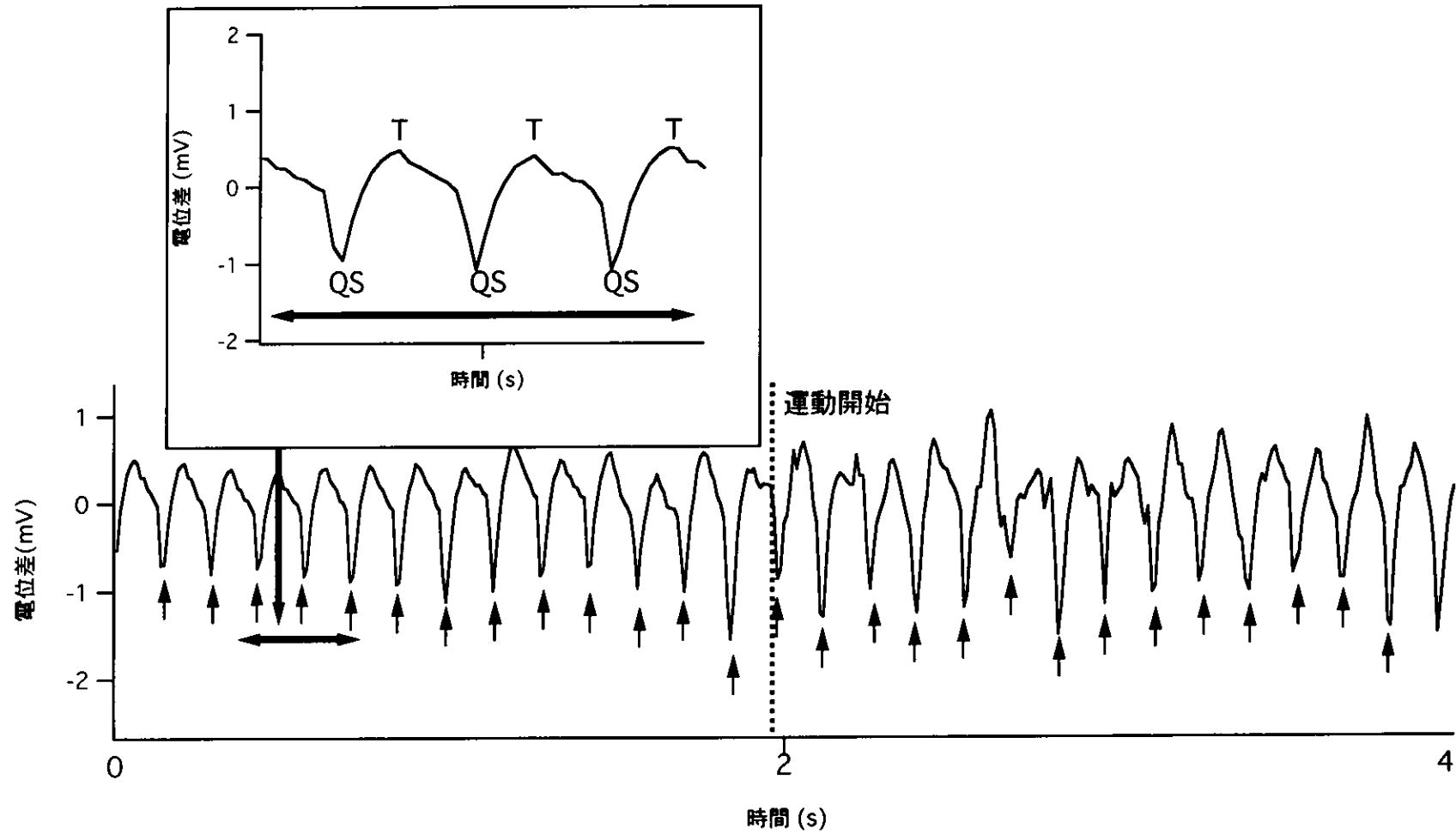


Fig. 2-5 運動時の心電図

↑は、QS波を示す。グラフ中の矢印（ ）で指定された範囲を拡大したグラフを上を示す。



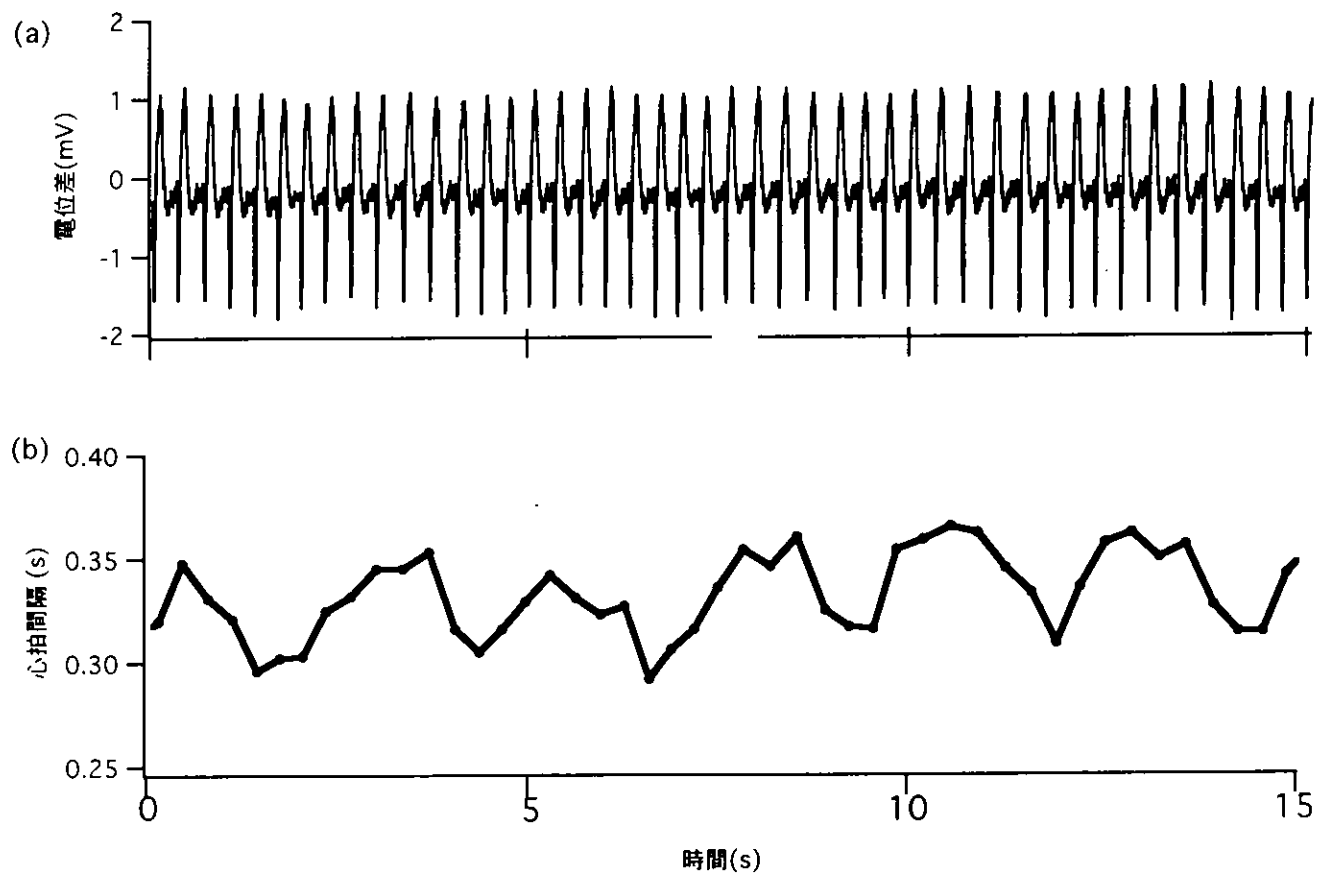


Fig. 2-6 心電図(a)と心拍間隔変動(b)

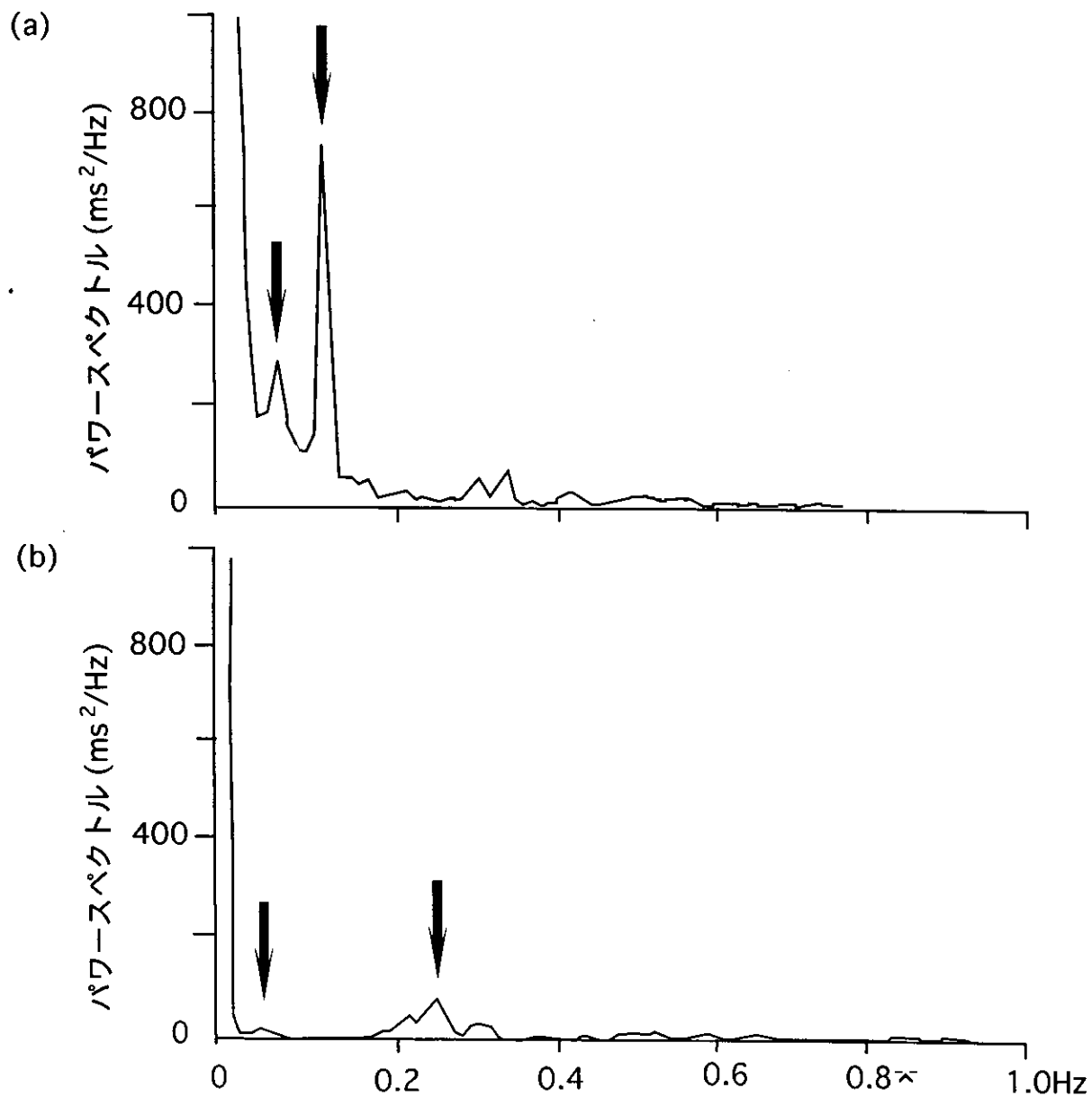


Fig. 2-7 安静時(a)と保定时(b)の典型的なパワースペクトル図
 矢印はLF, HF成分のピークを表している。

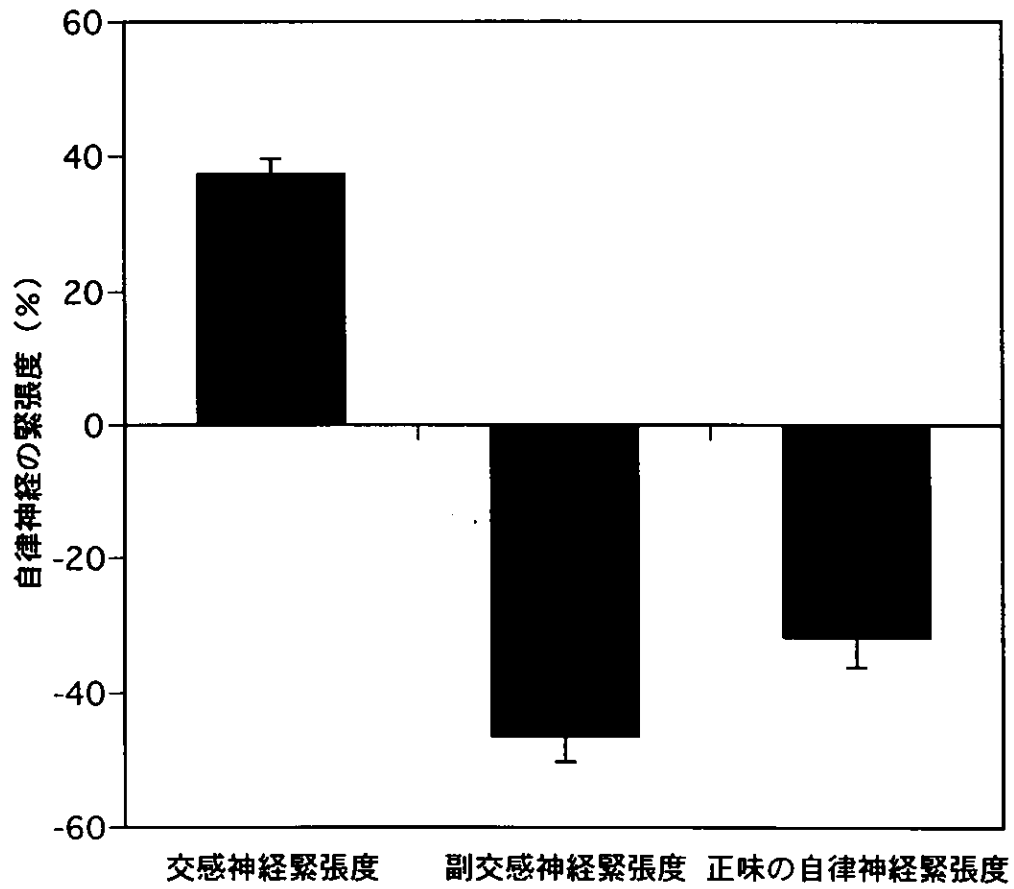


Fig.3-1カワウの自律神経の緊張度
 4羽の平均値を示し、エラーバーは標準誤差を示している。

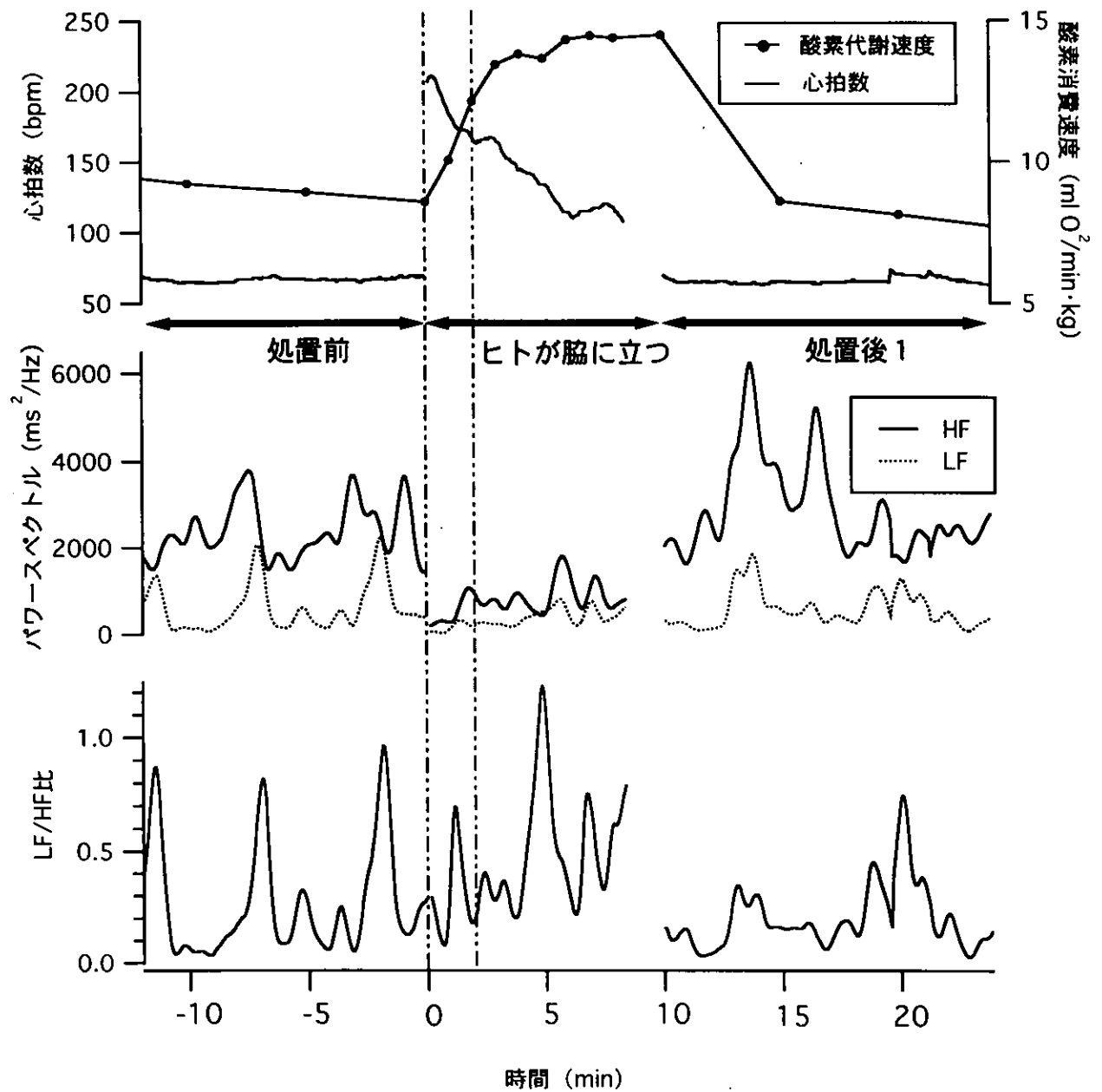


Fig. 5-1 ヒトが脇に立つストレスを与えた時、及びその前後の循環機能と自律神経活動。ストレスを与えはじめた時点を0とした。

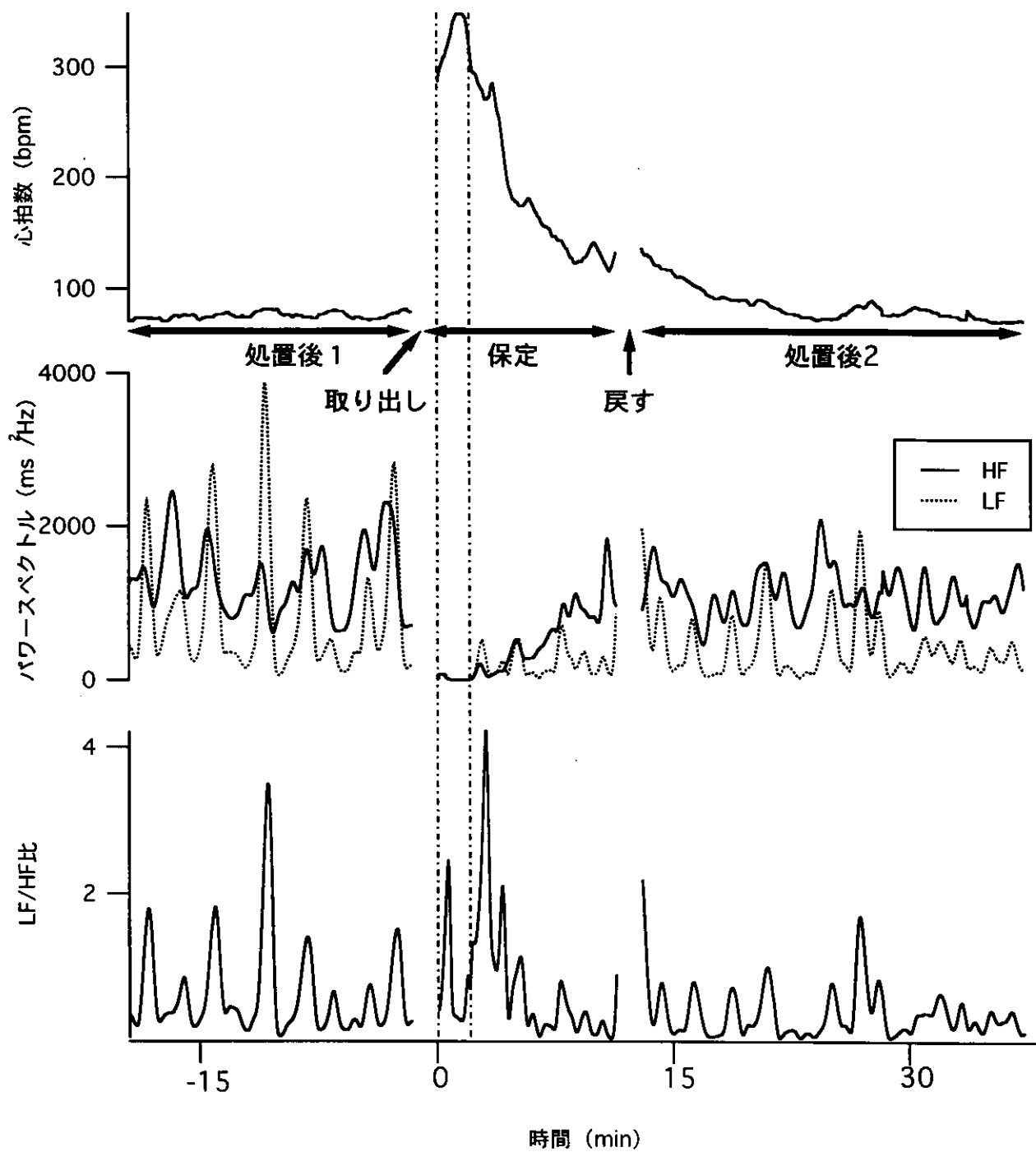


Fig. 5-2 ヒトが保定するストレスを与えたとき、及びその前後の循環機能と自律神経活動。
 ストレスを与えはじめた時点を0とした。

Table 2-1 安静時のカワウ (n=4) の心拍数と心拍変動に関するパラメーター。結果は、すべて平均値±標準誤差で表示した。

統計値	体重(kg)	心拍数 (bpm)*	変動係数 (%)**	総パワースペクトル			
				(ms ² /Hz) *	LF (ms ² /Hz) *	HF (ms ² /Hz) *	LF/HF比**
平均±標準誤差	1.9±0.1	85.5±6.1	12.2±1.0	2362.4±477.2	613.6±121.3	1459.7±266.5	0.365±0.058
最小値	1.8	72.3	10.1	1227.4	296.7	1523.3	0.215
最大値	2.2	101.3	14.6	3279.4	821.1	277.9	0.497
統計値	-	F _[3, 1808] =2403.7	H=361.2	F _[3, 1808] =278.4	F _[3, 1808] =77.8	F _[3, 1808] =298.7	H=171.1

*すべての個体間に $p < 0.0001$ で有意差が見られた (One-way ANOVA, post-hoc test)。

**個体間に $p < 0.0001$ で有意差が見られた (Kruskal-Wallis検定)。

Table 2-2 哺乳類とカワウの体重と呼吸頻度、LF帯域とHF帯域の境界の関係。

種名	体重 (kg)	帯域 (Hz)	呼吸頻度 (Hz)	文献
ラット	0.25-0.3	1	1-2	Hashimoto et al. 1999, Kuwahara et al. 1994
マウス	0.046	1	2-4	Ishii et al. 1996
ハタネズミ (<i>Microtus arvalis</i>)	0.045	1	2-4	Ishii et al. 1996
ミニブタ	22.2-30.2	0.07	0.1-0.5	Kuwahara et al. 1999
イヌ	25-35	0.1	0.25	Pagani et al. 1986
ヒト	73.9	0.15	0.2	Warren et al. 1997
サラブレッド馬	448	0.07	0.1-0.6	Kuwahara et al. 1996
ウシ	-	0.1	-	Clabough and Swanson 1989
カワウ	1.9	0.07	0.078-0.6	本研究

Table 3-1 カワウ (n=4) の心拍数と心拍変動に関するパラメーター。結果は、すべて平均値±標準誤差で表示した。

処置	心拍数 (bpm) *	変動係数 (%) ***	総パワースペクトル (ms ² /Hz)**	LF (ms ² /Hz) **	HF (ms ² /Hz) **	LF/HF比***
コントロール (投与前)	182.1±9.7	9.6±0.8	293.5±68.1 ^a	39.6±17.6 ^a	240.2±74.0 ^a	0.3±0.2
アトロピン	359.0±16.3	2.6±0.5	1.8±0.4 ^b	0.7±0.3 ^b	0.6±0.2 ^b	1.8±0.7
プロプラノロール	142.1±2.4	9.9±0.6	468.7±46.1 ^c	24.9±6.8 ^c	432.4±47.5 ^c	0.07±0.03
アトロピン+プロプラノロール	259.2±15.3	3.9±1.3	15.7±11.7 ^b	6.2±3.7 ^b	1.9±0.8 ^b	2.4±0.5
統計値	F _[3, 3, 9] =18733.5	H=145.8, 140.2, 138.8, 133.4	F _[3, 3, 9] =856.3	F _[3, 3, 9] =65.3	F _[3, 3, 9] =984.1	H= 120.0, 157.6, 140.0, 86.0

*すべての処置間にp<0.0001で有意差が見られた(Two-way ANOVA, post-hoc test)。

**a,b,cの処置間でp<0.0001で有意差が見られた(Two-way ANOVA, post-hoc test)。

***個別に解析を行ったところ、どの個体も処置間にp<0.0001で有意差が見られた (Kruskal-Wallisの検定)。

Table 4-1 酸素消費速度と熱コンダクタンスに関するパラメーター。結果は、すべて平均値±標準誤差で表示した。

種名	体重 (kg)	体温 (°C)	LCT (°C)	環境温度 (°C)	呼吸頻度 (Hz) [*]	酸素消費速度 (ml O ₂ /min·kg) ^{**}	熱コンダクタンス (W/kg·°C) ^{**}	基礎代謝速度 (ml O ₂ /min·kg) ^{***}	引用文献
カワウ (<i>P. carbo hanedae</i>)	1.8±0.1	40.2±0.002		5	0.093±0.005	15.4±1.5 ^a	0.117±0.007 ^a		本研究
				15	0.088±0.007	12.2±0.2 ^b	0.132±0.011 ^a		
				25	0.091±0.009	10.5±0.4 ^b	0.189±0.018 ^a	10.0	
				35	0.11±0.010	11.1±0.1 ^b	0.583±0.052 ^b		
(統計値)					F _[3,12] =1.47, p=0.272	F _[3,12] =7.57, p<0.005	F _[3,12] =62.22, p<0.0001		
カワウ (<i>P. carbo sinensis</i>)	2.56	41.5		-		9.1	-	9.2	Schmid et al. 1995
	2.23	40		12.4		9.8	0.120	9.5	Gremillet et al. 1995
アオメウ (<i>P. atriceps</i>)	2.6	40.6	0	-20		30	0.17		Chappell et al. 1989
	2.6	40.6	0	20		20	0.25	9.1	
アデリーペンギン (<i>Pygoscelis adeliae</i>)	4	38.6-39.6	-10	-20		13.3	0.074		Chappell et al. 1989
	4	38.6-39.6	-10	20		12	0.18		

^{*}すべての温度間に有意差が見られなかった (One-way ANOVA, post-hoc test)。

^{**}a、b間で有意差が見られた (One-way ANOVA, post-hoc test)。

^{***}Schmid et al. (1995) のカワウの基礎代謝速度と体重の回帰式を用いて推定した。

Table 4-2 各環境温度下におけるカワウの心拍数、心拍変動に関するパラメーター。結果は、すべて平均値±標準誤差で表示した。

温度 (°C)	心拍数 (bpm) *	変動係数 (%) **	総パワースペクトル (ms ² /Hz)*	LF (ms ² /Hz)*	HF (ms ² /Hz)*	LF/HF比**
5	132.3±13.4	11.6±1.2	29952.1±6833.2	111.6±39.3	958.8±421.6	0.123±0.006
15	116.1±10.7	12.8±0.9	38555.3±8425.4	181.0±45.6	1389.4±601.5	0.158±0.031
25	100.3±12.1	12.0±0.9	53545.1±13876.0	242.8±51.5	1737.4±746.4	0.179±0.031
35	94.0±8.3	12.2±2.5	59760.2±14527.3	423.3±167.0	2226.9±1465.7	0.282±0.134
統計値	F _[3, 3, 9] =10371.0	H=222.4, 323.8, 438.3, 622.8	F _[3, 3, 9] =6684.5	F _[3, 3, 9] =295.4	F _[3, 3, 9] =1253.0	H=540.6, 54.2, 184.2, 208.5

*すべての温度間にp<0.0001で有意差が見られた(Two-way ANOVA, post-hoc test)

**個別別に解析を行ったところ、どの個体にも温度間にp<0.0001で有意差が見られた (Kruskal-Wallisの検定)。

Table 5-1 人為的ストレスがカワウの酸素消費速度、心拍数、各心拍変動に関するパラメーターに与える影響。結果は、すべて平均値±標準誤差で表示した。

処置	酸素消費速度 (ml O ₂ /min · kg) *	心拍数 (bpm) **	変動係数 (%) ***	総パワースペクトル (ms ² /Hz) **	LF (ms ² /Hz) **	HF (ms ² /Hz) **	LF/HF比***
処置前	10.47±0.45	122.5±35.4	10.9±2.3	1698.2±584.0	335.2±117.7	1127.8±402.3	0.27±0.08
ヒトが脇に立つ	12.28±0.51	185.1±10.9	10.3±2.6	350.9±138.8	95.7±47.5	206.3±92.3	0.47±0.26
処置後1	9.43±0.47	112.5±32.4	11.1±1.9	2080.1±721.8	419.0±174.3	1356.4±436.6	0.28±0.09
ヒトが保定する	-	271.8±28.2	11.0±2.0	127.2±67.1	66.1±44.7	53.3±22.2	0.33±0.23
処置後2	-	124.5±38.3	10.9±1.9	1720.9±592.7	361.1±140.5	1133.3±389.38	0.26±0.08
統計値	F _[3, 12] =6.3	F _[4, 3, 12] =7762.2	H=464.5, 86.2, 84.6, 168.7	F _[3, 4, 12] =173.4	F _[3, 4, 12] =45.5	F _[3, 4, 12] =254.8	H=118.3, 210.9, 64.3, 172.1

*全処置間にp<0.05で有意差が見られた (One-way ANOVA, post-hoc test)。

**全処置間にp<0.001で有意差が見られた (Two-way ANOVA, post-hoc test)。

***個体別に解析を行ったところ、どの個体にも処置間にp<0.001で有意差が見られた (Kruskal-Wallisの検定)。

Table 6-1 様々な動物における自律神経の薬物遮断を行った際の心拍数と自律神経緊張度。

動物種	体重 (kg)	安静時 心拍数 (bpm)	交感神経 遮断薬 投与時 心拍数 (bpm)	副交感神 経遮断薬 投与時 心拍数 (bpm)	固有 心拍数 (bpm)	交感神経 緊張度 (%)	副交感神 経緊張度 (%)	正味の 自律神経 緊張度 (%)	引用文献
ウシ	411-680	62.1	57.4	73	74	-1.4	-22.4	-16.1	Matsui and Sugano 1987
サラブレッド馬	526-655	29.9	33.4	81.4	82	-0.7	-59.3	-63.6	Matsui and Sugano 1987
ポニー	203-305	44.1	44.6	97.4	95.5	2.0	-53.3	-53.9	Matsui and Sugano 1987
ブタ	160-250	109.5	89.9	158	108.9	45.1	-17.4	0.5	Matsui and Sugano 1987
ヤギ	25-33	85.1	74.8	130.8	110.2	18.7	-32.1	-22.8	Matsui and Sugano 1987
イヌ	30	73	75	172	127	35.4	-40.9	-42.5	Palaszolo et al. 1998
ミニブタ	22.2-30.2	80	67	187	126.3	48.1	-47.0	-36.7	Kuwahara et al. 1999
マスカラット (<i>Ondatra zibethicus</i>)	0.8-1.0	195	190	288	-	-	-	-	Signore and Jones 1995
ラット	0.3-0.4	337.1	327.9	394.7	372.7	5.9	-12.0	-9.6	Kuwahara et al. 1994
マウス	0.046	627.8	499.2	692	543.7	27.3	-8.2	15.5	Ishii et al. 1996
ハタネズミ (<i>Microtus arvalis</i>)	0.045	480.7	412	562.9	479.4	17.4	-14.1	0.3	Ishii et al. 1996
カワウ	1.9	88.2	142	359	259	38.6	-45.2	-65.9	本研究
コスズガモ (<i>Aythya affinis</i>)	0.6	190	141	373	322	15.8	-56.2	-41.0	McPhail and Jones 1999
ニワトリ	0.8-1.0	346.7	246	365	253.4	44.0	-2.9	36.8	Matsui and Sugano 1987