

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：82706

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06754

研究課題名(和文) 深海底生生物の幼生の行動と環境応答

研究課題名(英文) Behavior and environmental responses of deep-sea animal larvae

研究代表者

宮本 教生 (Miyamoto, Norio)

国立研究開発法人海洋研究開発機構・超先鋭研究開発部門(超先鋭研究開発プログラム)・研究員

研究者番号：20612237

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：深海底の限られた環境にのみ生息する生物が、いかにして分散しているのかは謎に包まれている。本研究では、深海鯨骨域に特異的に生息するホネクイハナムシ *Osedax japonicus* をモデルとして、深海底の生物の分散メカニズムを明らかとすることを目的とした。研究期間を通じて、幼生の繊毛帯や神経系の発生を詳細に記載し、また幼生の生存期間や温度耐性などから、ホネクイハナムシ幼生は、発生過程を通して表層に浮上することなく、深海の低層流に乗って分散することが明らかとなった。またセロトニン作動性ニューロンの幼生の遊泳行動への関与が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物の分散は、生息場所の拡大や他の個体群との遺伝的な交流をもたらす生態学的・進化生物学的に重要な過程である。深海生物は採集や飼育が困難であることから、具体的な分散過程が解明されている種は存在していない。ホネクイハナムシは唯一安定して継代飼育が可能な深海生物であり、幼生の飼育を通して行動や分散過程を解明した本研究は、深海の生態学的研究に新たな知見をもたらすものである。また深海生物の分散メカニズムを理解することは、海洋生物の保全をどのように行うべきなのかの判断材料となる。

研究成果の概要(英文)：Many organisms live only in limited environments on the deep sea floor, such as hydrothermal vents and whalefall area. It is not well understood how these organisms disperse and arrive at new habitats. In this study, we aimed to elucidate the dispersal mechanism of organisms on the deep-sea floor, using the bone-eating worm *Osedax japonicus*, which is unique to the deep-sea whalefall ecosystem, as a model. We described the development of the larval ciliary bands and nervous system in detail. We also examined the survival period and temperature tolerance of the larvae. The results suggested that the larvae of *O. japonicus* do not float in the surface throughout their development but disperse by bottom currents near the sea floor. The involvement of serotonergic neurons in larval swimming behavior was also revealed.

研究分野：海洋生物学

キーワード：プランクトン幼生 分散 行動 神経系 発生

1. 研究開始当初の背景

深海底には熱水噴出孔や鯨骨域など局所的または一時的な生態系が存在する。そしてそのような場所のみ生息する固有な生物種が多数知られている。それら固有種がどのように個体群を維持しているのかを明らかとすることは、海底の生態系を理解する上で重要なことである。なかでも固着性もしくは移動能力の低い生物の場合、深海底に点在する生息地間の移動は浮遊幼生期に海流により分散しなければならない。すなわち局所的に存在する特異な環境の生物の個体群の維持・分散の仕組みを理解するためには、その生物種の幼生期の長さや行動、そしてどのようにその特異な生息地を探し、そこに着底するのかを明らかとしなければならない。しかしながら、深海底の特異な環境に生息する生物は飼育が困難な種が多く、受精卵を得てその浮遊幼生を長期間飼育し、着底変態させるまでを観察することが可能な種はほとんど存在していない。そのため深海底の特異な環境に生息する生物の分散メカニズムの多くは謎に包まれている。

2. 研究の目的

本研究では、深海鯨骨域に特異的に生息するホネクイハナムシ *Osedax japonicus* をモデルとして、深海底の生物の分散メカニズムを明らかとすることを目的とした。ホネクイハナムシは現在深海性の無脊椎動物で、唯一実験室内で安定して継代飼育することが可能な種であり、深海生物の分散メカニズムの研究を行うのに最適な種である。具体的にはホネクイハナムシの幼生期間と発生段階における行動、幼生の行動を制御する神経の発生過程、幼生の行動に影響を与える環境要因を明らかとし、それらの知見を統合することで、ホネクイハナムシの幼生が、どのくらいの期間水塊中に浮遊し、どのような経路で分散し、最終的な着底場所を探し出すのか。そしてその間の行動を制御する神経系や遊泳運動を行う繊毛がいつ発生するのか。それぞれの神経細胞タイプがどのように行動の制御に関わっているのかを明らかとすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、(1) 幼生期間と発生過程における行動の変化、(2) 幼生の行動を制御する神経系と運動器官である繊毛の発生、(3) 幼生の行動に影響を与える環境要因の3つを解明すること目的とした。

(1) 幼生期間と発生過程における行動の変化では、まず成体の生息する水温で幼生を飼育し、幼生の発生過程を詳細に観察するとともに、何日間幼生が生存するかを明らかとした。そして発生過程の観察から幼生の発生段階を5段階にわけ、それぞれの発生段階において、幼生の行動を観察した。

(2) 神経系と繊毛の発生では、(1) で設定した5つの発生段階において、抗アセチル化チューブリン、抗セロトニン抗体、抗 FMRF アミド抗体を用いて抗体染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。

(3) 幼生の行動に影響を与える環境要因については、幼生をさまざまな温度で飼育し、その環境における生存日数を明らかとした。また MIP (Myoinhibitory peptide) やセロトニンなどの神経伝達物質を幼生の飼育水槽に添加し、その遊泳パターンの変化を記録した。

4. 研究成果

(1) 詳細な発生過程を顕微鏡下で観察し、幼生の発生段階をステージ 1-5 の5段階にわけた。ステージ 5 には発生開始後5日で到達し、それ以降は形態的な変化はみられなかった。具体的には、ステージ 1: 前トロコフォア幼生期。口前繊毛環が形成され始めその場でぐるぐる回るようになる。ステージ 2: 初期トロコフォア幼生期。口前繊毛環が発達し前方に向かって回転しながら泳ぐ。ステージ 3: トロコフォア幼生期。端繊毛環形成。ステージ 4: 初期メタトロコフォア幼生。3体節形成され、体は細長くなり、活発に泳ぐ。ステージ 5: メタトロコフォア幼生。変態能を獲得。底面をつつくようなパターンの遊泳が見られる。

幼生を成体の生息環境である 11 の海水で飼育した場合、生存日数の中央値は 14 日であり、最長で 22 日生存した。その結果、本種の幼生は約 2 週間という短期間に次の生息地である鯨類の遺骸にたどり着く必要があることが明らかとなった。

(2) 幼生の遊泳器官である繊毛と神経細胞を抗アセチル化チューブリン抗体で、セロトニン作動性、FMRFamide 作動性ニューロンをそれぞれ抗セロトニン抗体、抗 FMRFamide 抗体で抗体染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。ステージ 1 では上記の口前繊毛環の他、頂器官の形成が抗アセチル化チューブリン抗体染色より確認された。ステージ 2 では口前繊毛環が 3 つの細胞列として形成され、繊毛帯を裏打ちする様に神経環が形成され、また脳や食道神経環なども形成された。一部の神経細胞は抗セロトニン抗体、抗 FMRFamide 抗体で染色された。ステージ 3-5 では、徐々に神経細胞が増加するとともに、それらを連絡する神経繊維も発達した。これらの結果

をまとめた模式図を図 1 に示す。

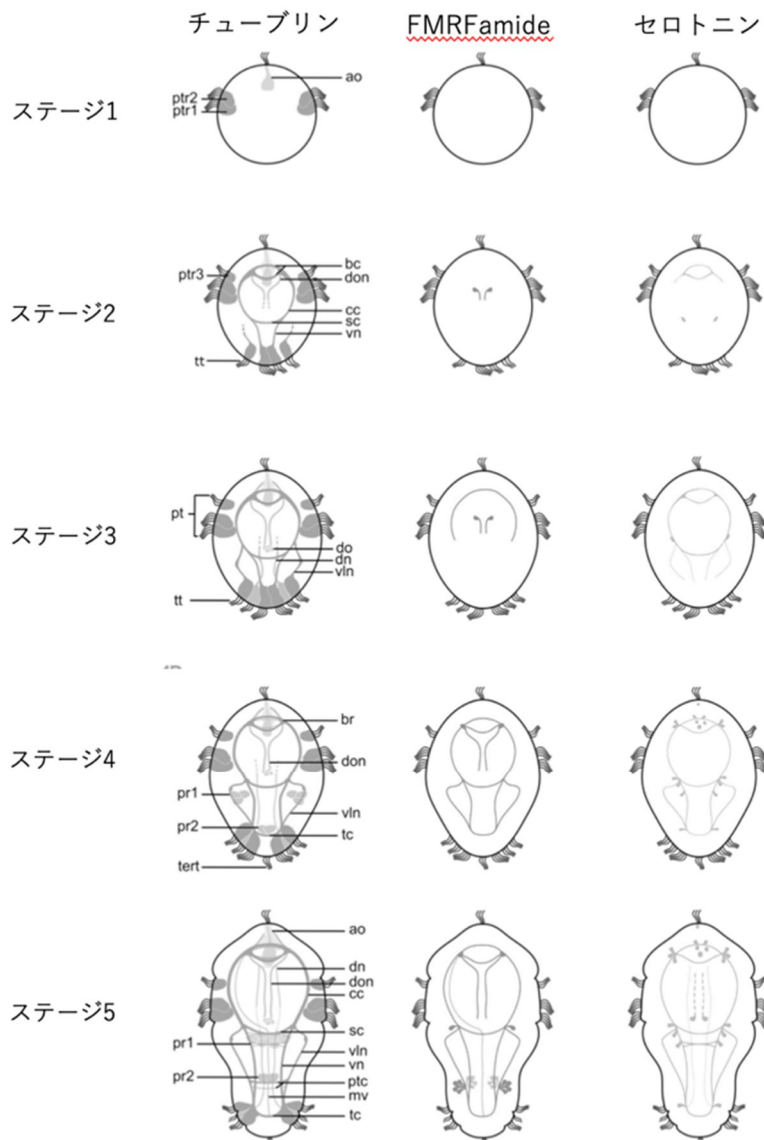


図 1. 各発生ステージにおける繊毛帯と神経系の模式図

(3) ホネクイハナムシの浮遊幼生を 4、8、12、16、20 の海水で飼育したところ、4、8、12 においては、成体の生息地の海水温である 11 と同様の期間生存した。一方で 16 と 20 で飼育した場合は数日以内に全ての個体が死亡した。また 16 と 20 では幼生の遊泳行動が見られず、飼育容器の底に沈んでいた。以上のことはホネクイハナムシの幼生は、孵化した後表層に上浮することなく、低層流に乗って分散しており、もし温度の高い表層に上浮してしまった場合は遊泳行動を停止することで適した生息温度である水深まで潜っていることを示唆している。

幼生の行動への神経ペプチドや神経伝達物質の影響を評価するために、他の多毛類で着底変態に関与していることが知られている MIP や遊泳行動に関与していることが知られているセロトニンを、幼生を飼育している水槽に添加し、行動の変化を記録した。MIP を添加した場合は、溶媒である DMSO のみを添加した対照実験と行動に違いはなかった。セロトニンを添加した場合は、幼生は高速で旋回する行動を示した。その際遊泳速度は上がり、旋回半径も小さくなった。抗体染色の結果から、セロトニン作動性ニューロンは一部の繊毛細胞に投射していることが明らかとなっている。そのことからセロトニン作動性ニューロンは幼生の遊泳行動のうち速度や方向性などを制御していることが示唆された。

研究期間を通じて、幼生の繊毛帯や神経系の発生を詳細に記載し、また幼生の生存期間や温度耐性などから、ホネクイハナムシ幼生は深海の低層流に乗って分散することが明らかとなった。またセロトニン作動性ニューロンの幼生の遊泳行動への関与が明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Worsaae Katrine, Rouan Alice, Seaver Elaine, Miyamoto Norio, Tilic Ekin	4. 巻 18
2. 論文標題 Postembryonic development and male paedomorphosis in Osedax (Siboglinidae, Annelida)	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1-18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnins.2024.1369274	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
デンマーク	コペンハーゲン大学			
ドイツ	ゼンケンベルグ自然史博物館			