

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 25 日現在

機関番号：13802

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23770062

研究課題名(和文)フナムシの超微細構造による吸水メカニズムーその機能の不安定性と補償システム

研究課題名(英文)Water uptake via ultrafine structure existed on legs of *Ligia exotica*-Its unstable performance and compensation system

研究代表者

堀口 弘子(Horiguchi, Hiroko)

浜松医科大学・医学部・教務員

研究者番号：50324356

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：フナムシは成虫脱皮を繰り返し体サイズを大きくしていくが、これに伴って吸水機能における不安定性の要因として「汚れの付着」が脱皮の間にどの程度生じているのかを明らかにするため、走査型電子顕微鏡像を用いた画像解析を行った。その結果、脱皮前の個体では脱皮直後の個体に比べて、列構造に多くの汚れが付着していることが明らかになった。

また本研究では、フナムシの幼生も成体と類似した吸水構造を持つことを明らかにした。フナムシの幼生は付属肢を6対しか持たないため、成体の持つ、吸水のための列構造は持たないと考えられてきた。しかし、今回の画像解析では幼生の第5・6肢に類似の構造が存在することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)： *Ligia exotica* repeatedly molt and every time molt it increase body size. To clarify a degree of adhesion dirty things as a factor of instability in the water absorption, we analyzed electron scanning microscope image. As a result, there were found many stains on the cuticular protrusions of just before the molting compared to immediately after the molting.

Besides, it was revealed that the larvae of *L. exotica* also has a water-absorbing structure similar to the adult. Since the larvae of *L. exotica* have only the six pairs appendage, they have been considered to have no cuticular protrusions for water absorption. We demonstrated the presence of similar structure to the fifth and sixth pereopods of larvae in this image analysis.

研究分野：動物生理学

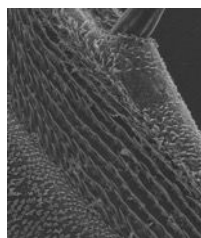
キーワード：フナムシ 吸水行動 脱皮 列構造 走査型電子顕微鏡

1. 研究開始当初の背景

(1)動物が獲得した口器以外の集水・吸水メカニズムについての知見は極めて乏しく、これまでに砂漠に棲息する甲虫の一種が体表に存在する親水度の異なるクチクラを利用して大気中の水分を集めて飲んだり(Parker & Lawrence, 2001)、同じく砂漠棲のトカゲの一種が雨後の濡れた砂に差し込んだ脚から表面張力で吸い上げ、体表の鱗の隙間にある微小な溝を伝わらせて口まで水を集めて運搬して飲むことなどが知られている(Sherbrooke, 2004)のみである。等脚目に属するフナムシ類もまた、体表の構造を用いた独特な吸水様式を獲得したグループである。私はこれまでの一連の研究(例えばHoriguchi et al., 2007)により、フナムシ(*Ligia exotica*)が2本の後肢(第6肢と第7肢)を密着させることで、以下のような吸水を行うことを明らかにしてきた。

- ・ フナムシに水分を提示すると、第6肢と第7肢をこすり合わせた後、2本の脚を揃えてその間に水を流して脚の付け根付近にある鰓に運ぶ。
- ・ 左右にある2対の後肢(第6・7肢)が互いに接する面には、クチクラ表皮が突出した長さ約30 μm の微細な毛が直線上に並び、列構造を形成している(図1)。

図1 フナムシの後肢表面に存在するクチクラが突出した列構造の走査型電子顕微鏡写真。



- ・ 水はこの列構造を伝って上昇するが、脚を単離した状態でも水は列構造のみを伝って重力に逆らった移動をすることから、列構造の構造と物性による受動的な吸水である(図2)。

図2. 単離したフナムシの後肢を水に浸けると、微細列構造に沿った水の上昇が観察される。



- ・ 列構造は第6肢と第7肢で異なる節に存在し、列構造の部分でのみ水の上昇が観察される。すなわち、最終的に水が鰓まで運ばれるためには、フナムシが二本の脚を揃えなければならず、吸水の安全装置としてはたらいっており、フナムシによる摂水行動の能動的なコントロールを可能としている。

このような特殊な吸水様式の獲得は、乾燥耐性と密接な関係があると考えられる。等脚目は腹部に呼吸器官としての鰓を持つ。鰓を用いたガス交換において水分は不可欠である。陸棲の等脚目の中で、最も乾燥に適応したと考えられているダンゴムシなどでは、体表クチクラが厚いため水分蒸散量が少なく、さらに鰓の一部に昆虫気管に似た構造を発達させることにより空気中から直接酸素を取り込むことが可能になっている。これに対して海辺のみに棲息するフナムシはクチクラの厚さが薄く、周囲の水蒸気からの水の取り込みも少ないため(Wright et al. 1993)、体表面からの水分蒸散量が多い。すなわち陸上生活する

フナムシは、クチクラの肥厚とは異なった、強力な吸水システムという別の乾燥適応戦略を進化的に獲得したと私は考えている。

2. 研究の目的

乾燥耐性の低さを精密な構造による強力な吸水システムによって補う、という適応は、2つの危険性を内包している。1つは「構造への汚れの付着」であり、もう1つは「環境ストレスや老化による構造の摩耗」である。微細で精密な構造は、我々が予想もしない影響を受ける。その顕著な例がゴミなどの微細な粒子による機能変化である。例えば、ミツバチのクチクラの撥水機能は、付着物により極めて大きな影響を受けることが知られる。また、昆虫のクチクラは微細な粒子に曝されることでクチクラに傷が付き、ワックス層の体表炭化水素が減少することが報告されている。微粒子が懸濁した海水を何度も吸水することで、フナムシの脚に存在する表皮表面の微細構造は物理化学的に変化し、その機能に大きな影響を与えていると予想される。しかし、乾燥耐性という補償システムを獲得しなかったフナムシ類は、これらの危険性をなんらかの方法で補償しなければ生存できない。本研究は、生物構造ゆえの「汚れ」と「摩耗」の問題を、生物がどのような不安定性として直面しており、どう解決しているのか、という観点から、フナムシ類の吸水システムをモデル系として明らかにするものである。

3. 研究の方法

(1) 走査型電子顕微鏡による脱皮前後の列構造の観察. 脱皮直前(約1-2日前)と脱皮直後(約1日後)のフナムシの個体から自切によって採取した第6・7肢を

Glutaraldehyde と Paraformaldehydeを含んだ一次固定液によって固定し、その後二次固定、凍結乾燥、オスミウムコーティングを経て、走査型電子顕微鏡を用いた観察を行った。

(2) 幼体付属肢の組織学的観察. 親個体から放出された幼生を放出後2週間後から2日おきにサンプリングした。サンプリングした個体はGlutaraldehyde と Paraformaldehydeを含んだ一次固定液内に入れて固定した。常法によりパラフィン包埋したのち6 μmの組織切片を作製した。その後脱パラ、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した後、光学顕微鏡を用いて組織学的観察を行った。

4. 研究成果

(1) 脱皮前後における列構造への汚れの付着を、走査型電子顕微鏡を用いて観察した結果、脱皮前の個体では列構造の中に多くの汚れの付着が見られた。汚れは列構造の根元だけではなく、クチクラ突起の先端まで及んだ(図3a)。

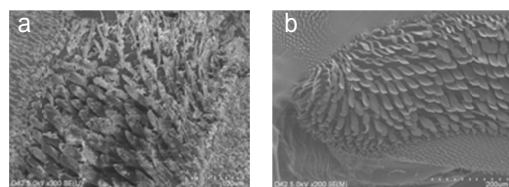


図3. 脱皮前後における列構造の走査型電子顕微鏡写真. a. 脱皮前. 列構造の根元からクチクラ突起の先端までびっしりと汚れが付着している。 b. 脱皮直後. 汚れの付着はほとんど見られない。

第6肢では3・4・5節にかけて列構造が存在しており、節と節の境目の部分では節間の窪みを超えて水を吸い上げるために毛の列が水を溜める貯水槽の役割を果たしていることが明らかになった(Ishii et al., 2013)。この節の境目の部分においては特に汚れの付着が多く見られた(図4)。

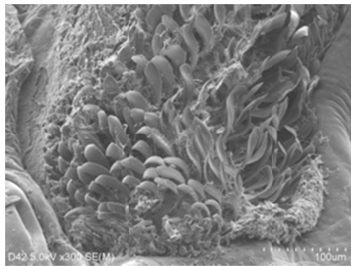


図4. 節と節の境目における列構造の走査型電子顕微鏡写真。列構造の根元の部分に特に多くの汚れの付着が見られる。

また、第2節の溝の中央部分には給水行動に関連すると考えられる感覚毛が一定間隔で存在しているが(図5a)、この感覚毛を完全に覆ってしまうような汚れの存在も確認された(図5b)。

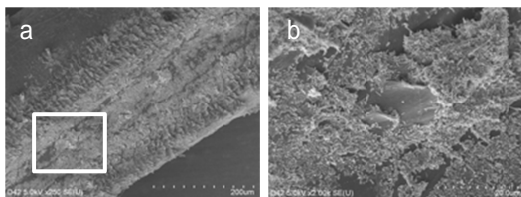


図5. 脱皮前の第2節の走査型電子顕微鏡写真。a. 第2節の中央には溝状の窪みがあり、その中央部分には一定間隔で感覚毛が並んでいる。溝の中にも汚れがぎっしりと詰まっている。b. 感覚毛の拡大図(aの白枠部分)。感覚毛の先端に汚れが付着して完全に覆われている。

一方、脱皮直後の個体では、列構造やクチクラ突起にも汚れの付着はほとんど見られず、脱皮によって汚れが一掃されたことが明らかになった(図6, 図7)。

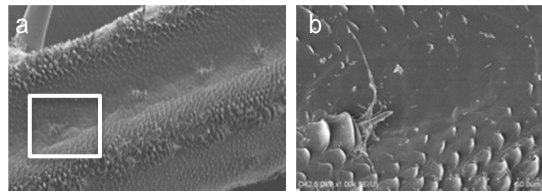


図6. 脱皮直後の第2節の走査型電子顕微鏡写真。a. 第2節中央の溝状の窪み。中央部分に規則的に配列された感覚毛がはっきりと見て取れる。b. 感覚毛の拡大図(aの白枠部分)。脱皮前には汚れの付着により埋もれていた感覚毛が脱皮によって完全に露出している。

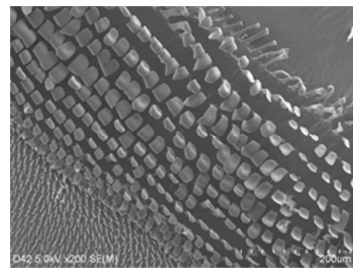


図7. 脱皮直後の列構造の走査型電子顕微鏡写真。汚れの付着がほとんどなく、列構造の根元もクチクラ突起の先端もきれいな状態が保たれている。

(2)フナムシ幼生における微細列構造の存在について。フナムシの幼生は付属肢を6対しかもたず、母個体からの放出後、初めての脱皮で7対の足を持つようになる。そのため、第6・7付属肢を揃えることによって初めて可能となるフナムシの脚を用いた給水機構は幼生にはないと考えられてきた。しかし、本研究ではフナムシ幼生の脚表面における走査型電子顕微鏡観察により、フナムシ成体の持つ列構造に非常に類似した構造を幼生が持つことを明らかにした(図8)。

本研究により、フナムシは脱皮ごとに列構造に蓄積された汚れを取り去ることができるということが明らかになった。列構造の形状や列構造表面の物性はオープンキャピラリーとしての吸水性能に関係することが考えられる。そこで今後は汚れの付着が列構造表面の親水性あるいは疎水性にどのような影響を及ぼすのかについてさらなる研究を進めていく。

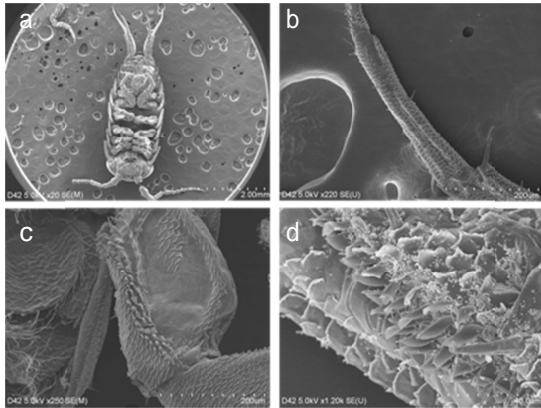


図8 .フナムシ幼生の走査型電子顕微鏡写真 .a.フナムシ幼生の全体像。付属肢が6対しかない。b.第5肢2節に見られる溝構造。c.第6肢6節の列構造。d.第5肢3節の列構造。

<引用文献>

Parker, A. R. & Lawrence, C. R. Water capture by a desert beetle. *Nature* **414**, 33-34 (2001).

Sherbrooke, W. Integumental water movement and rate of water ingestion during rain harvesting in the Texas horned lizard, *Phrynosoma cornutum*. *AMPHIBIA-REPTILIA* **25**, 29-39 (2004).

Horiguchi, H., Hironaka, M., Meyer-Rochow, V. & Hariyama, T. Water uptake via two pairs of specialized legs in *Ligia exotica* (Crustacea, Isopoda). *BIOLOGICAL BULLETIN* **213**, 196-203 (2007).

Wright, J. C. & Machin, J. Atmospheric Water Absorption and the Water Budget of Terrestrial Isopods (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *BIOLOGICAL BULLETIN* **184**, 243-253 (1993).

Ishii D., Horiguchi H., Hirai Y., Yabu H., Matsuo Y., Ijio K., Tsujii K., Shimozawa T., Hariyama T., Shimomura M.: Water transport mechanism through open capillaries analyzed by direct surface modifications on biological surfaces. *Sci Rep.* 2013 Oct 23;3:3024. doi: 10.1038/srep03024.

5.主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

Nunomura N., Horiguchi H., Sasaki T., Hironaka M., Hariyama T. (2011) A new species of the genus *Ligia* (Crustacea: Isopoda: Ligiidae) from steep streams of Chichijima and Anijima Islands of the Ogasawara Islands. *Bulletin of the Toyama Science Museum* **34**: 73-79. (査読あり)

Ishii D., Horiguchi H., Hirai Y., Yabu H., Matsuo Y., Ijio K., Tsujii K., Shimozawa T., Hariyama T., Shimomura M.: Water transport mechanism through open capillaries analyzed by direct surface modifications on biological surfaces. *Sci Rep.* 2013 Oct 23;3:3024. doi: 10.1038/srep03024. (査読あり)

〔学会発表〕(計2件)

石井大佑、堀口弘子、針山孝彦、下村政嗣「フナムシの脚の微細突起構造を模倣した水輸送流路の開発」第22回ポリマー材料フォーラム(タワーホール船堀、2013年11月29日)

石井大佑、伊藤嵩人、谷茉莉、奥村剛、堀口弘子、針山孝彦、下村政嗣「フナムシの脚のオープン流路構造の解明と模倣流路の設計」第63回高分子学会年次大会(名古屋国際会議場、2014年5月30日)

6. 研究組織

(1)研究代表者 堀口 弘子(HORIGUCHI, Hiroko) 浜松医科大学・医学部・教務員
研究者番号: 50324356

(2)研究協力者 針山 孝彦(HARIYAMA, Takahiko) 浜松医科大学・医学部・教授