

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 13 日現在

機関番号：16401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25840160

研究課題名(和文)社会性を持つ寄生虫：カースト比率の決定要因の解明

研究課題名(英文) Social trematodes: What factors determine the caste ratio in their colonies?

研究代表者

三浦 収 (Miura, Osamu)

高知大学・教育研究部総合科学系複合領域科学部門・准教授

研究者番号：60610962

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：社会性を持つ二生吸虫は、繁殖を担うカーストと繁殖個体を敵から守る兵隊カーストに分業することで効果的にコロニーを維持している。本研究では、これらの2つのカーストの比率がどのような要因により決定されているのかを検討した。その結果、二生吸虫のカースト比率は外敵との競争圧の影響をあまり受けていないことが明らかになった。おそらく、コロニー内の個体密度や栄養状態または遺伝的要因等の他の要因がカースト比率に影響を与えているものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Social trematodes effectively maintain their colonies by reproductive division of labor between reproductive and soldier individuals. I conducted a series of ecological analyses to evaluate which ecological factors determine the caste ratio in their colonies. I found that the caste ratio of trematodes was fairly constant irrespective of the strength of competitive pressure against other trematodes, demonstrating that competitive pressure is not the factor which affects the caste ratio. I suggest that density of colony members and/or amount of nutrients available for a colony are other potential candidates determining the caste ratio in trematode sociality.

研究分野：進化生態学

キーワード：社会性 二生吸虫 カースト比率

1. 研究開始当初の背景

集団生活をする動物には、しばしば高度な役割分担がみられることがある。ある個体は繁殖に従事し、そして他の個体は、餌の確保やコロニーの防衛に専念する。このような役割分担の構造や成因は古くから多くの研究者の議論の対象になってきた。時には自己犠牲的な利他行動を伴う役割分担の至近的な目的はコロニーの存続である。しかし、調和のとれた役割分担をするのは容易なことではない。なぜなら、繁殖個体が増えすぎるとコロニーの防衛や餌の確保が難しくなり、逆に、非繁殖個体が増えすぎると産子数が減りコロニーの成長が妨げられるからである。したがって、繁殖個体と非繁殖個体には、それぞれの生息環境に最適な比率があることが考えられる。

2. 研究の目的

社会性生物のカースト比率は、どのような要因により形作られているのであろうか？アリ・ハチ・アブラムシなどの社会性昆虫では繁殖個体の存在やコロニー内の個体密度が非繁殖個体の出現に深く関わっていることが指摘されている。また、一部の社会性昆虫では状況に応じて非繁殖個体から繁殖個体への変化が起こることも報告されている。しかし、研究が進んでいるのは一握りの生物に過ぎない。一般に、複雑な社会構造をもつ生物では様々な要因が錯綜してしまい、その中からカースト比率を決定する要因を特定するのは容易なことではない。したがって、この研究を効率よく達成するには、より原始的な社会構造を持ち、さらに、その生物を取り囲む環境要因も単純化できる研究システムが理想的である。最近、この謎を解く上で有効な社会性生物が発見された。それは、潮間帯巻貝に寄生する扁形動物の仲間、二生吸虫である。

二生吸虫は巻貝を第一中間宿主として、魚類や鳥類などを終宿主とする寄生虫である。巻貝に感染した二生吸虫は貝の体内で単為生殖を行い、レジアという遺伝的に同質なクローン幼生を大量に生み出してコロニーを形成する。社会性が報告された一部の二生吸虫のレジアは、セルカリア幼生を生産する繁殖レジアと、生産には関わらずに外敵の排除に特化した兵隊レジアの二つのタイプに分化する。兵隊レジアは繁殖レジアよりも小型であるが活動的であり、コロニーへの侵入者を排除する役割を果たしている。これに対して、繁殖レジアは攻撃行動をほとんど行わない。二生吸虫は、このような繁殖と攻撃という単純かつ明確な役割分担をすることで、より効果的に子孫を残す戦略をとっている。

本研究では、この二生吸虫を用いてどのような環境要因がカースト比率の決定に関わっているのかを室内及び野外実験から検討した。

3. 研究の方法

(1) 飼育実験

カースト比率の決定要因を直接的に検討する

最良の方法は室内での実験系を確立し、様々な要因をコントロールすることである。したがって、本研究ではまず始めに室内での寄生虫の飼育方法の確立を目指した。

本研究に用いたのは潮間帯の巻貝ホソウミナに寄生する二生吸虫 *Philophthalmid* sp. I である。この寄生虫には繁殖と兵隊カーストがあることが私の以前の研究により明らかとなっている。野外においてホソウミナを採集し、研究室に持ち帰り解剖することで *Philophthalmid* sp. I を見つけ出して培養実験に用いた。

実験には組成の異なる下記の3種類の培養液を用いて寄生虫の生存率を比較した。培養液の一つは Leibovitz-15 粉末と人工海水・ニワトリ血清・各種抗生物質を混ぜ合わせた Lloyd & Poulin (2011) で報告されている培地 (LP2011 培地)、もう一つは、LP2011 培地に加熱した宿主の組織の抽出液を加えたもの、そして最後の一つは、LP2011 培地に非加熱の宿主の抽出液を加えた培地である。宿主の抽出液を加えたのは、宿主の持つ何らかの物質が寄生虫の生存や成長に必須である可能性があるからである。この培養液の中に *Philophthalmid* sp. I の繁殖個体及び兵隊個体を入れて室温で飼育し、定期的に生存個体の数を記録した。

さらに、上記の実験で最も良い結果を出した培地 (LP2011 培地単体) を用いて、培地にアガロースまたはゼラチンを加えることで固形培地を作成して宿主の体内環境に質感を近づけることを試みた。4 と 20 の二つの条件で実験を行い、二生吸虫の生存率を比較した。

(2) 野外実験

兵隊レジアはコロニーを守るために外敵と戦うという役割を担っている。したがって、外敵の侵入頻度などのコロニーを取り巻く環境要因もカースト比率の決定に大きな影響を与えることが考えられる。外敵の量は寄生率で近似することができる。二生吸虫の寄生率は地点により大きなばらつきがあることが分かっているので、本研究では、二生吸虫の寄生率が高い地点と低い地点で *Philophthalmid* sp. I のカースト比率を比較し、外敵の多い場所で兵隊の比率が高くなるかを検討した。また、本研究を進めている過程で、ホソウミナナの近縁種であるウミミナにも *Philophthalmid* sp. I が感染することが分子遺伝学的手法により確認できた。この2種類の宿主を利用して、異なる宿主に感染した場合に、感染した宿主の環境に合わせて *Philophthalmid* sp. I がカースト比率を変化させるのかを検討した。

4. 研究成果

(1) 飼育実験

繁殖レジア・兵隊レジア共に LP2011 培地単体の時に、最も高い生存率を示した。LP2011 培地単体の中では、*Philophthalmid* sp. I のレジアは最長で約2カ月間生存した。これに対して、貝の組織を加えた培地においては、多くの場合1カ月以内にほぼすべての飼育個体が死滅した(図

1)。おそらく、抽出液中に混入した細菌が培地中で繁殖したために *Philophthalmid* sp. I の生存率が下がったものと考えられる。

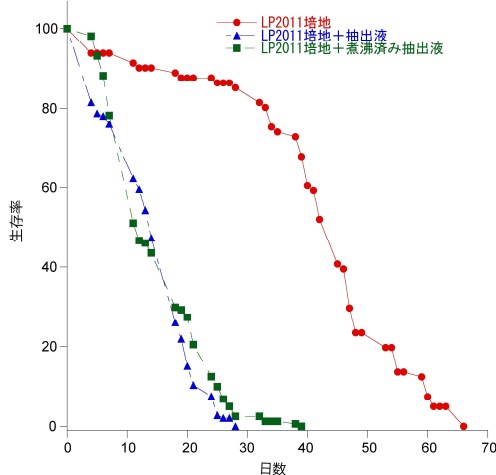


図 1. 飼育条件下における *Philophthalmid* sp. I の生存率

また、LP2011 培地をアガロースまたはゼラチンを用いて固めてその中で二生吸虫の飼育を試みたところ、ゼラチンで LP2011 培地を固め、さらに温度を 4 に保った際に *Philophthalmid* sp. I の生存率が高くなることが分かった。この条件下では、最長で約 3 カ月間飼育することができた。逆にアガロースを用いて固めた際には 4 の条件下でも約 2 カ月ですべての個体が死滅した。20 の条件下では殆どの個体が 40 日程度で死滅した(図 2)。この結果から、培地を固める条件や温度も *Philophthalmid* sp. I の生存率に大きな影響を与えることが分かった。

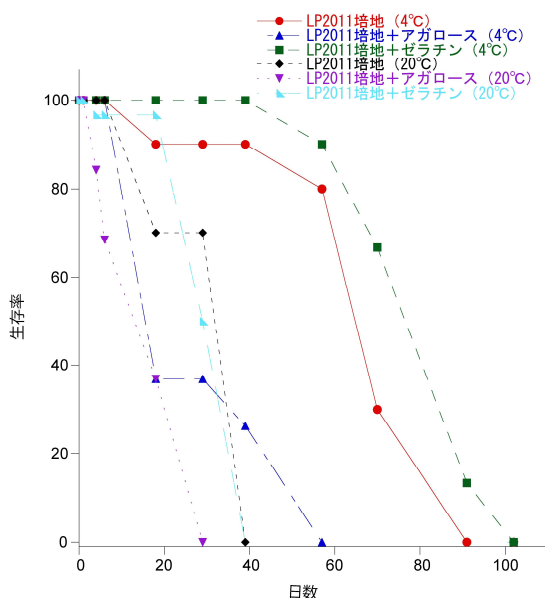


図 2. 固形培地も含めた飼育条件下における *Philophthalmid* sp. I の生存率

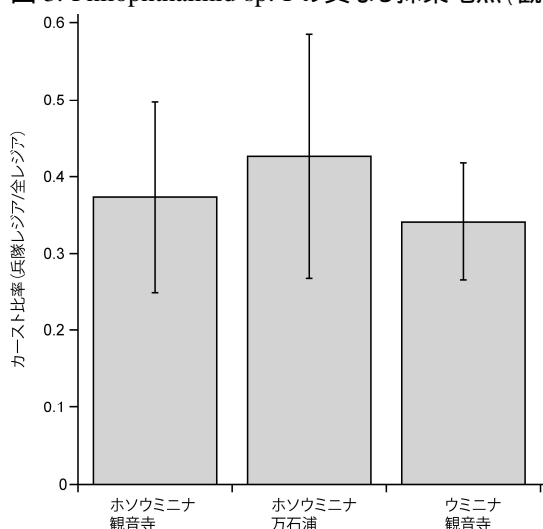
本研究で用いた培養条件で数カ月間にわたる二生吸虫の飼育が可能であることが確認できた。しかし残念なことに、この飼育条件下で二生

吸虫の成長や新たなクローンの生産は観察することは出来なかった。おそらく二生吸虫の成長に必要な何らかの栄養素が培地中に不足していることが考えられる。カースト比率の決定要因を飼育条件下で検討するためには、二生吸虫の成長やクローン生産が必須条件である。したがって、飼育実験からは二生吸虫のカースト比率の決定要因を突き止めるのは現時点では困難な状況である。国外の研究で、巻貝の組織を培養し、その培養組織を餌にすることで二生吸虫を成長・増殖させることができたという報告がある。今後は巻貝の組織培養も視野に入れ、二生吸虫の培養条件を検討していく必要があると考えられる。

(2) 野外実験

始めに、二生吸虫の寄生率の高い地点と低い地点を特定するために四国の 7 地点(須崎・観音寺・綾川河口・阿島・品部川河口・鴨部川河口・金倉川河口)と東北の 1 地点(万石浦)の合計 8 地点で寄生率の調査を行った。その結果、それぞれの場所で寄生率に大きなばらつきがあることが分かった。これらの地点の中で *Philophthalmid* sp. I が得られたのは、万石浦と観音寺の 2 地点のみであったので、この 2 地点間での *Philophthalmid* sp. I のカースト比率の比較を行った。この 2 地点における二生吸虫の寄生率は万石浦で 14.6%、そして観音寺で 50.0% であり、観音寺において寄生率が 3 倍以上高く、二生吸虫のコロニーへの外敵の侵入頻度が高い事が考えられる。したがって、もしも外敵の侵入頻度と兵隊レジアの比率との間に正の相関があるのであれば、観音寺において兵隊レジアの比率が高くなることが予想される。しかしながら、観察の結果、兵隊レジアの比率に観音寺と万石浦で有意な違いは見られなかった(図 3)。

図 3. *Philophthalmid* sp. I の異なる採集地点(観



音寺・万石浦)及び宿主(ホソウミナ・ウミミナ)におけるカースト比率

次に、ホソウミナとウミミナに寄生する *Philophthalmid* sp. I のカースト比率の比較を行った。観音寺においてホソウミナとウミミナの

二生吸虫の感染率を調べたところ、ホソウミニナで 50.0%であったのに対して、ウミニナでは 49.2%であり、寄生率には大きな違いは見られなかった。しかし、ホソウミニナとウミニナでは感染する二生吸虫の種類がウミニナの方が少なく(ホソウミニナ 8種、ウミニナ 3種)、ホソウミニナに感染した *Philophthalmid* sp. I はより多くの種類の外敵と対峙する必要があると考えられる。両方の宿主から *Philophthalmid* sp. I を見つけ出し、コロニー内のカースト比率を比較したところ、ホソウミニナとウミニナに寄生していた *Philophthalmid* sp. I 間でカースト比率に有意な差は見られなかった(図 3)。

これらの結果から *Philophthalmid* sp. I のカースト比率は外敵の侵入頻度や種類数の影響をあまり受けていない可能性が高いことが明らかとなった。カースト比率は本研究で検討した外敵に関わる要因以外にも利用可能な餌の量やコロニー内の個体密度によっても大きな影響を受けることが考えられる。また、カースト比率が遺伝的に固定している可能性も否定できない。このような要因を検討するためには飼育実験の確立が肝要であるので、今後、二生吸虫の培養条件をさらに検討することが必要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

三浦 収、二生吸虫：宿主を操る黒幕の正体、日本生態学会誌、査読有、63 巻、2013、287-297
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110009687153>

Miura, O., Kanaya, G., Impact of the 2011 Tohoku Earthquake Tsunami on marine and coastal organisms、査読有、印刷中

[学会発表](計 1 件)

三浦 収、兵隊を持つ二生吸虫、第 83 回日本寄生虫学会大会、2014/3/26、愛媛大学(愛媛県・松山市)

[その他]

ホームページ等

<http://www.cc.kochi-u.ac.jp/~miurao/indin.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

三浦 収 (MIURA, Osamu)

高知大学・教育研究部総合科学系・准教授
研究者番号：60610962