

令和元年6月26日現在

機関番号：82617

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07497

研究課題名(和文) 尾腔類の個体発生から探る軟体動物の系統

研究課題名(英文) An assessment of molluscan phylogeny based on the development of Caudofoveata

研究代表者

齋藤 寛 (Saito, Hiroshi)

独立行政法人国立科学博物館・動物研究部・研究主幹

研究者番号：00259996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：軟体動物の系統関係や共通祖先の形態推定を目的として、軟体動物尾腔綱の一種、ミドリマルアシウミヒモの発生について研究を行った。幼生は受精後5日目に変態を開始した。成体の体表を被う石灰質の鱗片は変態開始から10日を経ても出現せず、繊毛環を失った後はナメクジ状の幼生となった。このような変態開始後の幼生形態は本研究で初めて明らかとなった。尾腔類と溝腹類は互いに異なるタイプの幼生をもつが、神経系の形成は1対目の神経索が早期に形成されることで強い類似性が認められた。また後期トロコフォアの体壁下に形成される連続した涙滴型構造物は多板類との近縁性を示すものかもしれない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

系統発生を推定する上で重要な情報をもたらす個体発生の研究は多くの動物について行われているが、尾腔類については1編の論文しかなく、変態から成体への発生過程については、情報が欠如していた。本研究では尾腔類の1種の産卵・受精から変態後約10日目までの発生過程を観察し、本種がこれまで軟体動物のなかでは知られていなかった発生過程をもつことを見出した。観察した幼生の形態は上記論文の1種や、近縁と考えられている溝腹類のものと比較した結果、重要な類似点と相違点が認められた。これらの情報は軟体動物内、あるいは軟体動物と他の冠輪動物との間の系統関係を推定するための新たな情報として意義のあるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The development of an aplacophoran mollusk, *Scutopus schanderi* (Caudofoveata) was studied to assess the phylogeny and the morphology of the last common ancestor of the Mollusca. The larva started metamorphosis in 5 days after fertilization. After loss of ciliary bands, the larva stayed in a slug-shape, and no sclerites were formed until 10 days after fertilization. This type of larval morphology was revealed for the first time in this study. The neurogenesis bears strong resemblances to Solenogastres, despite the different larval type. The serial droplet-shape structure found beneath the body wall of late trochophore larva appears to show close relationship to Polyplacophora.

研究分野：軟体動物学

キーワード：軟体動物 尾腔類 発生 系統

1. 研究開始当初の背景

尾腔類(ケハダウミヒモ類、Caudofoveata)は海底の泥中にすむ軟体動物(貝類)の1綱である。本類は溝腹類(カセミミズ類)と並び現生軟体動物中で最も原始的な一群と考えられており、軟体動物の系統発生を考える上で非常に重要な分類群である。しかし、本類は深海性の種が多いため、生物学的情報は乏しく、系統発生を推定する上で極めて重要な情報を提供する個体発生に関する知見は殆ど得られておらず、個体発生に関する知見は初期発生についての報告1編のみであった(Nielsen et al., 2007)。報告者は国立科学博物館が実施した深海調査の過程で、若狭湾に尾腔類が豊富に生息する海域を見出し、その海域の尾腔類を材料とする発生観察を計画した。平成24~26年度科研費の助成を受け、同海域に生息する尾腔類2科3属4新種を記載し、種の同定を確実にできるようにした上で、そのうちのケハダスナホリムシ科(Limifossoridae)の1種、ミドリマルアシウミヒモ(*Scutopus schanderi*: 図1)の産卵期の特定を行った。これにより本種が9月下旬から10月初旬の間に産卵することを突き止め、発生観察のための基盤をほぼ整えることができた。

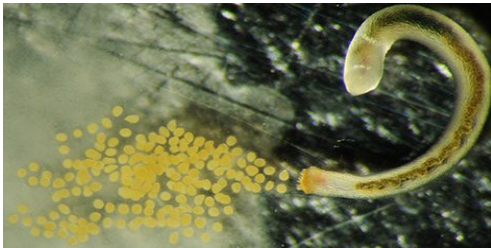


図1 ミドリマルアシウミヒモと放卵のようす

2. 研究の目的

本研究の目的はミドリマルアシウミヒモの発生を観察し、親とほぼ同じ形態に変態するまでの形態形成の過程を明らかにし、その結果から軟体動物内各綱、特に尾腔類、溝腹類、多板類間の系統関係や軟体動物共通祖先の形態推定、さらには軟体動物と他の冠輪動物との系統関係などを推定することである。観察する主な形態は、体を包む外套膜や、それを被う石灰質の鱗片、足、鰓などの外部形態、神経系や筋肉系、消化器系、排出系などの内部形態である。特に重要な点は幼生と変態直後の幼若期個体との形態比較で、幼生時に形成され、変態を経て幼体となる過程で消失、あるいは変化する器官や組織を明らかにする。

3. 研究の方法

1) 標本採集 2) 産卵誘導 3) 生きた胚の発生の観察 4) 固定した胚の観察を以下のような方法で行いデータを得た。

1) 標本の採集

採集は京都大学舞鶴水産実験所の実習調査船緑洋丸を利用し、若狭湾で小型の底曳網を用いて行った。産卵期のおおよその期間は特定できるものの、正確に予測することはできないため、毎年2~3度の採集を実施した。各採集地点では水深・水温データを記録した。採集物は船上でフルイにかけ泥を洗い流して実験所に持ち帰り尾腔類を選別した。

2) 産卵誘導

選別した動物は生息水深から採取した海水を入れたガラス製容器に数個体ずつ入れて18~20℃の保冷庫中に置き、適宜取り出して観察した。放卵が見られた場合は、雄の体壁を針で突いて精子を取り出し、振りかけて受精させた。放卵しない場合は、セロトニン・クレアチニン硫酸等による薬品処理や紫外線照射海水への浸漬、あるいはこれらを組み合

わせた処理を行って産卵誘導を試みたほか、卵を体内から取り出してアンモニア溶液等で処理し、その賦活も試みた。薬品濃度や浸漬時間等は毎年変えて情報を集積した。

3) 生きた胚の発生の観察

受精にはじまる発生過程における形態変化を時間と共に記録し、画像を撮影した。各重要な段階ごとに胚を固定した。固定はその後の各種観察に適した薬品で行った。長期飼育をめざし、清浄なる過海水(ミリポアろ過海水)を準備し、バクテリアの繁殖を防いだ。

4) 固定した胚の観察

外部形態：グルタルアルデヒドと四酸化オスミウムで二重固定した一連の胚は洗浄、脱水と臨界点乾燥を行ったのち走査型電子顕微鏡で観察した。

内部形態：主に免疫染色法を用いて観察した。このために標本はパラホルムアルデヒドで固定し、チューブリン、FMRFamide、F アクチンおよびセロトニンに対して免疫染色を行って狭焦点レーザー顕微鏡で観察した。標本数に余裕があったものは標本を樹脂に包埋し、連続準超薄切片を作成して内部形態を組織学的方法で観察した。一部は透過型電子顕微鏡での観察を試みた。

4. 研究成果

(1) 発生過程 ミドリマルアシウミヒモの発生過程を受精後 17 日目まで観察することができた。その過程における形態変化は以下の通りである。受精後約 10 時間で囊胚期、約 14 時間で孵化、約 20 時間で典型的なトロコフォア(担輪子)幼生となる。その後幼生の体は伸長し、受精後 5 日目に変態を開始し、繊毛環を失う。Nielsen らは同じ尾腔類でも別科のケハダウミヒモ科の 1 種の初期発生過程を報告している(Nielsen et al., 2007)。彼らが観察した幼生は繊毛環を失う前に体を横断する 7 列の乳頭状突起群を形成し、そこでは石灰質の鱗片の形成が始まっていた。鱗片が変態前に形成されることは、軟体動物のなかで尾腔類とともに保守的な一群とされる溝腹類(カセミミズ類)でも観察されているが(Okusu, 2002; Todt & Wanninger, 2010)、ミドリマルアシウミヒモでは鱗片が変態前に形成されないばかりか、繊毛を失ったあと 10 日以上経っても形成されなかった。これは発生環境の違いによるアーチファクトとも考えられるが、本研究中に同様の環境において発生過程を観察できた別種の尾腔類、ケハダウミヒモ科のリョクヨウクワガタウミヒモでは受精後約 5 日目の変態前におそらく上記乳頭状突起と思われる構造が観察されたことから、鱗片が長期間にわたり形成されないことは本種本来の性質である可能性が高いと考えられる。繊毛環消失後は体がナメクジ状となり受精後 17 日目まで外部形態に顕著な変化が認められなかった。このような繊毛環も石灰質鱗片もないナメクジ状の幼生形態は、軟体動物ではこれまで知られていなかったものである。免疫染色法による神経系の観察では、トロコフォア幼生の初期に単純な頂端器官と 1 対の神経索をもつことで溝腹類の幼生神経系の形態と類似することがわかった。1 対の神経索は冠輪動物の幼生・成体に広く認められる特徴であるが、軟体動物の成体および内腔動物の幼生ではこれが 2 対形成され、派生的な形質とされている。この 2 対めの神経索は足神経索となり、溝腹類では 1 対目形成後比較的短期間に形成されるのに対し、本種では変態前後においてもなお 1 対のみであることが観察された。また本種には、上記のように乳頭状突起群は形成されなかったが、変態前の後期トロコフォア幼生の外部には少なくとも 7 本の横走る浅い溝(図 2)、内部にはファロイジン染色によって 8 横列をなす涙滴型の構造が認められた。これは上記乳頭状突起に対応す

る構造かもしれないが、詳細は突き止められなかった。このように本種は独特の形態形成過程をもつことが分かったが、一方で同じ尾腔類のケハダウミヒモ属や、溝腹類のものとの類似も認められた。変態が完了するまでの時間が非常に長いことから観察できなかった石灰質構造物をはじめ歯舌や鰓の形成過程の観察は今後の重要な課題である。

(2) 産卵誘発と賦活 温度変化による刺激や、紫外線照射海水、セロトニン-クレアチニン硫酸、アプリアホルモン等を用いて産卵誘発を試みたところ、放卵した個体があったが、研究期間中に確実な産卵誘発方法を突き止めることはできなかった。また体内から取り出した卵をアンモニア溶液で処理し、賦活を試みたが、受精は起きなかった。

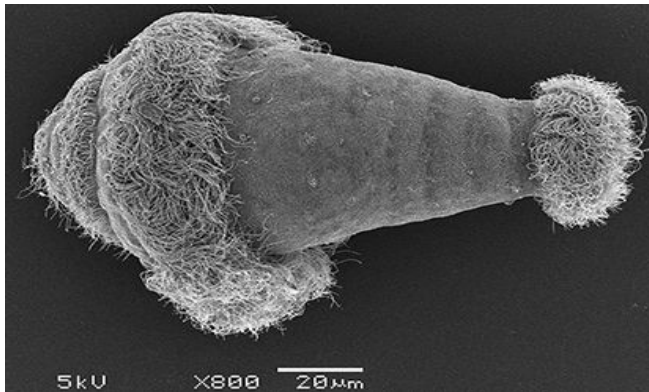


図2 後期トロコフォア幼生

<引用文献>

- Nielsen, C. Haszprunar, G. Ruthensteiner, B. Wanninger, A. 2007: Early development of the aplacophoran mollusc *Chaetoderma*. *Acta Zoologica*, 88: 231-247.
- Okusu, A. 2002: Embryogenesis and Development of *Epimения babai*. *Biological Bulletin*, 203: 87-103.
- Todt, C. and Wanninger, A. 2010: Of tests, trochs, shells, and spicules: Development of the basal mollusk *Wirenia argentea* (Solenogastres) and its bearing on the evolution of trochozoan larval key features. *Frontiers in Zoology* 2010, 7: 6.

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 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

Redl, E., Wanninger, A. & Saito, H. 2017: Development of *Scutopus schanderi* (Mollusca, Caudofoveata). International Congress on Invertebrate Morphology IV. 2017年8月18-23日. モスクワ州立大学, モスクワ.

Bergmeier, F. S., K. M. Jörger, Y. Kano and H. Saito. 2017. From shallow sands to deep-sea trenches: exploring Japanese solenogaster fauna. *Molluscan Forum*. 2017年11月30日. 自然史博物館, ロンドン.

〔図書〕(計 1 件)

濱谷 巖・齋藤 寛. 2017. 尾腔綱ケハダスナホリムシ科、ケハダウミヒモ科、溝腹綱カセミミズ科. 奥谷喬司編著 日本近海産貝類図鑑 第二版, pp. 727, 728. 東海大学出版部.

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

齋藤 寛 (Saito, Hiroshi)

独立行政法人国立科学博物館・動物研究部・研究主幹

研究者番号：00259996

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし