

平成 22 年 5 月 24 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20770061
 研究課題名 (和文) ミトコンドリアゲノム全塩基配列決定による紐形動物門の系統分類学
 研究課題名 (英文) Systematic study of the phylum Nematoda based on mitochondrial genome sequences
 研究代表者
 柘原 宏 (KAJIHARA Hiroshi)
 北海道大学・大学院理学研究院・助教
 研究者番号：30360895

研究成果の概要 (和文)：単針類の 1 属について分子系統解析とタイプ標本を含む証拠標本の形態観察に基づいた分類学的再検討を行った。これに加え紐形動物の種と属の分類目録の作成、深海遊泳性紐形動物の新種記載を行い、国内未記録であった日本産異紐虫類についてはタイプ標本と比較して再記載した。さらに古紐虫類の一群について頭部血管系の比較形態学的研究を行い、これまでに知られていなかった分類形質を発見した。

研究成果の概要 (英文)：A taxonomic revision on a monostiliferous hoplonemertean genus was carried out based on molecular phylogeny and observations of actual type specimens. In addition, a catalogue of nemertean genera and species was compiled, a new species of bathypelagic polystiliferous hoplonemertean was described, and a heteronemertean was reported from Japanese waters for the first time. A new morphological character with respect to the cephalic blood vascular system was discovered in a group of palaeonemerteans.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学、生物多様性・分類

キーワード：体系学、分子系統解析、紐形動物

1. 研究開始当初の背景

紐形動物門は約 1200 種を含み、その殆どは海産底生性であるが、若干の種は深海遊泳生活を送る他、淡水や陸上環境に適応したグループも存在する。紐形動物は基本的に捕食性であり、知られている主な餌生物は多毛類や軟体動物である。紐形動物の共有派生形質

は「吻」と呼ばれる固有の器官である。これは普段は消化管とは独立した吻腔と呼ばれる空所に収められているが、餌を捕らえる際には勢いよく翻出され、表皮から分泌される粘液や毒成分（細胞毒や神経毒）によって相手を麻痺あるいは死亡させた後に捕食を開始する。

紐形動物の中には吻器官に石灰質の尖った武器を備えるように進化したグループがある。中でも、突出した吻の先端に一本の針を備えるものは動物門の半数弱（約 570 種）を占め、単針類と呼ばれるグループを構成する。単針類に含まれる種の 90% は吻鞘壁が縦走筋層と環状筋層の 2 層からなり、これらは *Distromatonemertea* と呼ばれるサブグループを構成する。*Distromatonemertea* の体系的研究の進展は以下の 3 点の要因により阻まれている：①グループを構成する種数が多いこと、②多くの種についてタイプ標本が存在しない、特に古くに設立された属のタイプ種のタイプ標本が失われていること、そして③名づけられた下位分類群（例えば科や属）が必ずしも単系統群ではないこと、である。*Distromatonemertea* の下位分類群のうち分子データに基づいて単系統性が議論されているのは *Ototyphlonemertes* 属と *Tetrastemma* 属のみであり、また実際にタイプ標本を再調査した分類学的再検討はプロソロクムス科について行われているのみであった。

2. 研究の目的

本研究の目的は紐形動物門の主要分類群間の系統関係について信頼性の高い推定を行って伝統的分類体系を再評価することであったが、そのために研究実施計画段階で立案したミトコンドリアゲノム解読というストラテジーではなく、紐形動物学における国際的な研究状況の変化、並びに入手可能な研究材料の拡大に対応して以下に述べる 2 つの代替戦略を採った。1 つは、発現シーケンスタグ (EST) 解析である。これはスウェーデンのクリスティーネベルク臨海実験所で開催された 2 度の国際ワークショップで提唱されたプロジェクトであり、現在 7 カ国 10 名の研究者が参加している。ワークショップでは解明すべき系統関係として特に紐形動物門の根に近い部分に焦点が当てられ、タクソンサンプリングのストラテジーが話し合われた結果、古紐虫類を中心に 24 種の「コア・ファイロジェニー」を解明することが採択された。解析はハーバード大学の次世代シーケンサーを用いて行われる。2 つめは、密なタクソンサンプリングが可能な 18S rRNA、28S rRNA、および COI 遺伝子を用いて、細部にわたって形態形質が明らかになっている OTU を解析に加えるものであり、本研究では単針類と呼ばれる分類群に焦点を当て、属・科レベルの分類体系を再構築する上で有用な形態形質を検証することを目的とした。そのための出発点として *Diplomma* 属は①1857 年に設立された、単針類の中では比較的古い属であること、②タイプ種のタイプ産地が日本（沖縄）であるこ

と、③分子系統解析用のデータが得やすいこと、④潜在的に近縁と考えられる種は比較的最近になってから設立されており、それらのタイプ標本が各地の自然博物館に現存していること、など、研究を着手する上での好条件が揃っていた。

3. 研究の方法

形態学研究用標本は 7.5% 塩化マグネシウム水溶液で麻酔後ブアン氏液で固定し、8 ミクロン厚でパラフィン連続切片標本とし、マロリー三重染色を施した。分子系統解析用標本は 70~100% エタノールで固定・保存し、QIAGEN 社の DNeasy® Tissue Kit を用いて DNA 抽出を行った。28S rRNA、18S rRNA、およびチトクローム c 酸化酵素サブユニット I 遺伝子を PCR 法で増幅し、ABI BigDye® Terminator version 3.1 Cycle Sequencing Kit によってターミネータ反応処理し、ABI 3100-Avant Genetic Analyzer を用いて塩基配列を決定した。MEGA 4 に実装された CLUSTAL W でアラインメントを行い、ベイズ法と最尤法で解析を行った。本研究では形態学的証拠標本のある英国産 *Amphiporus lactifloreus*、スウェーデン産 *Gononemertes parasita*、そしてノルウェー産 *Tetrastemma candidum*、ニュージーランド産 *Vulcanonemertes rangitotoensis*、オーストラリア産 *Correanemertes polyophtalma*、沖縄・フィリピン・インドネシア産 *Diplomma serpentina*、そして北海道産 *Emplectonema mitsuii* および *Nemertellina yamaokai* から新たに塩基配列を決定し、解析に加えた。

わが国周辺の紐形動物相は高倉卯三磨、山岡貞三、岩田文男らによって研究されてきたが、彼らの先行研究において調査されていない海域・生息場所はまた日本近海に多く存在する。研究期間内には、これら未調査のハビタットや海域における紐形動物相の解明も平行して行った。

4. 研究成果

原記載以降報告の無かった *Diplomma serpentina* (Stimpson, 1855) を三崎・白浜・沖縄（タイプ産地）・フィリピン・インドネシアから報告し、トポタイプをもとに再記載した。単針類の他属 3 種 *Paramphiporus albimarginatus* Kirsteuer, 1965（マダガスカル産）、*Poseidonemertes bothwellae* Gibson, 1982（オーストラリア産）、*Correanemertes polyophtalma* Gibson & Sundberg, 2001（オーストラリア産）のタイプ標本を観察した結果、これら 3 種はそれまで単型属であった *Diplomma* 属に所属させることがふさわしいと結論された。*Correanemertes polyophtalma* については

分子データもこの分類学的判断を支持する結果を得ている。この結果、*Paramphiporus* Kirsteuer, 1965 は *Diplomma* Stimpson, 1857 の後行異名と判断された。吻鞘壁筋が縦走筋と環状筋の編み籠状を呈するクラテネメルテス類は従来その他の単針類と姉妹群を構成する単系統群と考えられてきたが、18S rRNA および 28S rRNA を用いた本研究における系統解析の結果はこの見解に疑問を呈する。今後は多針類を含む多くの針紐虫類（特にクラテネメルテス類）を解析に加えることにより、単針類の基部の樹形を明らかにして行く必要がある。

これに加え、研究期間内には紐形動物の種と属の分類目録の作成、深海遊泳性紐形動物の新種記載を行い、国内未記録であった日本産異紐虫類についてはタイプ標本と比較して再記載した。さらに古紐虫類の一群について頭部血管系の比較形態学的研究を行い、これまでに知られていなかった分類形質を発見した。

現在約 400 種が知られる異紐虫類では胃と腸の間に盲腸がないのが一般的であるが、香港から 1 個体に基いて原記載された *Lineopselloides albilineatus* Gibson, 1990 では胃の後端が腸の下部に伸長し、盲腸が胃の上部に位置することが報告されていた。神奈川県三崎、静岡県浜名湖、広島県広島湾、福岡県北九州で得られた異紐虫類はその茶色い体色と、背面に縦白色線を持つという外見的特徴が *L. albilineatus* に酷似しているが、その盲腸は胃の下部に位置していた。*L. albilineatus* のホロタイプ標本を観察したところ、胃・腸移行部において吻鞘が破裂しており、胃から腸への明瞭な推移が観察されなかった。このため、ホロタイプにおける消化管の形態は固定時のアーティファクトの影響を受けた可能性が高いと判断された。日本産固体と香港産ホロタイプとの間の消化管形態の差異が人為的なものなのかどうかはタイプ産地からの追加標本を待たなければならないが、当面、わが国から未報告であった *L. albilineatus* を日本産紐形動物リストに加える、という分類学的な判断を下した。国内の 4 地点において得られた *L. albilineatus* の個体は、広島湾のカキ筏を除き、全て干潟で採集された。このことは本州の干潟の紐形動物相がまだ完全に解明されていないことを示しており、今後更に調査を進める必要がある。

英国海軍調査船チャレンジャー号探検航海において発見された深海遊泳性紐虫をヘンリー・モーズリが報告して以降、今日までおよそ 100 種の遊泳性紐虫類が記載されてきた。これらは中深層・漸深層・深海層に亘る外洋の水柱を遊泳している。これらの深海遊泳性ヒモムシのうち 2~3 の種は単針亜綱の

メンバーであるが、それ以外の全ては多針亜綱遊泳目に属している。日本の排他的経済水域における遊泳性ヒモムシ類の種多様性は殆ど調査されておらず、この水域からこれまでに知られていたのは *Pelagonemertes moseleyi* Bürger, 1895 と *Nectonemertes japonica* Foshay, 1912 の 2 種のみであった。2000 年 6 月に三陸沖で行われた有人潜水調査船「しんかい 6500」第 546 次潜航で観察・採集された深海遊泳性ヒモムシの 1 種は内部形態の観察から未記載の遊泳目と判断されたため *Dinonemertes shinkaii* Kajihara & Lindsay, 2010 として記載した。本種は寒天状の透明な体と鮮やかな紅色の腸管をもち、固定時の体長 3.3 cm、体幅 1.0 cm、体厚 6.0 mm と本属としては中型であり、24 本の吻神経・2 対の盲腸盲嚢・25 対の腸管側盲嚢を持つことで 4 種の同属他種と区別される。遊泳性ヒモムシ類の捕食行動に関する知見はこれまで全く無かったが、本種は発見時に頭部を上にして静止していたことから、常に遊泳して積極的に餌を追尾するのではなく、むしろ待ち伏せ型の捕食戦略を採っていると考えられる。捕食行動そのものは観察されなかったものの、同所的に生息して紅色の色素を持つヤムシの一種 *Eukrohnia fowleri* が本種の餌生物として有力な候補と推測される。

紐形動物の血管系は一般に吻鞘と近接した部位を持っている。紐形動物の吻には血管が走っておらず、また吻鞘液の組成・浸透圧調整のために、血管-吻鞘との近接は（特に大型個体の場合）不可欠と考えられる。異紐虫類と針紐虫類では背血管が吻鞘内に一部突出することでこの近接が達成されているが、背血管を持たない古紐虫類では血管-吻鞘との近接は様々な形で実現されている。ホソヒモムシ科 14 種 26 標本を観察した結果、従来存在しないとされてきた吻鞘血管がこの類において一般的に存在することが判明した。またホソヒモムシ科の吻鞘血管には 3 つの異なるタイプがあり、これが分類形質として有用であることが判明した。観察したホソヒモムシ科のうち *Cephalothrix adriatica*, *C. hongkongiensis*, *C. kefersteini*, *C. oestrymnica*, *C. orientalis*, *C. rufifrons*, *C. cf. fasciculus*, 及び *C. cf. simula* では血管は吻鞘壁背部に付着して後部に延びて盲管状に終わるが、*C. filiformis* では血管は吻そのものの中を後進する。また、*C. filiformis sensu* Iwata (1954) では、血管は吻鞘壁にも吻にも接することなく、吻鞘中の吻上方に後進し、矢張り盲管状に終わる。

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9件)

- ① Kajihara, H., Rhynchocoel vessel in Cephalotrichidae (Nemertea: Palaeonemertea). Journal of Natural History, 査読有、【掲載受理】
- ② Kajihara, H., Olympia, M., Kobayashi, N., Katoh, T., Chen, H.-X., Strand, M. and Sundberg, P. 2010. Systematics and phylogeny of the hoplonemertean genus *Diplomma* (Nemertea) based on molecular and morphological evidence. Zoological Journal of the Linnean Society, 査読有、【掲載受理】
- ③ Kajihara, H. and Lindsay, D. J., *Dinonemertes shinkaii* sp. nov. (Nemertea: Hoplonemertea: Polystilifera: Pelagica), a new species of bathypelagic nemertean, Zootaxa, 査読有、2429 巻、3–51、2010
- ④ Kakui, K., Kajihara, H. and Mawatari, S. F., A new species of Nesotanais Shiino, 1968 (Crustacea, Tanaidacea) from Japan, with a key to species and a note on male chelipeds. ZooKeys, 査読有、33 巻、1–17、2010
- ⑤ Kajihara, H. and Kato, T., *Baseodiscus hemprichii* (phylum Nemertea) from Phuket, Thailand. Phuket Marine Biological Center Research Bulletin, 査読有、69 巻、1–5、2009
- ⑥ Sundberg, P., Chernyshev, A. V., Kajihara, H., K anneby, T. and Strand, M., Character-matrix based descriptions of two new nemertean (Nemertea) species. Zoological Journal of the Linnean Society, 査読有、157 巻、264–294、2009
- ⑦ Shimada, D., Kajihara, H. and Mawatari, S. F., Three new species of free-living marine nematodes (Nematoda: Enoplida) from northern Japan. Species Diversity, 査読有、14 巻、137–150、2009
- ⑧ Kajihara, H., Chernyshev, A. V., Sun, S.-C., Sundberg, P. and Crandall, F. B., Checklist of nemertean genera and species published between 1995 and 2007, Species Diversity, 査読有、13 巻、245–274、2008
- ⑨ Kajihara, H. and Ise, Y., Morphology of *Lineopselloides albilineus* (Nemertea: Heteronemertea: Lineidae) from Japanese waters, with complementary redescription of the holotype, Bulletin

of the Kitakyushu Museum of Natural History and Human History, Series A (Natural History)、査読有、6 巻、1–12、2008

[学会発表] (計2件)

- ① 柁原宏、伊藤克敏、陳海霞、孫世春、浅川学、広島湾産フグ毒蓄積性ヒモムシの正体とホソヒモムシ類血管系の比較解剖学、日本動物分類学会第45回大会、2009年6月13日、名古屋
- ② Kajihara, H., Ito, K., Chen, H., Sun, S. & Asakawa, M. Identity of the toxic *Cephalothrix* sp. (Nemertea: Palaeonemertea) from Hiroshima Bay, Japan, with comparative anatomy of the blood vascular system among congeners. 第7回紐形動物学国際会議、2009年7月3日、カリフォルニア

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柁原 宏 (KAJIHARA HIROSHI)
北海道大学・大学院理学研究院・助教
研究者番号：30360895