

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22570091

研究課題名（和文）

中生動物ニハイチュウの分類、系統、共進化の実像

研究課題名（英文）

Taxonomy, phylogeny, and co-evolution of dicyemids

研究代表者 古屋秀隆 (FURUYA HIDETAKA)

大阪大学・大学院 理学研究科・准教授

研究者番号：20314354

## 研究成果の概要（和文）：

中生動物ニハイチュウについて、分類、系統、およびニハイチュウと宿主との関係(共進化)について調べた。(1)分類 カリフォルニア湾産 *Octopus hubbsorum*、オーストラリア沿岸産 *Sepioteuthis australis* と *Sepioloidea lineolata*、および日本沿岸産クモダコとウスベニコウイカの腎嚢を検索し、10種の未記載種のニハイチュウ類を発見した。そのうち3種のニハイチュウ類を記載した。(2)ニハイチュウの細胞分化：細胞の分化が起きているかどうか16遺伝子の遺伝子の発現パターンによって調べた。(3)ミトコンドリアゲノムの解析 ニハイチュウとプラコゾアのミトコンドリアゲノムの構造を調べた。ニハイチュウ類では、一般にミトコンドリア遺伝子がそれぞれミニサークルを形成していることを明らかにした。(4)共進化 ニハイチュウと頭足類について、ミトコンドリア COI 遺伝子と 18SrDNA の塩基配列を用い、それぞれの種間の系統関係を調べた。その結果、共進化している種もみられる一方、ホストスイッチングした種もみられ、厳密な共進化はみられなかった。

## 研究成果の概要（英文）：

Dicyemid mesozoans were studied on taxonomy, phylogeny, and co-evolution.

(1) Taxonomy: Ten new species of dicyemids were found in five species of cephalopods, *Octopus hubbsorum*, *O. longispadiceus*, *Sepia lorigera*, *Sepioteuthis australis*, and *Sepioloidea lineolata*. (2): Cell differentiation in dicyemids: To provide insight into the functional differentiation, using whole mount in situ hybridization the expression patterns of 16 genes were analyzed. Some possible functional differences among cells were found in vermiform stages and infusoriform larvae. (3) Mitochondrial genomes of dicyemids and plachozoans: Mitochondrial genomes of dicyemids and plachozoans were studied, several mini-circle DNAs were found in dicyemid mitochondria, and the whole mitochondrial genome of plachozoans was revealed. (4) Relationship between dicyemids and cephalopods: The phylogenetic trees of dicyemid species and the host cephalopods revealed that dicyemids and cephalopods did not co-evolved. Some dicyemid species switched the host species, some co-specified with the host cephalopods.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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：中生動物、分類、系統、進化、共進化

### 1. 研究開始当初の背景

二胚動物門のニハイチュウ類は、底棲の頭足類の腎囊に寄生する数ミリの動物で、体をつくる細胞数が10-40個と少なく、極めて単純な体制を示す。このことから、ニハイチュウは、単細胞動物と多細胞動物の中間的な動物として、古くから動物の多細胞化を考える上で興味深い動物とされてきた。しかし、近年の分子系統解析によれば、その見かけによらず、三胚葉動物(螺旋型卵割動物)の一員であるとする見方が優勢である。もしニハイチュウが三胚葉動物であるとしたら、そのなかでも最も原始的な位置を占めるものと予想され、左右相称動物の起源を探る上でも興味深い動物となる。

### 2. 研究の目的

ニハイチュウ類には、未記載種が多く、日本におけるニハイチュウ相はまだ部分的にしか解明されていない。よって、ニハイチュウ類の種を記載する。

最近の分子系統学による結果では、ニハイチュウは三胚葉動物の螺旋型卵割動物の一員であるとする見方が優勢である。しかし、螺旋型卵割動物のうちどの分類群との関連が深いかが明らかでない。そこで、分子系統学的手法を用いてニハイチュウの系統的位置を解析し、ニハイチュウがどのような祖先動物から進化してきたか探る。

ニハイチュウは一般に宿主特異性をもつが、これは頭足類の種分化とニハイチュウの種分化の歴史が平行して進んできたことを想像させる。この宿主特異性の問題や、頭足類とニハイチュウとの共進化の問題も分子系統学的手法を利用して検討する。

### 3. 研究の方法

カリフォルニア湾産 *Octopus hubbsorum*、オーストラリア沿岸産 *Sepioteuthis Australis* と *Sepioloidea Lineolata*、日本沿岸産クモダコとウスベニコウイカの腎囊を検索し、発見したニハイチュウの特徴を調べた。

ニハイチュウの細胞分化の程度をいろいろな遺伝子の発現パターンより調べた。解析した遺伝子は、EST プロジェクトで得た16遺伝子を利用した。

ニハイチュウと原始的な無脊椎動物のブラコゾアのミトコンドリアゲノム構造を調べ解析した。

ニハイチュウと頭足類との共進化の実像を明らかにするため、日本沿岸産の頭足類の系統関係とそれらに寄生するニハイチュウについて、ミトコンドリア COI 遺伝子と18SrDNA の塩基配列を用い、ニハイチュウとその宿主頭足類の系統解析を行なった。そして、両者の系統樹を比較し、共進化の実像を調べた。

### 4. 研究成果

(1)ニハイチュウ類の分類学的研究：カリフォルニア湾産 *Octopus hubbsorum*、オーストラリア沿岸産 *Sepioteuthis australis* と *Sepioloidea lineolata*、および日本沿岸産クモダコとウスベニコウイカの腎囊を検索し、10種の未記載種のニハイチュウ類を発見した。そのうちの3種のニハイチュウ類を記載した。

カリフォルニア湾産 *Octopus hubbsorum* から発見した *Dicyema guaycureense* は、体長1.6mmほどの中型のニハイチュウで、頭部は円錐形を呈す。蠕虫型個体の体皮細胞数

は 22 個、滴虫型幼生の細胞数は 39 個であった。この種はカリフォルニア湾から報告された最初のニハイチュウである。

オーストラリア沿岸産 *Sepioteuthis australis* と *Sepioloidea lineolata* からそれぞれ *Dicyema calamaroceanum* と *Dicyema pyramaceum* を発見した。*D. calamaroceanum* は体長 2.4mm ほどの中型のニハイチュウで、頭部は円錐形を呈す。蠕虫型個体の体皮細胞数は 31-34 個、滴虫型幼生の細胞数は 39 個であった。*D. calamaroceanum* は体長 2.0mm ほどの中型のニハイチュウで、頭部は帽子形を呈す。蠕虫型個体の体皮細胞数は 20-23 個、滴虫型幼生の細胞数は 37 個であった。これら 2 種はオーストラリアから報告された最初のニハイチュウである。

クモダコから発見されたニハイチュウ類は、4種が *Dicyemenea* 属で 2種が *Dicyema* 属のニハイチュウであった。*Dicyemenea* sp. 1 は 2mm ほどの中型の種で、体を構成する体皮細胞の数は 19、体の前部が枝分かれし不定形となる。滴虫型幼生の細胞数は 39。*Dicyemenea* sp. 2 は 5mm を越える大型種で、体皮細胞の数は 32-38、体の前部は扁平で円盤のような形を呈す。滴虫型幼生の細胞数は 37。*Dicyemenea* sp. 3 は 5mm にいたる大型の種で、体皮細胞の数は 34-37、体の前部は円い。滴虫型幼生の細胞数は 39 であった。*Dicyemenea* sp. 4 は 1mm ほどの小型種で、体皮細胞の数は 23、体の前部は円い。*Dicyema* sp. 1 は 2mm ほどの中型種で、体を構成する体皮細胞の数は 22、体の前部は円いドーム状を呈す。滴虫型幼生の細胞数は 37。*Dicyema* sp. 2 は 2mm ほどの中型の種で、体を構成する体皮細胞の数は 15-17、体の前部は円いドーム状を呈す。滴虫型幼生の細胞数は 37。クモダコでは、これら 6 種のニハイチュウが同時に発見されることはなく、通常 2-3 種のニハ

イチュウが発見される。なかでも *Dicyemenea* sp. 1 と *Dicyema* sp. 1 の 2 種は優先的であった。

ウスベニコウイカから発見されたニハイチュウは、*Dicyemenea* 属に属し、体長 2mm ほどの中型のニハイチュウである。体を構成する体皮細胞の数は 28-36 で、体の前部は円錐状で前端は円い。このウスベニコウイカの腎嚢には、ニハイチュウの他にクロミディナ(繊毛虫)がみられ、たびたび両者が同時に発見された。

(2)ニハイチュウ類の細胞の分化の程度  
ニハイチュウの体を構成する細胞数は少なく、多い種で 40 個ほどである。それら細胞の形態からは、内側の軸細胞と生殖系細胞、および外表面の表皮細胞の分化しかみられない。そこで、ニハイチュウの細胞分化の程度をいろいろな遺伝子の発現パターンより調べた。解析した遺伝子は、EST プロジェクトで得た 16 遺伝子 (aquaglyceroporin, F-actin capping protein, aspartate aminotransferase, cathepsin-L-like cysteine peptidase, Ets domain-containing protein, glucose transporter, glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase, glycine transporter, Hsp 70, Hsp 90, isocitrate dehydrogenase (NAD) subunit alpha, Rad18, serine hydroxymethyltransferase, succinate-CoA ligase, valosin-containing protein, 14-3-3 protein) を利用した。その結果、成体では体の前頭部と胴部で遺伝子の発現パターンが異なること、幼生では内部と外表面とで発現パターンが異なることがわかった。一見同じようにみえる細胞であっても、体の前後および内外の細胞では、それぞれの場所で細胞の機能が異なることが示唆された。このことから、少数の細胞からなるニハイチュウであるが、それら細胞には細胞分化が起きているこ

とが明らかになった。

(3)ミトコンドリアゲノムによる系統解析  
ニハイチュウとプラコゾアのミトコンドリアゲノムの構造を調べ、原始的多細胞動物のミトコンドリアゲノムの構造解析を試みた。そのうちプラコゾアのミトコンドリアゲノムの構造を明らかにした。ニハイチュウの全ミトコンドリアゲノムの構造は明らかにできなかったが、ニハイチュウ類では、一般にミトコンドリア遺伝子がそれぞれミニサークルを形成していることを明らかにした。

(4) ミトコンドリアCOI遺伝子と18S rDNAの塩基配列を利用し、ニハイチュウとその宿主頭足類の系統解析を行なった。両者の系統樹の比較から、タコ類とイカ類にみられるニハイチュウは、それぞれ単系統性を示したが、ホストスイッチしたとみられる種があった。イカ類にみられるニハイチュウ類が早くに分岐し、ニハイチュウ類が最初イカ類に寄生していたことが示唆された。また、同種の宿主にみられるニハイチュウ類では、同じ宿主の中で種分化が起きていることが示唆された。ニハイチュウとその宿主には、一部に共進化がみられるのみで、全体的にみるとニハイチュウは共進化していなかった。

#### 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 5件)

1. Castellanos-Martinez, S., Gómez, M. C., Hochberg, F. G., Gestal, C., and Furuya, H. (2011) A new dicyemid from *Octopus hubbsorum* (Mollusca: Cephalopoda: Octopoda). *Journal of Parasitology* 97: 265-269.
2. Ogino, K., Tsuneki, K., and Furuya H. (2011) Distinction of cell types in *Dicyema*

*japonicum* (Phylum Dicyemida) by expression patterns of 16 genes. *Journal of Parasitology* 97: 596-601.

3. Suzuki G. T. and Furuya H. (2011) Two new species of *Chaetonotus* (Gastrotricha, Chaetonotida, Chaetonotidae) from Japan. *Zootaxa* 3011: 27-37.

4. Miyazawa, H., Yoshida, M., Tsuneki, K., and Furuya, H. (2012) Mitochondrial genome of a Japanese Placozoan. *Zoological Science*, 29: 223-228

5. Catalano, S. R. and Furuya H. (2013) Two new species of dicyemid (Dicyemida: Dicyemidae) from two Australian cephalopod species: *Sepioteuthis Australis* (Mollusca: Cephalopoda: Loliginidae) and *Sepioloidea Lineolata* (Mollusca: Cephalopoda: Sepiadariidae). *Journal of Parasitology*, 99:203-211.

[学会発表] (計 3件)

1. 岡野紗知、常木和日子、古屋秀隆  
頭足類の腎囊にみられるニハイチュウとクロミディナの走性について 日本動物学会第82回大会、旭川、2011年9月22日
2. 松井彰宏、中島陽志郎、古屋秀隆  
ニハイチュウにみられるミトコンドリアゲノムのミニサークル 日本動物学会第83回大会、大阪、2012年9月13日
3. 久山尚紀、古屋秀隆  
ニハイチュウの幼生における逸出過程 日本動物学会第83回大会、大阪、2012年9月13日

〔図書〕（計 2 件）

1. 古屋秀隆 (2012) 「ニハイチュウ」研究者が  
教える動物飼育 日本比較生理性化学会  
編 共立出版 pp. 51-57.
  
2. 古屋秀隆 (2012) 「二胚動物」進化学事典  
日本進化学会編 共立出版 pp. 298-299.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古屋 秀隆 (FURUYA HIDETAKA)  
大阪大学・大学院理学研究科・准教授  
研究者番号：20314354

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：