

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K14780

研究課題名(和文)陸棲捕食性ヒル類における新規形質の適応的意義と種分化への影響の検証

研究課題名(英文) Insight into evolution of the Orobdella gastroporal duct

研究代表者

中野 隆文 (NAKANO, Takafumi)

京都大学・理学研究科・准教授

研究者番号：50723665

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：陸棲捕食性ヒル類で、東アジアに分布するクガビル類を対象として、クガビル類が有する胃通管の機能や役割に関する検討と、クガビル類の種多様性と系統関係の解明に取り組んだ。胃通管については、消化管と同様の構造を有する器官であることが明らかになると共に、クガビル属において広く「精包を受容する」役割を有する事が明らかになった。日本、極東ロシア、台湾での調査の結果、本グループにはまだ多くの未記載種が存在することが判明したため、今後更に系統分類学的研究を進める必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

吸血動物として有名なチスイビル類やヤマビル類に至る過程において、「陸上進出」と「捕食性への進化」が重要な進化的イベントであると考えられている。クガビル類は、この「陸上進出」と「捕食性への進化」を果たした祖先の形質状態を残す分類群と見なされている。当該分類群において、消化管から交接を補助する器官が作られていることが明らかになり、さらに、卵胞がチスイビル類やヤマビル類と同様の形質状態を有する事も判明した。これら成果によってヒル類における「陸上進出」とその後の多様化の歴史を解明するために重要な知見を得ることが出来た。

研究成果の概要(英文)：Orobdella leeches are terrestrial predatory species that are endemic to Far East Asia. The present research tackled the ultrastructure and function of Orobdella gastroporal ducts, as well as the species richness of Orobdella and their phylogenetic relationships. The transmission electron micrographs of gastroporal duct revealed that the endothelium of the Orobdella gastroporal duct is concordant to that of the crop. It is also confirmed that the developed gastroporal duct of Orobdella species receives a spermatophore. The faunal surveys in Japan, Taiwan and the Russian Far East highlighted that there are still many undescribed species within this genus; future systematic studies should clarify the true species richness of this Asian leech taxon.

研究分野：動物系統分類学

キーワード：インベントリー 種類 分子系統解析 卵胞 微細構造

1. 研究開始当初の背景

ヒル類は既知種数が約 700 種で、コンパクトな環形動物門の 1 分類群であるが、生態的特性は多様である。生息環境では、淡水・海水・汽水に加え、陸域にも生息しており、食性についても、脊椎動物に加え、無脊椎動物（節足・軟体・環形）の血液・体液を吸う「吸血性」の種と、自由生活性で「捕食性」の種とを含んでいる（図 1）。吻無蛭類の系統が分岐したポイントに着目すると（図 1 中の α）、「陸上進出」と「脱寄生性」という、ヒル類の多様な生態的特性を創出した進化イベントが同時期に起こったと考えられる（Rousset *et al.* 2008）。

東アジアに生息するクガビル類は、正に陸上進出・脱寄生性が起こった祖先の形質状態を多く残している分類群だと考えられている。更に、クガビル類はその消化管に「胃通管」と呼ばれる構造を有している（図 2）。クガビル類の胃通管は、交接時に精子のカプセル（=精包）を受容する機能を有することが明らかになっており（Nakano 2017）、胃通管は、陸上環境における交接のために「消化管」に創出された「生殖に関わる」新規形質であると考えられている。

したがって、クガビル類を対象として、胃通管の機能形態と系統分類学的研究成果を統合することで、「陸上進出→適応的な新規形質の獲得→種分化の促進」という一連の進化史を検討するという着想に至った。

2. 研究の目的

クガビル類を対象として、胃通管が生殖に果たす役割を明らかにし、その結果と系統分類学的研究の成果を統合し、陸上進出に伴い新規形質を獲得した系統群における進化史の総合的理解を目指す。本研究では「A：胃通管の機能と役割の検証」と、「B：系統分類学の知見を基盤とした陸棲・捕食性ヒル類の進化史解明」を具体的な目的として設定した。

3. 研究の方法

(1) 胃通管の機能と役割の検証

発達した胃通管を有するサラガミネクガビルならびに、その姉妹種でありかつ管状の胃通管を有するイチノモリクガビルを中心としたクガビル類各種を研究室において飼育し、胃通管の微細構造観察や役割の検証を行った。胃通管の形態観察においては、電子顕微鏡観察（TEM）によって、その微細構造の観察を行った。加えて、飼育下の個体の観察によって、サラガミネクガビル以外の種においても胃通管が精包を受容する器官が否かの確定を行った。

(2) 系統分類学的研究

日本における野外調査によって得た標本と、これまで収集してきた標本を用いて、分類形質の観察を進めるとともに、核（18S, 28S, histone H3）とミトコンドリア（cytochrome c oxidase subunit I, 12S-16S, NADH dehydrogenase subunit 1）の複数遺伝子座、合計 8,000 bp 程を用いた分子系統解析も行うことで、邦産クガビル類の種多様性と系統関係解明、新種記載を実施した。

加えて、台湾と極東ロシアにおいて野外調査を行い新規標本を収集することで、当該地域におけるクガビル類を対象としたインベントリーを行うと共に、クガビル属を包括した種多様性の把握と系統関係の解明に取り組んだ。

4. 研究成果

(1) 胃通管の微細構造の検討

サラガミネクガビルの胃通管について、TEM 観察を行ったところ、本器官の内壁が消化器官と同様に、消化顆粒と柔毛を有した分泌細胞より成ることが明らかになった（図 3）。したがって、クガビル類の胃

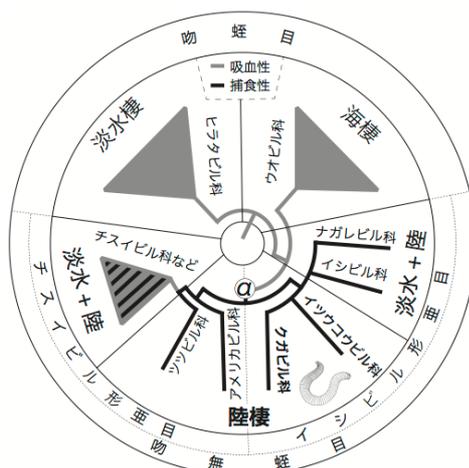


図 1. ヒル類の系統と生態的特性。

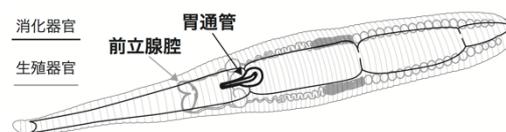


図 2. クガビル類の内部形態。

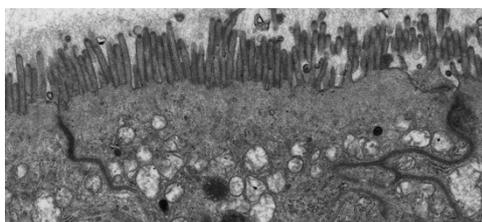


図 3. 胃通管内壁の微細構造。

通管は、消化器官の一部を分岐させ、精包を受容するために造られ構造であると推定された。加えて、内壁の構造から、受容した精包を「消化」する可能性が高いと考えられた。その役割として、1つには、精子が卵巣に移動するために、精包の外装を消化するという可能性が想定される。あるいは、精包の外装部に加えて、残存した精子そのものを消化吸収し、自身の栄養としているという可能性も考えられる。本研究においては、残念ながら胃通管が精子を受容してから、どのように精子が卵巣まで到達するのかを解明することは出来なかったため、詳細については今後の検討が必要である。ただし、本研究によって、クガビル類が、消化管の機能を維持した新規形質(=胃通管)を獲得し、それを交接に用いていることが明らかになった。

(2) クガビル類多種における胃通管の役割

野外で採集したヤツワクガビルについて、採集直後の個体を研究室において観察したところ、胃通孔から白いひだ状構造物が突出していることが認められた。その状態が、サラガミネクガビルにおいて、胃通管が精包を受容していた状況と酷似していたため、当該個体を標本とし、解剖、観察を実施した結果、胃通管が精包を受容していることが確認出来た。

ヤツワクガビルはサラガミネクガビルとは異なる系統群に所属していること。そして、両種ともに、発達した胃通管を有していることから、クガビル属において発達した胃通管を有する種では、その胃通管が精包を受容する器官であることが確かめられた。

(3) 邦産種の系統分類学的研究

本研究を通して、筑波山系に分布する小型のクガビル類について、その形質状態の観察と分子系統的位の推定を行い、未記載種であることが確認出来たので、ツクバクガビルとして新種記載した。当該種は、発達した胃通管を有する種で、関東～東海～紀伊半島～四国に生息する7種から成る系統群に所属していることが明らかになった。更に同じ系統群に所属する大型種が紀伊半島から得られ、形態形質を精査した結果、未記載種であることが明らかになったため、新種記載に向けて準備を進めた。

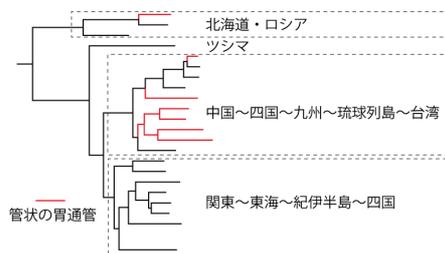


図4. クガビル類の系統関係。

既知種全てを含む包括的な分子系統解析の結果、邦産クガビル類は大きく4系統に分かれ(図4)、それらの関係は(北海道、(ツシマクガビル、((中国～四国～九州～琉球列島～台湾)、(関東～東海～紀伊半島～四国)))になることが明らかになった。なお、「胃通管の退縮(単純な管状化)」は2系統において見られる形質状態であることから、独立して生じたと考えられる。

(4) 台湾・極東ロシア産種のインベントリー・系統分類学的研究

台湾におけるインベントリーと得られた標本の形態観察、ならびに分子系統解析を進めた結果、当該地域には5種程の未記載種が存在することが確認された。多くの種は管状の胃通管を有しているが、中には発達した胃通管を有する種も存在しており、台湾系統内において、胃通管の形質状態が独立して進化した可能性が示唆された。共同研究者と共に記載論文に向け準備を進めている。

極東ロシアにおける調査は2回実施することが出来た。初回の調査では、過去にヨツワクガビルとして報告された標本の産地に向かい、新規標本の収集に成功した。形態形質の精査と分子系統解析を行った結果、未記載種であることが判明したため、*Orobdella ghilarovi*として新種記載した。当該種は北海道に産する2種と姉妹群となることが明らかになり、北海道と極東ロシア地域に産するクガビル類の系統的近縁性を示す結果が得られた。2回目の調査では、Lazovskyにおいて調査を実施し、*O. ghilarovi*を採集すると共に、中型の未同定種を得ることが出来た。当該種の形質状態は、*O. ghilarovi*とは大きく異なり、かつ、分子系統解析やCOIの遺伝的距離の解析結果も別種とすることを支持したため、未記載種であると判断し、共同研究者と共に、新種記載に向けて準備を進めている。

上記に加えて、海馬島より採集されたクガビル類標本についても精査する機会を得た。分子データは得られなかったものの、形態観察の結果、当該標本は北海道とその周辺島嶼に分布するカワツクガビルであることが判明したため、初産地として報告するとともに、クガビル類の分布北限を更新した。

以上の系統分類学的研究を通して、クガビル属全体の分布と種多様性の大枠を明らかにすることが出来た。現在既知種は22種であるが、未記載種も含めると30種以上から成る可能性が高く、日本列島から台湾までの種多様性が特に高いと想定される。朝鮮半島北部は不明であるが、南部ではツシマクガビル1種が広く分布する一方、極東ロシアでも、当該地域内で種分化が起こった可能性が高い。胃通管については、発達した胃通管が祖先形質状態だと考えられ、退縮した胃通管が、属内で並行的に生じたと考えられる。今後は、退縮した胃通管を有する種において、交接がどのように行われているかを明らかにすることで、本属における包括的な進化史を解明することが可能となると考えられる。

(5) クガビル属の卵胞形態

交配実験は失敗に終わったが、採集個体が飼育下で産卵し、クガビル類の卵胞を得ることが出来た。さらに極東ロシアの野外調査においても、クガビル類のみが採集される中、ヒル類の卵胞と思われるサンプルを採集することが出来た。ロシアより得たサンプルについては、卵胞内容物を分子同定した結果、*O. ghilarovi* の卵胞であることが確認出来た。興味深いのは、どちらもハニカム構造のフリルが付いた形態を有した卵胞であったことで、この形質状態は吻無蛭類でも、チスイビル形類の卵胞において見られるものであった。卵胞形態の解明については、当初の研究計画に含めていなかったが、チスイビル形類と共通の形質状態を示すことが明らかに出来、ヒル類における「陸上進出」において、どのような進化が起こったのかを解明するための重要な知見であると考えられる。

<引用文献>

Nakano, T. 2017. *Zool. Sci.* 34: 161–172.

Rousset, V., Plaisance, L., Erséus, C., Siddall, M.E., Rouse, G.W. 2008. *Biol. J. Linn. Soc.* 95: 447–464.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件 / うち国際共著 6件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Nakano Takafumi, Suzuki Hajime, Suzuki Naoko, Kimura Yuichi, Sato Tatsuo, Kamigaichi Hiromi, Tomita Naoki, Yamasaki Takeshi	4. 巻 147
2. 論文標題 Host-parasite relationships between seabirds and the haemadipsid leech <i>Chtonobdella palmyrae</i> (Annelida: Clitellata) inhabiting oceanic islands in the Pacific Ocean	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology	6. 最初と最後の頁 1765 ~ 1773
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/S0031182020001729	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Urbisz Anna Z., Nakano Takafumi, Swiatek Piotr	4. 巻 138
2. 論文標題 Ovary cord micromorphology in the blood-sucking haemadipsid leech <i>Haemadipsa japonica</i> (Hirudinida: Arhynchobdellida: Hirudiniformes)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Micron	6. 最初と最後の頁 102929
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.micron.2020.102929	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kambayashi Chiaki, Kurabayashi Atsushi, Nakano Takafumi	4. 巻 133
2. 論文標題 Topotype-based redescription of the leech <i>Torix tukubana</i> (Hirudinida: Glossiphoniiformes: Glossiphoniidae)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the Biological Society of Washington	6. 最初と最後の頁 59 ~ 71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2988/20-00003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Jeratthitikul Ekgachai, Jiranunskul Putita, Nakano Takafumi, Sutcharit Chirasak, Panha Somsak	4. 巻 933
2. 論文標題 A new species of buffalo leech in the genus <i>Hirudinaria</i> Whitman, 1886 (Arhynchobdellida, Hirudinidae) from Thailand	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ZooKeys	6. 最初と最後の頁 1 ~ 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3897/zookeys.933.49314	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Takafumi Nakano, Larisa Prozorova	4. 巻 53
2. 論文標題 A new species of Orobdella (Hirudinida: Arhynchobdellida: Orobdellidae) from Primorye Territory, Russian Far East	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Natural History	6. 最初と最後の頁 351-364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00222933.2019.1593539	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Prozorova Larisa A., Nakano Takafumi	4. 巻 17
2. 論文標題 First record of the terrestrial predatory leech, <i>Orobdella kawakatsuorum</i> Richardson, 1975 (Clitellata, Hirudinea, Erpobdelliformes), from Moneron Island, Sakhalin Oblast, Russia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Check List	6. 最初と最後の頁 1487 ~ 1491
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15560/17.6.1487	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakano Takafumi	4. 巻 93
2. 論文標題 A new species of <i>Orobdella</i> (Hirudinida, Arhynchobdellida, Orobdellidae) from the Tsukuba Mountains in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Soil Organisms	6. 最初と最後の頁 105 ~ 113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.25674/so93iss2id154	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ito Yoshikazu, Nakano Takafumi, Ohara Mutsuko, Shimizu Eisuke, Ogawa Yoko, Negishi Kazuno	4. 巻 25
2. 論文標題 Ocular infestation by a juvenile leech, <i>Myxobdella sinanensis</i> in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Ophthalmology Case Reports	6. 最初と最後の頁 101389 ~ 101389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajoc.2022.101389	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
ロシア連邦	RAS Far Eastern Branch			
その他の国・地域	National Taiwan University			
ポーランド	University of Silesia			