

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 28 日現在

機関番号：82706

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23870044

研究課題名（和文） 生物の深海進出を可能にした共生システムの進化-ハオリムシ類の進化発生学から-

研究課題名（英文） Evolution of symbiosis underlying adaptation to deep-sea environment -lessons from the evolutionary and developmental biology on Siboglinid polychaetes

研究代表者

宮本 教生 (MIYAMOTO NORIO)

独立行政法人海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏領域・研究員

研究者番号：20612237

研究成果の概要（和文）：サツマハオリムシの神経系の構造を明らかとし、近縁の多毛類には見られない、新たな構造を明らかとした。ハオリムシに近縁なホネクイハナムシの幼生を基質に着底させる方法を確立した。その結果全発生過程の観察に成功し、共生細菌が感染するタイミングを解明した。また実験室内での継代飼育方法も確立した。

研究成果の概要（英文）：We described the neuroanatomy of the vestimentiferan tubeworm *Lamellibrachia satsuma* and revealed the unique neuroanatomical structures, which are not present in their relatives. We found a method for larval settlement in *Osedax japonicus*, observed its development, and established a multi-generation culture system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：進化生物学

キーワード：進化、発生、共生、深海生物、ハオリムシ、ホネクイハナムシ

1. 研究開始当初の背景

生命は、進化の歴史の中で、様々な共生関係を進化させ、様々な環境に適応してきた。その代表的な例が、化学合成細菌の共生による深海の還元環境への適応である。1970 年代後半に深海の熱水噴出孔が発見され、その周辺で非常に豊かな無脊椎動物群集が見つかった。光の届かない深海の生物相は貧弱であると考えられていたが、動物たちは化学合成細菌を共生させることによって暗黒世界でエネルギーを得て繁栄していた。本研究で用

いるハオリムシは、最初に発見された化学合成共生動物（化学合成細菌と共生現象を営む動物）である。ハオリムシ類は、消化器官を持たないなど、発見当初独立の動物門と見なされていたほど、非常に独特の体制を持っている。その系統関係は長年議論的であったが、近年の分子系統解析からカンザシゴカイ類に近縁な環形動物多毛類であることが明らかとなった。このハオリムシの発見を皮切りに、世界中の様々な海域の熱水噴出孔や冷湧水、鯨遺骸や沈木など還元的な環境におい

て化学合成共生動物が発見されてきた。そして化学合成共生動物は特殊な環境に進出し、また栄養を共生細菌に依存しているために、消化吸収に関わる器官が退化しているなど、ボディープランに大幅な変更が起きている。このような特徴から化学合成共生動物は進化生物学の研究対象として非常に注目されている。現在までに共生細菌や宿主の系統解析や生物地理学的な研究が活発に行われ、動物の深海進出に関して重要な知見が得られてきた。それらの結果から、動物は浅海域から、まずは鯨遺骸や沈木などに進出し、その後深海域へと適応したという“ステッピングストーン仮説”が支持されている。以上のように深海域の化学合成生態系における生物多様性や系統関係に関する研究は非常に活発に行われているが、進化過程を分子生物学的に理解するには至っていない。すなわち実際に動物や細菌ゲノムにどのような変化が生じたために、特定の細菌を取り込み、共生関係が成立したのかということ、または共生細菌の獲得によって、どのような発生メカニズムの変更が生じてボディープランの進化に至ったのかということは明らかとなっていない。化学合成共生動物の進化過程を理解するには、発生のどのタイミングで、どの組織に細菌が侵入するのか、またどのタイミングで化学合成共生動物の特徴が現れるのかを正しく理解することが必須である。しかし、細菌の侵入経路に関しても様々な仮説が存在しているのが現状である。

2. 研究の目的

動物の深海進出において最も重要なステップである、化学合成細菌共生システムの進化過程を明らかとする。動物が化学合成細菌と共生関係を結び、極限環境へ進出してきた過程では、大きく2つのステップの進化が存在している。1つは、特定の化学合成細菌を認識し、細胞内に取り込むメカニズムの進化である。そしてもう1つは、化学合成細菌の取り込み後に生じたボディープランの劇的な進化である。本研究では、これら2つのステップを深海の還元環境で代表的な動物群である環形動物のハオリムシ、ホネクイハナムシを用いて解明する。

3. 研究の方法

本研究では、化学合成共生動物（サツマハオ

リムシ・ホネクイハナムシ）の成体と発生過程を、形態学・細胞生物学など様々な手法を用いて観察した。現在飼育中の個体や新たに採集した個体から、卵と精子を取り出し、人工授精させ、様々な発生段階の胚を、光学顕微鏡と電子顕微鏡で観察するとともに、細胞膜・核・神経細胞・繊毛・筋肉・内胚葉・細胞分裂・アポトーシスをそれぞれのマーカーを用いた抗体染色や組織染色によって可視化し、蛍光顕微鏡や共焦点レーザー顕微鏡で観察をした。また共生細菌特異的なプローブを用いた蛍光 *in situ* hybridization (FISH) によって、各発生段階ごとの共生細菌の局在を明らかとした。

ホネクイハナムシ類については、組織や発生過程特異的に発現する遺伝子の網羅的解析を行なった。具体的には、幼生や雄、雌の各組織から RNA を抽出し、配列を決定し、その結果を比較した。

4. 研究成果

(1) サツマハオリムシの神経解剖学
サツマハオリムシの神経系を様々な分子マーカーで観察し、

①脳の形態は他の多くの環形動物と大きく異なること。

②体節を失った領域においても他の環形動物同様に神経の繰り返し構造があること。

③これまで知られていなかった背側神経索を発見した。脳形態が退化的なのは底在性の環形動物ではしばしば報告されており、固着性の生活が影響していると考えられると同時に、消化管の退化による頭部周辺組織の変化が影響していると考えられる。実際に脳と食道下神経節は一つの塊になっている。表皮や中胚葉などが体節性を失っているのに、神経は梯子状に保たれていることは、両者の発生メカニズムが独立に機能していることを示唆している。

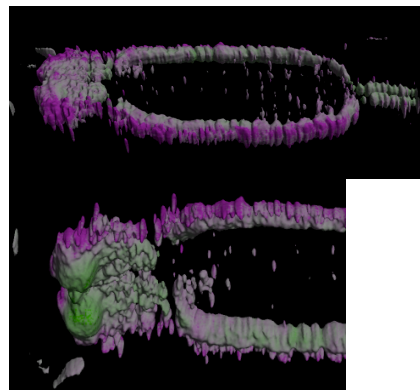


図1. サツマハオリムシの頭部神経の三次元再構築図

上：腹側側方からの図。頭部神経節が左にあり，そこから腹側神経索が二股に分かれ，栄養体部の前端で再び出会っている。

下：頭部周辺の背側側方からの図。左右1対の神経節が背側に突出している。

抗シナプシン抗体で神経繊維を（緑），抗セロトニン抗体でセロトニン作動性神経を染色（紫）

(2) サツマハオリムシの再生

サツマハオリムシについては，実験室内で受精卵を得て，幼生まで発生させることには成功した。しかし，その後基質に着底させ，成体まで発生させることには成功しなかった。その代わりに，再生現象を利用して，サツマハオリムシに特異的な組織の形態形成過程を観察した。サツマハオリムシが失った一部の組織を再生することは知られていたが，どの組織に，どれほどの再生能力があるのかは不明であった。本研究では，サツマハオリムシは，栄養体部で切断すると，前半の断片が，後方を再生することを明らかとした。そして失った後方の体節を2ヶ月程度で完全に再生することを明らかとした。さらに他の環形動物において，体節の発生に重要な働きをすることが知られている *engrailed* 遺伝子が，再生中の体節で発現することを明らかとした。この結果は，サツマハオリムシの体節再生において，発生過程とほぼ同様の遺伝的メカニズムが働いていることを示しており，今後の詳細な研究によって，ハオリムシ類の特殊な体節発生の遺伝的基盤が明らかになることが期待される。

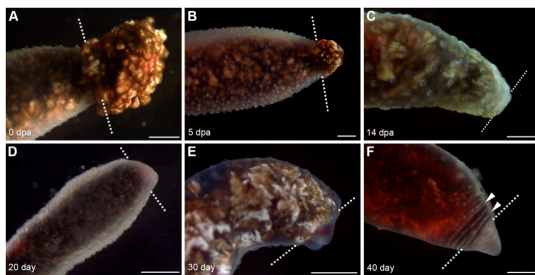


図2. サツマハオリムシの再生過程。

(3) ホネクイハナムシの生活史

ホネクイハナムシの発生過程を記載し，実験室内での継代飼育系を確立した。これまで幼生が骨に着底して，成体になるまでの過程

は全く謎であった。我々は小さな骨に幼生を着底させる方法を確立し，着底直後から経時的に観察することに成功した。また矮雄を雌に着底させる方法も確立した。さらに，ホネクイハナムシの共生細菌は，着底とほぼ同時期に周囲の環境から感染することを明らかとした。

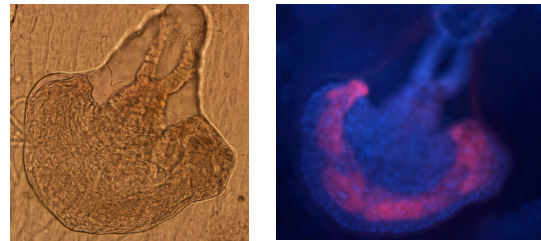


図3. 着底直後の幼若体と，共生細菌。

左：明視野像。右：核（青）と共生細菌（赤）を染色。菌根部に赤いシグナルが見られる。

(4) ホネクイハナムシの組織・発生過程特異的に発現する遺伝子の網羅的解析

ホネクイハナムシの幼生，オス，メスの体幹部，メスの根由来のトランスクリプトームを比較することで，様々な組織・発生過程・性特異的な遺伝子の情報を得ることに成功した。

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2件)

① Miyamoto N, Yamamoto T, Yusa Y and Fujiwara Y. 2013

Postembryonic development of the bone-eating worm *Osedax japonicus*. *Naturwissenschaften* 100: 285-289.

doi: 10.1007/s00114-013-1024-7

査読有

② Miyamoto N, Shinozaki A and Fujiwara Y. 2013.

Neuroanatomy of the vestimentiferan tubeworm *Lamellibrachia satsuma* provides insights into the evolution of the polychaete nervous system.

PLOS ONE 8(1): e55151.

doi:10.1371/journal.pone.0055151

査読有

〔学会発表〕（計2件）

① Norio Miyamoto,

Development and reproductive strategy of
the bone-eating worm *Osedax japonicus*,
13th Deep-Sea Biology Symposium,
2012年12月4日, Wellington, New Zealand.

② 宮本教生,

ヒゲムシ科多毛類の特殊な進化に迫る－ハ
オリムシ, ホネクイハナムシから－,
日本動物学会 第83回大阪大会,
2012年9月13日, 大阪大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮本 教生 (MIYAMOTO NORIO)

独立行政法人海洋研究開発機構・海洋・極
限環境生物圏領域・研究員

研究者番号：20612237