

令和元年6月13日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2018

課題番号：26711022

研究課題名(和文)非モデル動物を用いた海産無脊椎動物幼生の進化に関する比較発生学的研究

研究課題名(英文)Comparative developmental studies on the evolution of marine invertebrate larvae using non-model animals

研究代表者

中野 裕昭(Nakano, Hiroaki)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：70586403

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、これまで研究がさかんでなかった動物の発生学的研究を行うことで、海産無脊椎動物の幼生の進化過程の解明を目指した。また、これらの種において、発生学的研究の礎となるような基礎的な生物学的データを集積することも目的とした。

珍渦虫に関しては、世界で6種目となる新種を日本から報告した。また、珍渦虫の系統学的位置は再考が必要であることを示した。さらに、珍渦虫に寄生し、その発生に負の影響を与える可能性のある直泳動物を新種記載した。平板動物に関しては、繁殖時期を解明し、胚も観察した。また、新たな採集法も開発し、これまで報告のなかった複数箇所からの採取に成功し、系統地理学的解析を行なった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、これまであまり研究がされてこなかった動物の採集法の開発、成体・幼生の飼育法の確立、成体の形態学的観察などを行うことで、新種の記載、新しい器官の発見、繁殖時期の解明など大きな成果が得られ、これらの基礎的な、古典的な実験や研究の重要性が示された。また、本研究で新種が報告されたことから、まだまだ人類に発見されていない生物種が数多く存在することが示唆され、今後の生物多様性や系統分類学的研究の発展が待たれる。今後は、本研究で用いた種も含め、これまであまり研究がさかんでなかった種を研究することで、その幼生形態も含め、動物の進化過程に関して新たな知見を得ることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to uncover the evolution of marine invertebrate larvae by performing comparative developmental studies on so called non-model organisms. Another related aim was to obtain fundamental biological data on these organisms to enable developmental research.

Concerning Xenoturbella, a new species (sixth xenoturbellid species) was reported from Japan. The need for reconsideration of the phylogenetic position of Xenoturbella was suggested from new phylogenomic analyses. Additionally, a new species of orthonectids that parasitizes xenoturbellids was reported, with implications on the effects on the reproduction of its host being discussed.

Concerning placozoans, their breeding season was identified and embryos were obtained. A new collection method established during this study was used for collecting placozoans from new sites around Japan and phylogeographic analyses were performed.

研究分野：系統進化学

キーワード：珍渦虫 珍無腸動物門 平板動物 海産無脊椎動物 左右相称動物 後生動物 幼生 進化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

新口動物内の半索動物門と棘皮動物門は共通した体制を持つディプリュールラ型幼生を持ち、水腔動物(半索動物門と棘皮動物門)の共通祖先がこの幼生を有していたと考えられてきた。さらに、脊索動物をも含めた新口動物全体の祖先もこの幼生を持っていたという説が長く提唱されてきた。旧口動物に目を向けると、多くの動物門でトロコフォア幼生と呼ばれる共通した体制をもつ幼生が報告されていることから、旧口動物全体の共通祖先もトロコフォア幼生を持っていたという説が長く提唱されてきた。ディプリュールラ型幼生とトロコフォア幼生がそれぞれ新口動物、旧口動物の共通祖先で存在していたと考えられてきたこと、及び、それらの幼生の基本的な体制がよく似ていることから、この2種類の幼生は相同なものではないか、と広く考えられてきた。

しかし、この説には様々な理由から反対する意見も根強い。ディプリュールラ型幼生とトロコフォア幼生では口を囲む繊毛帯の繊毛の打つ向きが正反対であることが知られてきた。また、幼生体制全体をパターン化するような遺伝子発現の共通性は未報告である。さらに、新口動物では脊索動物門からはディプリュールラ型幼生が見つかっていない。旧口動物においても、代表的な門である節足動物門はトロコフォア幼生をもたない。また、近年の分子系統解析によって旧口動物が大きく2つ、冠輪動物と脱皮動物に分かれることが判明し、トロコフォア幼生を持つ動物門は全て冠輪動物に含まれることが明らかになった。これらのことから、ディプリュールラ型幼生は水腔動物の共通祖先で、トロコフォア幼生は冠輪動物の共通祖先で、それぞれ別々に獲得され、2つの幼生の体制の類似性は収斂進化の結果ではないか、という案も活発に論じられてきた。

左右相称動物に含まれない動物門である海綿動物、平板動物、有櫛動物、刺胞動物から、ディプリュールラ型幼生やトロコフォア幼生に似た幼生が見つければ、左右相称動物の共通祖先もそのような幼生を持っていた可能性が高くなり、従ってディプリュールラ型幼生とトロコフォア幼生が相同であると推定できる。しかし、これまでのところ、海綿動物、有櫛動物、刺胞動物からはそのような幼生は報告がなく、また、平板動物はその成体の発見から120年以上経っているにもかかわらず、その個体発生過程は未解明である。

発生生物学は従来、脊椎動物やホヤを含む脊索動物門、昆虫を含む節足動物門、線虫を含む線形動物門を中心に行われてきたが、この3門全てがかなり派生的な発生過程をとり、ディプリュールラ型幼生もトロコフォア幼生も持たないことから、左右相称動物の幼生の起源を研究するには適していない。幼生を持つ動物としては古くからウニの発生学的研究が行われており、ここ10年程で半索動物門ギボシムシ、環形動物の各種ゴカイ、軟体動物の各種貝類の研究がさかんになってきている。しかし、系統的にかけ離れた、代表的な門の限られた動物種の研究からだけでは相同性が検出されない可能性もあり、出来るだけ多くの動物種から多くのデータを集積したほうがより正確な進化過程の道筋に近づくと考えられる。

### 2. 研究の目的

近年の研究技術の革新により、様々な動物の成体組織間の進化的関係性は続々と明らかになっている。しかし、海産無脊椎動物の幼生に関しては、その相同性や起源がほとんど解明されていない。新口動物のディプリュールラ型幼生と旧口動物のトロコフォア幼生が共通祖先由来の相同な発生段階なのか、収斂進化の結果なのか、諸説が入り乱れている。その要因の一つとして、発生学的データの不足が挙げられ、系統的に重要な位置を占めながら発生の報告が非常に少ない種も未だに存在する。本研究では、珍渦虫、平板動物、ウミユリ、扁形動物などにおいてその個体発生過程を詳細に解析し、後生動物の幼生の進化や起源について新たな知見を得るのが目的である。しかし、それぞれの動物種に関して、発生や幼生を詳細に観察するために不可欠な実験系や手法が確立されていないのが現状である。したがって、生息場所、採集方法、繁殖時期、種内の多様性、発生段階ごとの餌、成体および幼生の飼育法など、発生学的研究の礎となるような基礎的な生物学的データをこれらの非モデル動物種において集積することも本研究の目的である。さらに、これらの動物の採集の過程で、進化的に重要であると考えられる他の生物種が採取された場合にはその種の基礎的な生物学的知見も明らかにしていきたい。

### 3. 研究の方法

繁殖時期の判明していない動物に関しては、定期的な採集を実施し、繁殖時期の特定を行う。また、既存の方法の改良を重ねることで、効率的な採集方法を確立する。繁殖時期には多くの成体を採集し、実験室内での飼育、および放卵放精誘起を試みる。受精卵を得て、個体発生過程を観察しながら、各発生段階で固定サンプルを作製する。光学顕微鏡による外部構造の観察、切片・各種色素を用いた染色などによる内部構造の観察、走査型・透過型電子顕微鏡による微細構造の観察を行う。また、幼生形質の形成期・維持期においてRNA-seqによる時間的遺伝子発現解析を行い、各動物間の遺伝子発現を比較し、興味深い挙動を示す遺伝子を特定する。それらの遺伝子の空間的遺伝子発現解析を行う。これらの実験結果と既に報告があるウニ、ギボシムシ、軟体動物のデータを比較し、種間における形態学的形質や遺伝子発現の共通性・相違性を明らかにすることで、ディプリュールラ型幼生やトロコフォア幼生など後生動物幼生の起源と進化に関して新たな知見を得る。

#### 4. 研究成果

珍渦虫に関しては、研究期間中にスウェーデンに赴き、多くの成体の採集に成功した。その採集個体の一部はゲノム解析、トランスクリプトーム解析に使用した。珍渦虫と無腸類からなる珍無腸動物門は、現生の左右相称動物の最も基部で分岐したという説が近年有力であったが、これらの解析から、データや解析手法によっては水腔動物(半索動物門と棘皮動物門)に近縁な新口動物の一員であるという系統関係も高く支持されるという結果が得られ、珍無腸動物門の系統学的位置に関して、再考が必要であることを提示した。また、研究開始当初に世界で唯一定期的な採集が可能なスウェーデンにおいて、繁殖時期に寒波の影響で珍渦虫の成体の採集が行えないという事態があった。この事態を避けるために、日本国内での探索を重ね、日本から珍渦虫を採取することに成功した。形態学的、および分子系統学的解析から日本の珍渦虫は世界で6種目となる新種であることも解明し、*Xenoturbella japonica* sp. nov.として記載した。また、この*X. japonica*、及びスウェーデンで採取した珍渦虫の研究から、これまで珍渦虫では報告のなかった構造、frontal pore(前端孔)を発見した。さらに、*X. japonica*を日本近海の複数の場所からの採集に成功し、これらの個体を用いた研究から、種内での多様性が明らかになった。

珍渦虫の研究過程で、珍渦虫に寄生する直泳動物を発見した。その形態学、行動学的解析から新種であることを解明し、*Rhopalura xenoturbellae* sp. nov.として新種記載した。直泳動物はその宿主の生殖に大きな影響があることがこれまでの他種の研究から知られており、珍渦虫の生殖学的、発生学的研究が困難であることの原因の一つが*R. xenoturbellae*による寄生である可能性が示唆された。

平板動物に関しては、繁殖時期がほぼ判明し、その時期に卵割胚が観察された。平板動物は門全体としても卵割胚までしか報告が無く、日本産の平板動物で得られた胚は貴重なサンプルである。これらの胚は固定して、得られた固定胚の観察も行った。また、安定した成体の実験室内飼育システムの維持のために、消化系の遺伝子の研究、浸透圧などの環境変化に対する応答の調査、及び摂食行動の観察も行った。この成果もあり、飼育系は安定して個体数が維持できるようになった。さらに、新たな採集法を確立し、日本国内複数箇所での採集を行い、式根島や小笠原諸島と、これまで報告のなかった場所からの採取にも成功した。そして、日本8箇所に生息するハプロタイプの調査を行ったところ、一つの箇所に複数のハプロタイプが存在すること、多くの場所に生息するハプロタイプもいれば1箇所で見られないものもいること、本州と小笠原諸島では生息するハプロタイプの構成が異なることなどが判明した。これらの結果を投稿論文として発表した。平板動物に関しては、より詳細な系統解析を行い、これまでの系統関係を覆す結果が得られた。さらに、発生制御遺伝子等のクローニングも行い、また、生殖や行動に関する研究も行い、新たな知見が得られた。

棘皮動物門有柄ウミユリ類トリノアシに関しては、生殖時期である夏から秋に採集を行い、成体、および受精卵の入手に成功した。得られた成体を用いて、発生制御遺伝子等のクローニングを行い、また、固定胚の形態学的観察も実施した。さらに、若い成体の採集にも成功し、飼育下においてそれらの個体の成長を観察することで、有柄ウミユリ類の成長に関して新たな知見が得られた。

扁形動物に関しては、発生ステージごとのRNA-seqデータの解析を行った。また、本研究の動物採集の過程で得られた無腸類、およびドングリウミシダの観察も実施し、それぞれ学会発表や論文での発表も行った。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計11件)

Philippe H *et al.* (著者25人中15番目) (2019) Mitigating anticipated effects of systematic errors supports sister-group relationship between Xenacoelomorpha and Ambulacraria. **Current Biology** 査読有 29: 1818-1826 doi: 10.1016/j.cub.2019.04.009

Nakano H, Maeno A, Takatani K & Kohtsuka H (2019) Microfocus X-ray CT (microCT) Imaging of *Actinia equina* (Cnidaria), *Harmothoe* sp. (Annelida), and *Xenoturbella japonica* (Xenacoelomorpha). **Journal of Visualized Experiments** 査読有 in press, <https://www.jove.com/video/59161/microfocus-x-ray-ct-microct-imaging-actinia-equina-cnidaria-harmothoe>

Nakano H & Miyazawa H (2019) A new species of Orthonectida that parasitizes *Xenoturbella bocki*: Implications for studies on *Xenoturbella*. **The Biological Bulletin** 査読有 236: 66-73 doi: 10.1086/700834

Kohtsuka H, Tsuchiya Y & Nakano H (2018) First report of live *Balanometra balanoides* (Echinodermata: Crinoidea), with observations on its coloration, collected from the Sagami Sea. **Biogeography** 査読有 20: 41-44

Miyazawa H & Nakano H (2018) Multiple surveys employing a new sample-processing protocol reveal the genetic diversity of placozoans in Japan. **Ecology and Evolution** 査読有 8: 2407-2417 doi: 10.1002/ece3.3861

Nakano H, Miyazawa H, Maeno A, Shiroishi T, Kakui K, Koyanagi R, Kanda M, Satoh N, Omori A & Kohtsuka H (2017) A new species of *Xenoturbella* from the western Pacific Ocean and the evolution of *Xenoturbella*. *BMC Evolutionary Biology* 査読有 17: 245 doi: 10.1186/s12862-017-1080-2  
Nakano H (2015) What is *Xenoturbella*? *Zoological Letters* 査読有 1: 22 doi: 10.1186/s40851-015-0018-z

〔学会発表〕(計 24 件)

中野裕昭、伊豆半島の深海、および浅海の沿岸域の動物相調査、第 4 回伊豆半島ジオパーク学術研究発表会 (2019)  
浅井仁、中野裕昭、下田で採取された無腸動物の形態観察と系統解析、日本動物学会関東支部 第 71 回大会 (2019)  
高谷謙介、中野裕昭、阻害剤を用いた平板動物の運動メカニズムの検証、日本動物学会関東支部 第 71 回大会  
中野裕昭、日本からの珍渦虫の発見、第 18 回日本分類学会連合公開シンポジウム (招待講演) (2019)  
中野裕昭、日本近海での珍渦虫の探索と発見、名古屋大学大学院理学研究科菅島臨海実験所公開シンポジウム (招待講演) (2018)  
Bam M & Nakano H, Lysozyme from Placozoa, an early diverging Metazoa, lyses both gram-positive and negative bacteria, The JSFS 85th Anniversary-Commemorative International Symposium "Fisheries Science for Future Generations" (2017)  
中野裕昭、宮澤秀幸、前野哲輝、城石俊彦、角井敬知、小柳亮、神田美幸、佐藤矩行、大森紹仁、幸塚久典、日本での珍渦虫の発見、日本動物学会第 88 回大会 (招待講演) (2017)  
埴宗継、久保智広、小田賢幸、中野裕昭、スピルリナを用いた日本産平板動物の飼育、平成 29 年度日本水産学会春季大会 (2017)  
宮澤秀幸、中野裕昭、日本近海に分布する平板動物の遺伝的多様性、日本動物学会関東支部第 69 回大会 (2017)  
中野裕昭、海に生息する平板動物のリゾチームの謎：海水中では機能しない酵素？、筑波大学-KEK 連携セミナーシリーズ第 2 回「生命の機能とかたち」(2017)  
Nakano H, Placozoa: a free-living animal without nerve cells, the 22nd International Congress of Zoology & the 87th meeting of the Zoological Society of Japan (招待講演) (2016)  
Nakano H, JAMBIO Coastal Organism Joint Surveys: Revealing Hidden Biodiversity in Japanese Waters, 3rd International JAMBIO Symposium/Tsukuba Global Science Week 2016 (招待講演) (2016)  
宮澤秀幸、中野裕昭、平板動物ミトコンドリアゲノムの進化、日本進化学会第 18 回大会 (2016)  
埴宗継、中野裕昭、Potential of placozoan lysozyme as a natural antibacterial agent, 国際シンポジウム「海の多様性と地球環境の変化」(2015)  
埴宗継、中野裕昭、平板動物由来リゾチームの機能解析、第 67 回日本生物工学会大会 (2015)  
中野裕昭、珍渦虫とは何なのか、第 30 回国際生物学賞記念シンポジウム (招待講演) (2014)

〔図書〕(計 2 件)

日本動物学会編、丸善出版、「動物学の百科事典」(2018)  
多細胞体制の成立 襟鞭毛虫のような生物から進化か pp. 148-149  
珍無腸形動物 左右相称動物の祖先に迫る? pp. 86-87  
刺胞動物・有櫛動物・平板動物・海綿動物 左右相称でない動物たち pp. 58-59  
岩波書店編集部編、岩波書店、「広辞苑を 3 倍楽しむ その 2」(2018)  
へいばん 平板 pp. 90-91

〔その他〕

一般向け講演

中野裕昭、神経も筋肉もない平板動物、筑波大学下田臨海実験センター一般公開講演会、2018 年 12 月 15 日  
中野裕昭、平板動物から探る動物の進化、下田市水産・海洋学市民講座、2016 年 3 月 18 日、<http://seamoda.i-ra.jp/e933123.html>

一般向け展示

最近話題となった日本からの新種、珍種、新発見、国立科学博物館、2019 年 1 月 8 日-27 日、<http://www.kahaku.go.jp/news/2019/01new-rare/new-rare2019.pdf>  
まだまだ奥が深いぞ! 「相模の海」-最近の生物相調査の成果-、国立科学博物館、2018 年 6 月 13 日-9 月 3 日、<https://www.kahaku.go.jp/procedure/press/pdf/217257.pdf>

#### 一般向け記事

中野裕昭 (2018) 日本で発見された珍渦虫「*Xenoturbella japonica*」-謎多き海生動物の研究を進めるために academist Journal 2018年3月28日、

<https://academist-cf.com/journal/?p=7165>

中野裕昭 (2016) 成体と全く違う姿で生息域拡大か 海産無脊椎動物の幼生 2016年5月22日付伊豆新聞

中野裕昭 (2015) 神経、筋肉なしで動きまわる 平板動物 2015年9月20日付伊豆新聞

中野裕昭、土屋泰孝、佐藤壽彦、品川秀夫、山田雄太郎、大森紹仁、関藤守、幸塚久典 (2015) 相模湾沿岸の海産動物を探る -JAMBIO 沿岸生物合同調査- JAMBIO News Letter 2015年7月発刊

中野裕昭 (2015) それぞれの進化選り生き延びる ウミユリ・ウミシダ 2015年1月18日付伊豆新聞

#### 受賞

2015年9月：平成27年度 日本動物学会奨励賞

[http://www.zoology.or.jp/news/index.asp?patten\\_cd=12&page\\_no=863](http://www.zoology.or.jp/news/index.asp?patten_cd=12&page_no=863)

#### 研究内容等の掲載されたホームページ

<https://sites.google.com/site/hiroakinakanolab/home>

<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p201712181000.html>

<http://www.tsukuba.ac.jp/wp-content/uploads/201712181000-1.pdf>

<http://www.tsukuba.ac.jp/update/awards/20150928092548.html>

<http://www.tsukuba.ac.jp/update/awards/20151120103219.html>

<http://www.tsukuba.ac.jp/update/awards/20190318105129.html>

<https://www.excite.co.jp/news/article/E1536202186347/>

#### 報道関連情報

毎日新聞に記事「謎多い珍渦虫、日本近海で新種発見」2018年1月11日

伊豆新聞に記事「珍渦虫世界6種目発見」2017年12月19日

茨城新聞の記事「珍渦虫の新種発見 日本近海で2個体採取」2017年12月19日

つくばサイエンスニュースに記事「謎多い希少動物 珍渦虫(ちんうずむし)の新種を発見」2017年12月18日

#### 6. 研究組織

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。