

カイヤドリヒラムシの生殖とライフサイクル

*出口 竜作・**佐々木 博成・***岩田 薫・****越前 恵

Reproduction and life cycle of the polyclad flatworm *Stylochoplana pusilla*

DEGUCHI Ryusaku, SASAKI Hiroshige, IWATA Kaoru and ECHIZEN Megumi

要 旨

カイヤドリヒラムシ (*Stylochoplana pusilla*) は、主にイシダタミガイ (*Monodonta labio*) の外套腔に生息している。本研究では、フィールドでの調査と研究室内での飼育・実験により、本種の生殖とライフサイクルについての基礎的知見を得ることを目指した。イシダタミガイを定期的に採集し、内部から得られたカイヤドリヒラムシの個体数、個体サイズ、および性成熟の有無について調べたところ、夏期にのみ性成熟した個体が見られること、秋期の初めに小型で未成熟な個体が急激に増加することが分かった。性成熟したカイヤドリヒラムシの受精嚢内には、すでに受精した卵が保持されていた。このような受精卵は減数分裂第一分裂中期で細胞周期を停止していたが、海水中に産卵されると減数分裂を再開し、卵割を経て幼個体に至った。また、人工的に海水中に切り出されることによっても発生を開始し、一部は幼個体にまで発生した。未成熟なカイヤドリヒラムシをアルテミア (ブラインシュリンプ) の幼生を餌に23℃で飼育したところ、性成熟が誘起され、受精嚢内には正常な受精卵が見られるようになった。また、同じ飼育法で幼個体を性成熟させ、再び産卵させることにも成功した。以上のような飼育法の確立により、カイヤドリヒラムシのライフサイクルを制御し、1年間を通して生殖に関する観察・実験を行うことが可能になった。

Key words : 扁形動物多岐腸類 Polyclad Flatworm

カイヤドリヒラムシ *Stylochoplana pusilla*

イシダタミガイ *Monodonta labio*

性成熟 Sexual Maturity

受精卵 Fertilized Egg

発生開始 Initiation of Development

1 はじめに

「扁形動物」や「ウズムシ」と聞いて、その姿を頭に思い浮かべられる人はわずかだと思われる。「プラナリア」ならば、少しは知られているかもしれない。扁形動物門は多細胞動物の1門であり、渦虫綱、吸虫

綱、条虫綱の3綱を含んでいる (白山, 2000)。このうち、吸虫類と条虫類は一般に寄生虫として知られており、日本住血吸虫やエキノコックスなど人体に深刻な被害を与えるものも多い。一方、渦虫類の大半は自由生活者であり、海水中、淡水中、陸上の湿ったところなどに広く生息している。ちなみに、渦虫 (ウズム

* 宮城教育大学理科教育講座
** 宮城教育大学大学院理科教育専修
*** 宮城教育大学自然環境専攻 (現 村田町立村田第二中学校)
**** 宮城教育大学理科教育専攻 (現 仙台市立柳生小学校)

シ) という名前は、個体の表面(上皮)に繊毛が生えており、移動する際にその繊毛運動によって「渦」が起こることに由来している。

渦虫綱は、無腸目、三岐腸目、多岐腸目など、さらに多くの目に分けられる(白山, 2000)。淡水に生息する三岐腸類は一般にプラナリアと呼ばれており、原始的ながら明瞭な脳を持つ点や強い再生力を有する点などから、これらの研究分野で注目を浴びている。しかし、淡水産プラナリアの多くの種が通常は無性生殖で増殖し、有性生殖を行う時期が限定されていること、卵が少数の卵細胞と多数の卵黄細胞からなる複合卵であり、しかも卵全体が不透明な固い殻に包まれていることなどから、受精や発生の過程を研究することは容易ではない(櫻井ら, 1998)。

これに対し、海産の多岐腸類では、1世紀以上も前から発生学的研究がなされてきた(Wilson, 1898)。日本でも、ウスヒラムシやオオツノヒラムシなどの種において、発生過程の克明な記録がなされている(加藤・峯岸, 1983; 手代木・石田, 1988; 石田, 1998)。淡水産プラナリアとは異なり、これらの多岐腸類の卵は単一卵であり、卵内に卵黄粒を豊富に含んではいるものの比較的透明であるため、卵割過程などが観察しやすい。多岐腸類は他の扁形動物と同様に雌雄同体で

あるが、基本的には自家受精を行わない。減数分裂第一分裂中期の状態にある受精嚢内の卵は、交尾によって他個体から受け渡された精子と受精する。面白いことに、受精嚢内の卵は、受精しているにもかかわらず、海水中に産卵されるまで発生を開始しない。

カイヤドリヒラムシ(*Stylochoplana pusilla*)は、本州太平洋岸に広く分布している。もともとは、S. Bockにより自由生活を送る種として採集・記載されたものであるが、後に加藤(1933)により、主にイシダタミガイ(*Monodonta labio*)の外套腔に生息している種として再記載された。新日本動物図鑑(北隆館, 1965)には、「イシダタミガイの外套腔に寄生」と記載されているが、外套腔に排泄される排泄物を餌としており、宿貝に特別に害を及ぼすことはないため、加藤(1933)は両者の関係を「片利共生」としている。イシダタミガイは潮間帯の比較的上部に生息しており、仙台付近の海岸でも普通に見られる巻貝の1つである。このことから、カイヤドリヒラムシの採集も容易ではないかと考えたことが、本研究を開始するきっかけとなった。本研究では、カイヤドリヒラムシのフィールドでの生息状況について調べるとともに、研究室内での発生過程の観察およびライフサイクルの制御実験を行った。



図1 採集場所の様子。菖蒲田浜(A)と吉田浜(B)の風景と潮間帯に群生するイシダタミガイ(C, D)。DはCの一部を拡大したものである。

2 採集地点

宮城県宮城郡七ヶ浜町の菖蒲田浜（図1A）や吉田浜（図1B）には、イシダタミガイ（図1C, D）が豊富に生息していた。イシダタミガイの貝殻を割り、軟体部を海水（特に断りがない限り、東北区水産研究所から譲り受けた濾過海水を使用）の中に入れて裂いたところ、宿貝1個体から多くのカイヤドリヒラムシが得られた。また、七ヶ浜町の花渚浜、塩竈市の浦戸野々島、石巻市の折浜で採集したイシダタミガイの内部にもカイヤドリヒラムシが見られた。これに対し、東松島市の宮戸島の里浦や潜ヶ浦、宮城郡利府町の浜田漁港、宮城郡松島町の松島ヨットハーバーではイシダタミガイは採集できたものの、10～20個体を調べても、内部にカイヤドリヒラムシは確認できなかった。仙台市宮城野区仙台港の向洋埠頭においては、外洋に面した地点で採集されたイシダタミガイにはカイヤドリヒラムシが見られたが、防波堤に囲まれた内湾側のイシダタミガイには見られなかった。

3 個体数・個体サイズの季節変化

イシダタミガイの殻長と内部に生息するカイヤドリヒラムシの個体数との関係について調べたところ、個体ごとにある程度のばらつきはあるものの、全体としてはイシダタミガイが大きいほどカイヤドリヒラムシ

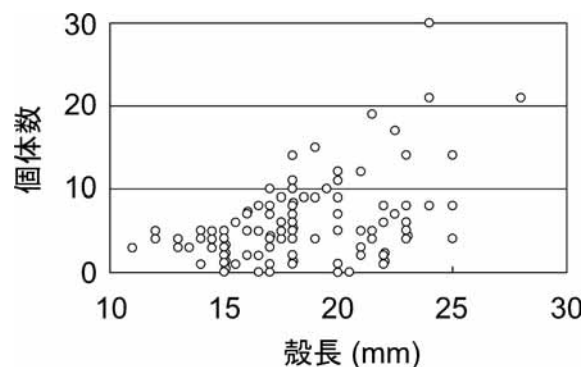


図2 イシダタミガイの殻長とカイヤドリヒラムシの生息数との関係。菖蒲田浜、吉田浜、花渚漁港、仙台港において2008年4月23日と28日に採集したイシダタミガイ100個体の殻長を計測した後、殻を割って内部に生息するカイヤドリヒラムシの個体数を調べた。

の個体数が多いという傾向が見られた（図2）。

次に、殻長が19mm～21mmのイシダタミガイを定期的に採集し、宿貝1個体あたりに生息するカイヤドリヒラムシの個体数がどのように推移するか調べた。カイヤドリヒラムシの個体数は、秋期に急激に増加し、その後は冬期、春期と徐々に減少していき、夏期に最も少なくなった（図3A）。このうち、7回分の調査においては、生殖巣の色からイシダタミガイの性別を判断し（雄は白色からクリーム色の精巣、雌は黒褐色の卵巣を持つ）、性別ごとに内部のカイヤドリヒラムシの個体数について調べたが、雌雄でほとんど違いは見られなかった（図3B）。

図3の調査で得られたカイヤドリヒラムシをシャー

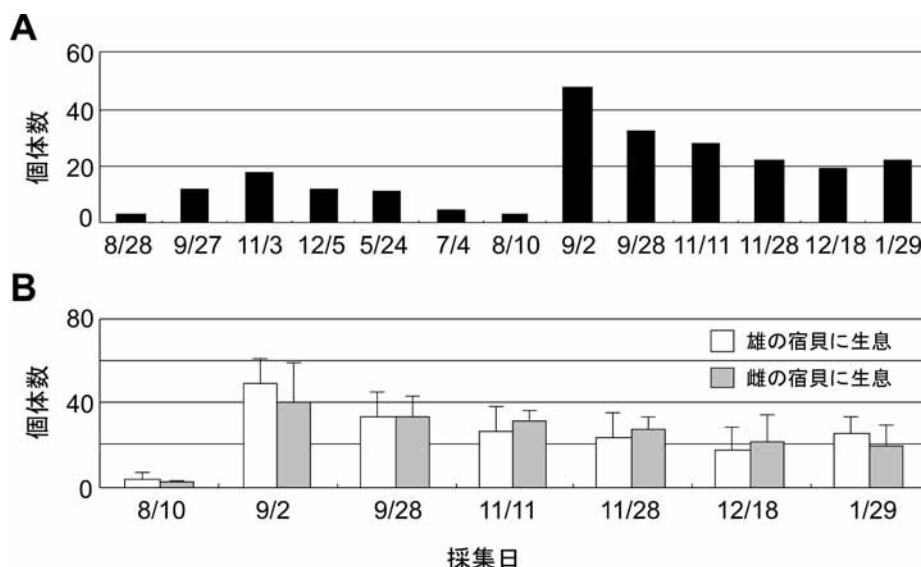


図3 カイヤドリヒラムシの生息数の季節変化。宿貝1個体あたりに生息するカイヤドリヒラムシの個体数の平均値（A）と宿貝の性別との関係（B）。菖蒲田浜において、2003年8月から2005年1月にかけて殻長19mm～21mmのイシダタミガイを20個体ずつ（5月24日と7月4日は10個体ずつ）採集し、調査に用いた。Bのグラフのエラーバーは標準偏差を示している。

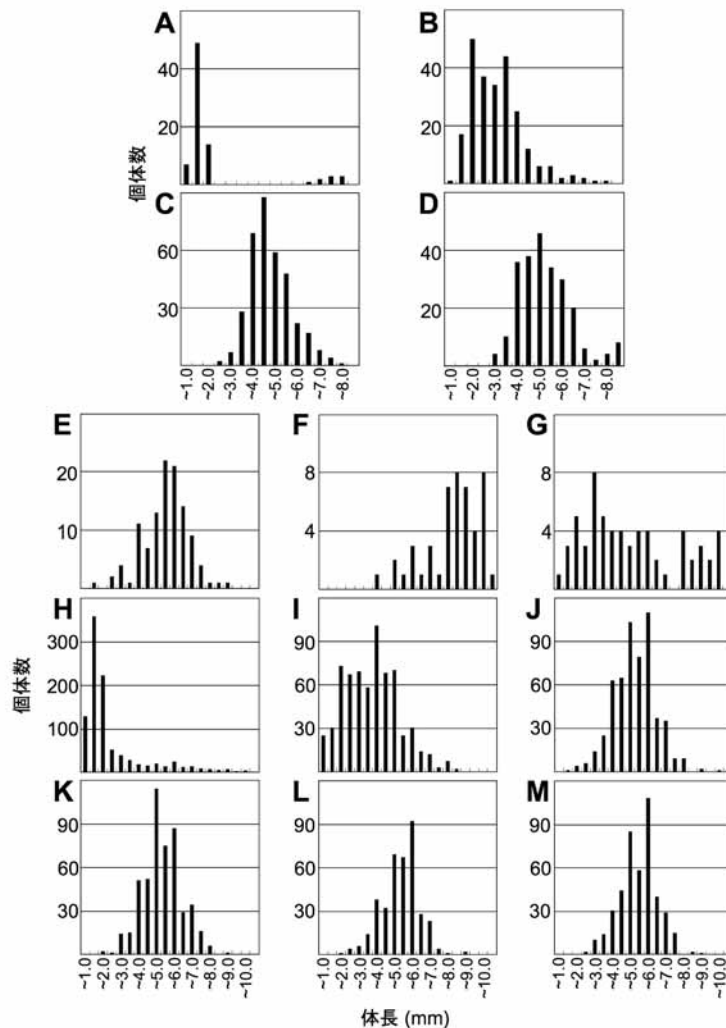


図4 カイヤドリヒラムシの個体サイズの季節変化。2003年8月28日 (A)、9月27日 (B)、11月3日 (C)、12月5日 (D)、2004年5月24日 (E)、7月4日 (F)、8月10日 (G)、9月2日 (H)、9月28日 (I)、11月11日 (J)、11月28日 (K)、12月18日 (L)、2005年1月29日 (M) に採集したカイヤドリヒラムシの体長のヒストグラム。それぞれイシダミガイ20個体 (5月24日と7月4日は10個体) から得られた全てのカイヤドリヒラムシを対象に調べた。

レに移し、移動中の比較的伸長した状態の個体を実体顕微鏡に接続したビデオカメラ (HCC-600, Flovel) のフリーズ機能を用いて撮影することによって、体長を測定した。体長を採集日ごとにヒストグラムとしてまとめたところ、8月下旬から9月上旬の調査では小型の個体の割合が高く、9月から11月にかけて徐々にサイズが大きくなっていくこと、11月から5月にかけては目立った成長が起こらないこと、5月から7月にかけて大型の個体の割合が高くなっていくことなどが分かった (図4)。

4 性成熟率の季節変化

性成熟したカイヤドリヒラムシでは、成熟卵の貯蔵

された受精囊が肉眼では白っぽく、実体顕微鏡下では白色から灰色に見えるようになった (図5 A～C)。これを指標に、性成熟した個体の割合がどのように推移するか調べたところ、10月から翌年の5月にかけては性成熟した個体は全く見られず、6月から7月にかけてその割合が急激に増加することが明らかになった (図5 D)。この時期には、体長4 mm程度の比較的小型の個体も大型の個体と同様に性成熟していた。

5 発生過程

イシダミガイから取り出したカイヤドリヒラムシを飼育する際には、海水を満たした直径8～10 cm・高さ4.5 cmの蓋付きプラスチック容器に複数の個体を

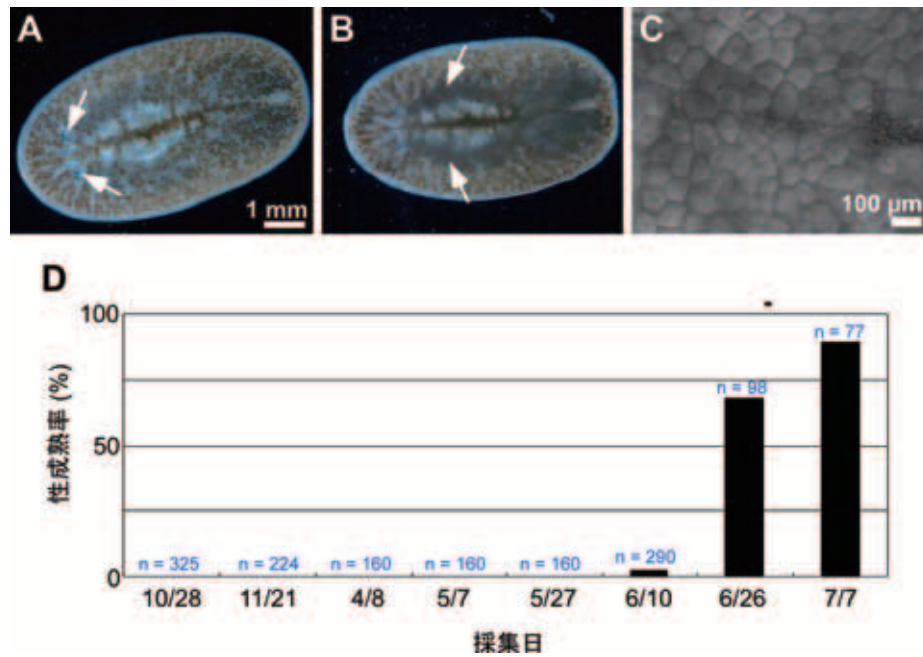


図5 カイヤドリヒラムシの性成熟個体と性成熟率。性成熟個体の背面 (A) と腹面 (B) からの画像、受精嚢の領域の拡大像 (C)、性成熟率の季節変化 (D)。Aの矢印は眼点、Bの矢印は受精嚢、Dのグラフの青字の数値は調べた個体数を示す。A～Cの画像は、海水と0.35M $MgCl_2$ 水溶液を1:1の比率で混合した溶液で個体を麻酔してから撮影した。Dの調査では、菖蒲田浜と吉田浜において、2008年10月から2009年7月にかけて採集したカイヤドリヒラムシのうち、受精嚢が肉眼で白っぽく見えたものを性成熟個体とみなした。

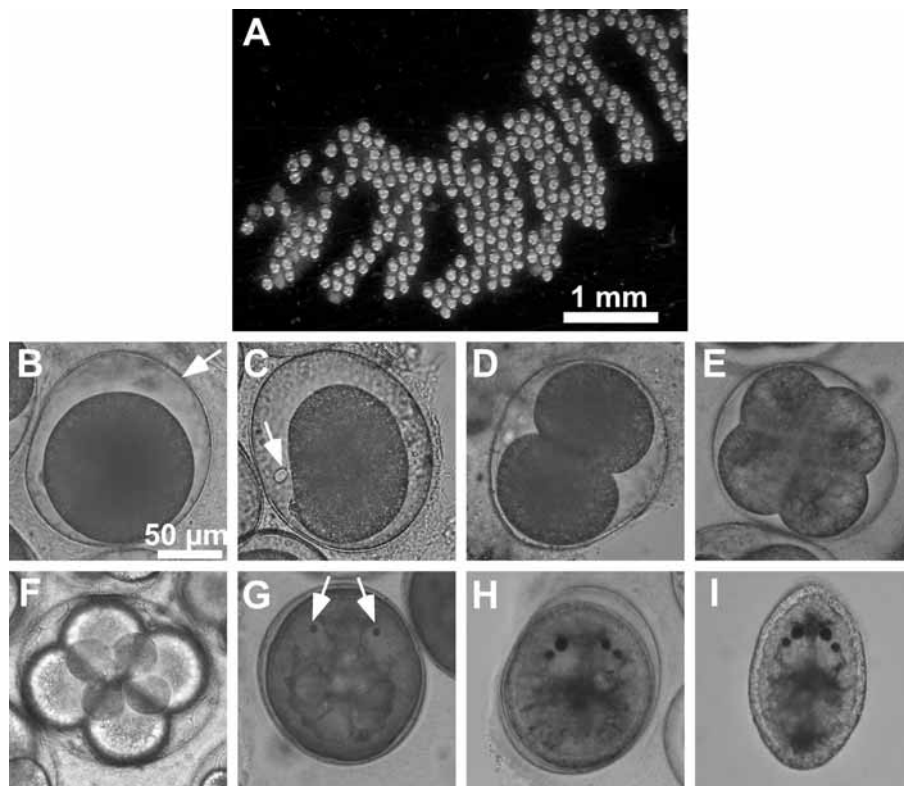


図6 自然産卵された卵の発生過程。産み付けられた卵板 (A)、産卵直後の卵 (B)、第一極体を形成した卵 (C)、2細胞期胚 (D)、4細胞期胚 (E)、8細胞期胚 (F)、2眼点を形成した胚 (G)、4眼点を形成した胚 (H)、孵化直後の幼個体 (I)。Bの矢印は卵殻、Cの矢印は第一極体、Gの矢印は眼点をそれぞれ示している。幼個体については、20mMのアジ化ナトリウムを含む海水中で繊毛運動を停止させてから撮影した。

入れ、餌を与える時以外は23℃・暗状態に置いた。餌にはアルテミア（ブラインシュリンプ）の幼生を電子レンジで加熱した後に冷ましたものを用い、週に4回の頻度で与えた。餌を与える時には、容器の海水を1 cm 以下の高さまで減らし、そこにアルテミアの幼生を加えた。また、約2時間後に容器を新鮮な海水で洗って食べ残したアルテミアを除去し、最後に新鮮な海水で容器を満たした。

性成熟したカイヤドリヒラムシをこのような方法によって飼育すると、1週間以内に産卵が起こり、卵板（図6 A）が容器の縁などに産みつけられた。産卵直後の卵板を剥がし取り、シャーレに移して観察したところ、個々の受精卵は膜状の卵殻に包まれていた（図6 B）。産卵から3～4時間後には第一極体が形成され（図6 C）、7～9時間後に2細胞期（図6 D）、10～12時間後に4細胞期（図6 E）、12～15時間後に8細胞期（図6 F）に至った。その後、産卵から11～13

日後に1対（2個）の眼点が形成された（図6 G）。その数日後に眼点が1対増えて4個になった後（図6 H）、幼個体が卵殻を破って孵化してきた（図6 I）。このような発生過程は、同じ科に属し直接発生を行うウスヒラムシのもの（手代木・石田, 1988；石田, 1998）と非常に良く似ていた。

飼育温度を15℃に下げて飼育した場合には、性成熟したカイヤドリヒラムシは1～2ヶ月後まで産卵を行わなかった。また、15℃で飼育している個体を23℃に移すと、数日以内に産卵が起こった。多くの場合、1度産卵を行ったカイヤドリヒラムシは、その後しばらくすると死亡した。

正常な産卵時には、卵は生体内で殻腺物質に包まれ、そこに卵から放出された卵殻形成顆粒が融合して卵殻が形成されるが、受精囊から海水中に切り出した卵では卵殻形成顆粒の放出のみが起こる（手代木・石田, 1988）。性成熟したカイヤドリヒラムシの受精囊

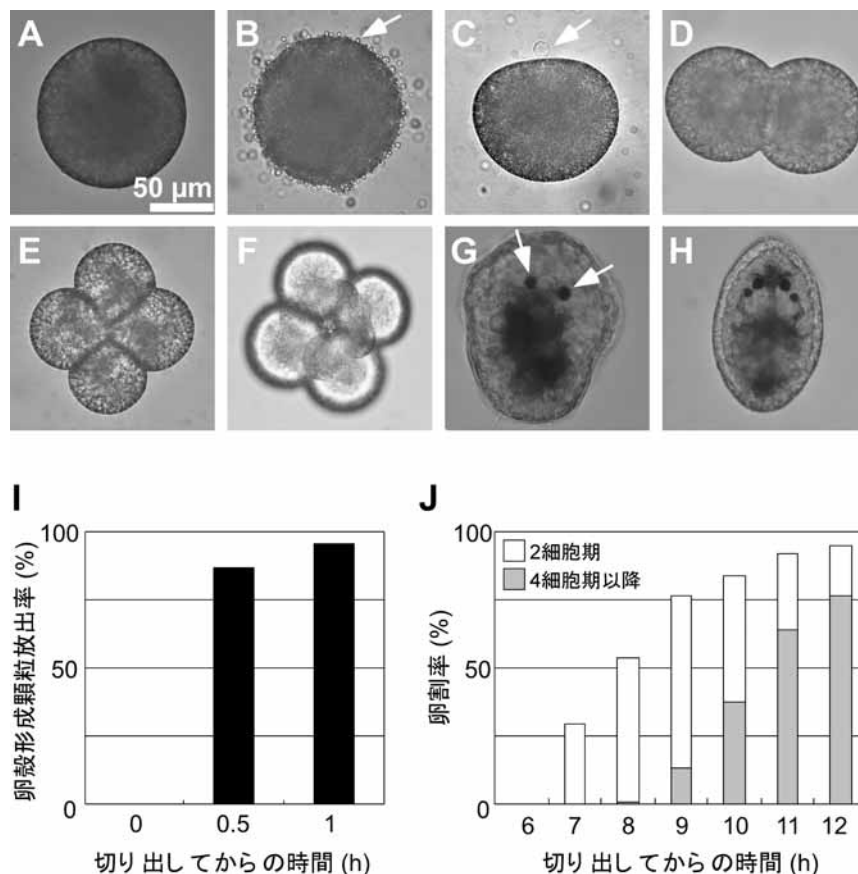


図7 受精囊から切り出した卵の発生過程。人工海水中に切り出した直後の卵（A）、卵殻形成顆粒を放出した卵（B）、第一極体を形成した卵（C）、2細胞期胚（D）、4細胞期胚（E）、8細胞期胚（F）、2眼点を形成した胚（G）、4眼点を形成した幼個体（H）、卵殻形成顆粒放出（I）と卵割（J）のタイムコース。Bの矢印は卵殻形成顆粒、Cの矢印は第一極体、Gの矢印は眼点をそれぞれ示している。Iの実験はカイヤドリヒラムシ6個体から得られた約600個の卵、Jの実験は12個体から得られた約500個の卵を用いて行った。

内の卵を海水中に切り出したところ、その直後には卵の周囲に顆粒は見られなかったが（図7A）、30分後までには多くの卵で卵殻形成顆粒の放出が起こり、1時間後にはその割合は100%に近づいた（図7B, I）。その後の減数分裂や卵割の過程は、卵殻が存在しないことを除くと正常に産卵された時と同様であった（図7C～F, J）。このようにして得られた胚は、16細胞期以降に崩れてしまう場合が多かったが、中にはその後も発生を進め、眼点形成を経て幼個体にまで至るものもあった（図7G, H）。受精嚢から切り出した卵の発生率は、濾過海水よりも人工海水（436.6mM NaCl, 9.2mM KCl, 9.9mM CaCl₂, 46.3mM MgCl₂, 10mM Tris ; pH8.0）を用いた時のほうが高かった。

6 性成熟の人工誘起

次に、未成熟なカイヤドリヒラムシを飼育し、性成熟を人工的に誘起することを試みた。10月から6月にかけて採集した未成熟な個体のうち、体長4mm以上のものを選び、海水を満たした蓋付きプラスチック容器に入れた。飼育温度は23℃と15℃（ともに暗状態）、それぞれ餌を与える個体群と与えない個体群を作り、性成熟率の推移を比較した。11月21日に採集された個体群では、23℃・餌ありの条件で30日後あたりから性成熟したのが見られるようになり、50日後にはその割合は80%に達した（図8A）。これに対し、23℃・餌なしの条件では、性成熟に至る個体はごくわずかであった。また、15℃では、餌の有無にかかわらず、性成熟した個体は全く見られなかった。10月28日、4月8日、5月7日（図8B）、5月27日に採集された個体群でも同様の結果が得られたが、秋に採集されたものより春に採集されたもののほうが、飼育開始から性成熟に至るまでの日数が短くなった。また、6月10日に採集された個体群では、飼育開始後すぐに性成熟が見られるようになり、餌の有無による差はわずかであった（図8C）。また、15℃でも半分弱の個体が性成熟に至った。

いずれの時期に性成熟させた個体においても、受精嚢から海水中に切り出した卵はそのほとんどが卵殻形成顆粒を放出し、正常に卵割した（図9）。このことから、性成熟した個体はイシダミガイに入っていない状態でも交尾を行い、受精嚢に受精卵を貯蔵すると

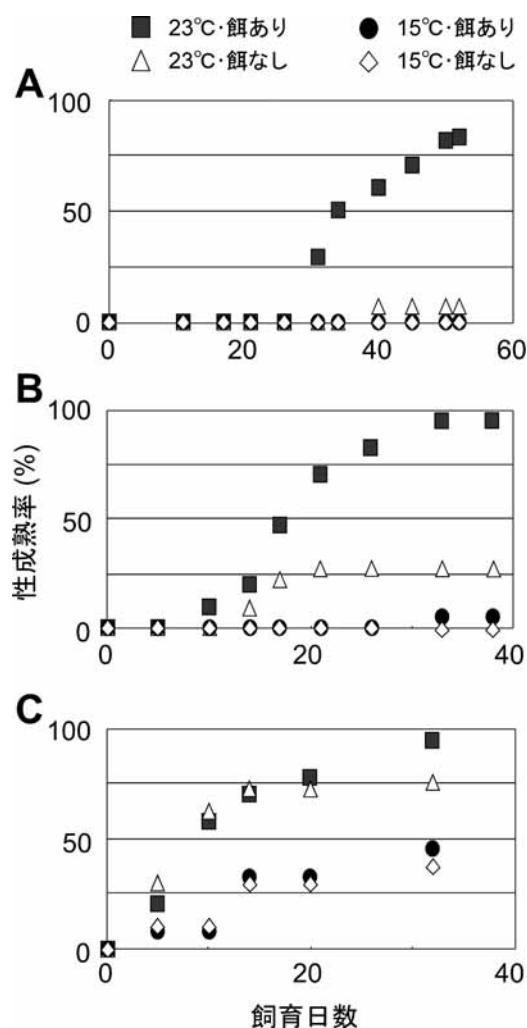


図8 性成熟の人工誘起。2008年11月21日（A）、2009年5月7日（B）、6月10日（C）に採集した未成熟個体を4つの異なる条件下で飼育した時の性成熟率。それぞれの条件ごとにカイヤドリヒラムシ30～90個体を飼育し、受精嚢が肉眼で白っぽく見えた個体を性成熟したとみなした。

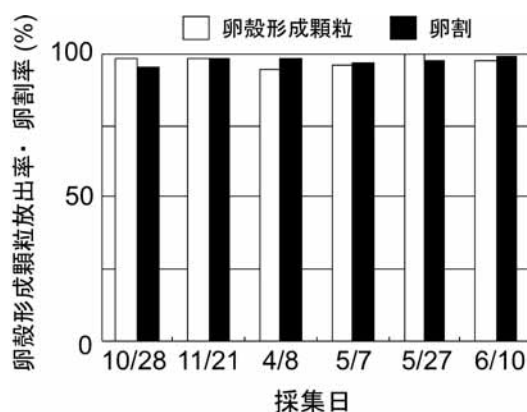


図9 性成熟個体から得られた卵の発生率。2008年10月から2009年6月にかけて採集した未成熟個体を23℃・餌ありの条件下で30～40日間飼育し、性成熟を誘起した。性成熟したもののから5個体を選び、それらの受精嚢から合計で約100個の卵を人工海水中に切り出し、1時間後に卵殻形成顆粒放出率を、15時間後に卵割率を調べた。

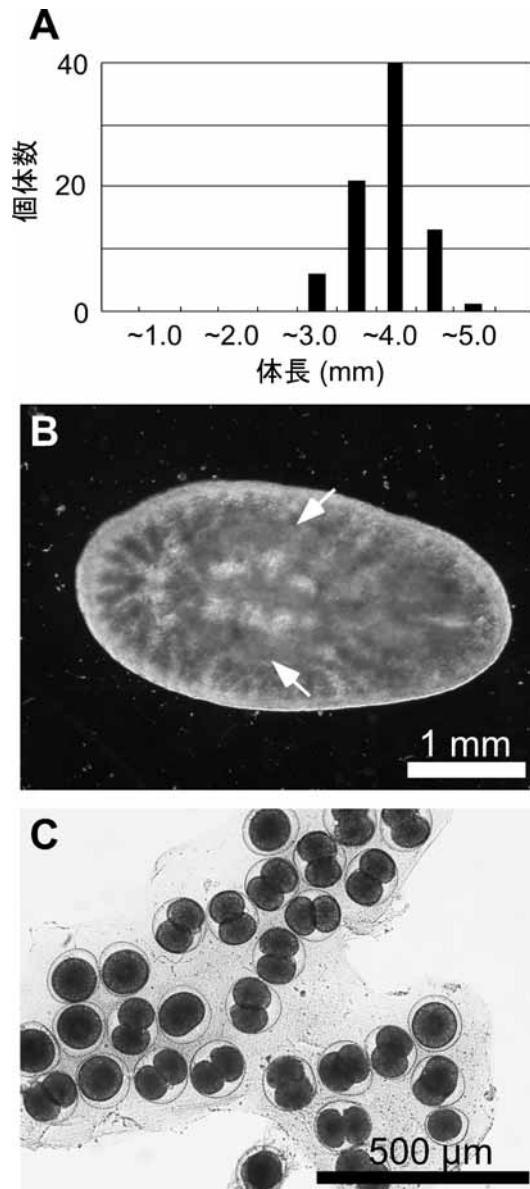


図10 孵化後の幼個体の飼育と性成熟。2008年4月14日に孵化した幼個体を23℃・餌ありの条件下で4ヶ月間飼育した時の体長 (A)、性成熟個体の腹面からの画像 (B)、性成熟個体が産み付けた卵板 (C)。Bの矢印は、受精嚢を示す。

考えられる。

最後に、孵化したばかりの幼個体を飼育し、性成熟させることを試みた。孵化してから1週間程度は、幼個体は海水中を盛んに遊泳しており、生きたアルテミアの幼生を捕食した。そこで、この時期には生きたアルテミアの幼生を毎日与え、2時間後にパスツールピペットを用いて幼個体を新しい容器に移した。その後、底面を這うようになってからは、通常の方法で加熱したアルテミアの幼生を週に4回の頻度で与えた。このようにして飼育を継続した結果、孵化から4ヶ月

後にはカイヤドリヒラムシは体長3～5 mm にまで成長した (図10 A)。また、その中には性成熟したものも8個体含まれており (図10 B)、これらは受精卵を含んだ卵板を産み付けた。このような受精卵は正常に発生し (図10 C)、再び幼個体として孵化した。

7 ライフサイクル

フィールドでの調査と室内での飼育・実験の結果、および過去の文献 (加藤, 1933) における記述を総合し、宮城県内に生息するカイヤドリヒラムシのライフサイクルについて推測すると以下ようになる。

イシダタミガイの外套腔に生息するカイヤドリヒラムシの多くは7月に性成熟し、交尾を行って受精卵を保持する。その後、宿貝を離れてから産卵し、死に至る。産卵された卵は卵殻に包まれた状態で発生し、4眼点を形成した後に幼個体として孵化する。幼個体はしばらく自由遊泳をしながら自力で捕食を行った後、8月下旬から9月上旬にイシダタミガイに入り、外套腔に生息するようになる。9月から11月にかけては徐々に成長するが、海水温が低下してくると成長が起こらなくなる。また、この時期には性成熟可能な大きさに達している個体もあるが、低温下で性成熟も抑制されている。カイヤドリヒラムシはそのまま越冬し、翌年の春に海水温の上昇とともに再び成長を開始し、性成熟に向かっていく。

8 おわりに

近年、進化という現象を発生生物学の観点からとらえ直す、進化発生生物学 (Evo-Devo) と呼ばれる新しい学問が誕生した。古くから行われていた多岐腸類の発生学的研究は、20世紀の半ばには低迷期を迎えたが、ここにきて、系統進化上重要な位置を占める多岐腸類の発生過程を研究することの意義が高まってきている。最近では、割球の解離・除去実験 (Boyer, 1987)、トレーサーを用いた細胞系譜の解析 (Boyer et al., 1998)、抗体を用いた神経形成過程の追跡 (Younossi-Hartenstein and Hartenstein, 2000) など、多岐腸類の形態形成に関する研究が再び盛んに行われるようになっている。その一方で、発生之最も初期の段階、すなわち、卵と精子が受精し、発生を開始する

段階に焦点を当てた研究は全く行われていない。なぜ受精嚢内の卵は受精しているにもかかわらず、海水中に産卵されるまで卵殻の形成や細胞分裂の再開を行わないのかなど、興味深い問題は置き去りにされたままである。

本研究から判明したように、カイヤドリヒラムシでは、大量の個体を容易に採集することができる。また、飼育が容易であり、飼育温度を制御することにより、1年を通して性成熟した個体を得ることができる。さらに、研究室で誕生した個体を再び性成熟させることも可能である。生殖過程について研究する材料として、多くの利点を備えている。また、カイヤドリヒラムシは、生殖のみならず、行動や生態についても興味ある材料である。潮間帯には多種多様な貝類が生息しているにもかかわらず、なぜイシダミガイを好んで中に入るのか？一旦イシダミガイの中に入った個体は、もう宿貝を変更しないのか、それとも移動を繰り返すのか？産卵の際には何を刺激に宿貝から離れるのか？これらの行動については今のところ何も分かっていない。また、今回の調査地点の中には、イシダミガイは分布していても内部にカイヤドリヒラムシが生息していない場所があった。より内湾側の比較的水が汚いと思われる場所ほど生息数が少ないという印象を持っている。もしかすると、海の汚染度を知るための指標生物として利用できるかもしれない。今後、カイヤドリヒラムシについての多面的な調査・研究が望まれる。

謝 辞

塩竈市にある東北区水産研究所からは、本研究に不可欠な濾過海水を定期的に分けていただいた。深く感謝申し上げます。本研究は、2007年度の住友財団基礎科学研究助成を受けて行われたものである。

文 献

Boyer, B. C. (1987). Development of in vitro fertilized embryos of the polyclad flatworm, *Hoploplana inquilina*, following blastomere separation and deletion. Roux's Archives of Developmental Biology 196, 158-164.

- Boyer, B. C., Henry, J. J. and Martindale, M. Q. (1998). The cell lineage of a polyclad turbellarian embryo reveals close similarity to coelomate spiralian. Developmental Biology 204, 111-123.
- Wilson, E. B. (1898). Considerations on cell-lineage and ancestral reminiscence, based on some points in the early development of annelids and polyclads. Annals of the New York Academy of Sciences 11, 1-27.
- Younossi-Hartenstein, A. and Hartenstein, V. (2000). The embryonic development of the polyclad flatworm *Imogine mcgrathi*. Development Genes and Evolution 210, 383-398.
- 石田幸子 (1998). 海産プラナリア多岐腸類の発生. プラナリアの形態分化—基礎から遺伝子まで—(手代木渉・渡辺憲二編), 241-258, 共立出版.
- 加藤光次郎 (1933). カヒヤドリウヅムシ *Stylochoplana pusilla* Bock に就て. 動物学雑誌 45, 487-490.
- 加藤光次郎・峯岸秀雄 (1983). 扁形動物 渦虫類・無脊椎動物の発生 (上) (団勝磨・関口晃一・安藤裕・渡辺浩編), 145-158, 培風館.
- 櫻井隆繁・石田幸子・手代木渉 (1998). 淡水生プラナリアの胚発生と分化. プラナリアの形態分化—基礎から遺伝子まで—(手代木渉・渡辺憲二編), 90-222, 共立出版.
- 白山義久 (2000). 無脊椎動物の多様性と系統. 裳華房.
- 手代木渉・石田幸子 (1988). 扁形動物 (渦虫類). 海産無脊椎動物の発生実験 (石川優・沼宮内隆晴編), 52-69, 培風館.

(平成21年9月30日受理)