

# 筑波大学下田臨海実験センター 年次報告書

平成30年度版

(2018年度版)



2018年3月

## 活動の概要

長きに渡りセンター長の重役を務められた稲葉一男前センター長より、その重責を引き継ぐこととなった笹倉です。2018年度はその1年目となりましたが、学内のセンター再編に伴って、下田臨海実験センターは全国級共同研究拠点に分類されることとなりました。その影響で早速今後5年間の分厚い計画書を提出しなくてはならないということになって、その書類を書き上げつつ、本センターの目指す方向性について考えていました。

本センターとして、世界で唯一のユニークな研究拠点でありたいと私は考えています。研究において重要なのは新規性です。世界で初の発見や報告が重要なのです。そのような他にない、ユニークな話題を常に提供し続けるセンターであることが、本センターの存在意義を高めることにつながると考えています。より具体的には、例えば研究材料ではホヤやウニの一部のように既にモデル化されているものを追求することは言うに及ばず、これまで扱いが難しかった生物種を実験に取り入れたりすることによって多様な研究を展開させることが必要です。海洋生物にはそのような未知の研究材料が豊富に存在します。逆に言えば、まだまだ研究が途上であるということです。研究を深めるには従来の解析方法に加えて新しい手法を積極的に導入することが必要です。特に難しい実験技術を有することは、他に追従する者のない独自の研究を実施する強力な武器ともなります。臨海実験施設として下田近海や式根島などの調査海域の特異性を生かし、世界でここでしか実施できない研究を推進することも大切です。これらの研究基盤・リソースを意識しつつ、海洋研究のフロンティアを開拓するような活動を展開するセンターへと成長していければと考えています。もちろん既に達成できていることもあるでしょうから、さらにその方向で突出できればと思います。また、これらのユニーク性を追求することで、利用者にもそれらを利用した研究、これまであきらめていたような研究までも実施いただけることとなりますので、共同利用や共同研究の拠点としての活動の一層の活性化にも貢献するでしょう。全国級共同研究拠点の計画書を書きながら、そのようなことを考えました。

下田臨海実験センター長 笹倉 靖徳

## Summary of activities

While writing a planning letter for next 5-year period, I thought of what this center should be. The keyword that represents my idea is “uniqueness”. Model marine organisms such as ascidians and sea urchins are of course important materials for molecular studies. At the same time, establishment of a new model is also important to address novel biological phenomena. Marine life is the source of diversity. Marine organisms have their own ecological features that are interesting but which bases have not been understood. Attempts to use these novel organisms as experimental models will be necessary for understanding the ocean because it includes various organisms many of them have not been discovered. Appropriate technologies are necessary to deepen a research. Not a few technologies and techniques are still difficult to do even with recent technological advances. Specially trained researchers are needed to carry out them. Having novel technologies provides a great power to address mechanisms of biological phenomena that could not be achieved by any others. Grasping characteristics of nearby oceans is important to plan researches that could only be done in the fields. Our center faces high-quality oceans near Izu peninsula and Shikine Island. Finding a subject that make use of the advantages of these marine areas is also required. In sum, unique research activities will be necessary to make our center the leading center for marine biology all over the world.

Director of Shimoda Marine Research Center, University of Tsukuba

Yasunori Sasakura

# 要 覧

## 所在地と環境

センターは下田市街より南へ丘を一つへだて、下田湾の分枝である大浦湾の奥に位置する。湾外は直ちに黒潮洗う外洋であるが、湾内にはわずかながら内湾的環境も散見される。

センターで使用されている動物は、クロイソカイメン、ヒメエダミドリイシ、イソバナ、ヒザラガイ、アメフラシ、ウミフクロウ、タツナミガイ、イセエビ、オニヤドカリ、ウミホタル、ウミクワガタ、コンブノネクイムシ、ツガルワレカラ、ムラサキウニ、アカウニ、バフンウニ、ラッパウニ、タコノマクラ、ミダレキクイタボヤ、ミサキマメイタボヤ、ウスイタボヤ、イタボヤなどや各種の魚類である。また、伊豆半島では400種余の海藻が知られている。下田周辺の海には褐藻アラメ・カジメの海中林が発達しており、これは比類なく見事な状態である。

## 施設・設備

建 物 (延 3,931m<sup>2</sup>)

第1研究棟	鉄筋3階建 (研究室10, 実験室9, 観測測定室2, 電顕室2, 標本室1, 図書室1, 演習室1, 低温室1, 暗室3, 印刷室1, その他5)
第2研究棟	鉄筋2階建 (研究室3, 実験室5, 講義実習室1, 資料保存室1, 分析室1, 暗室1)
第3研究棟	鉄筋2階建 (研究室4, 実験室1, 共同分析室1, 共同研究スペース1, 会議・セミナー室1, 測定機器室1, その他3)
実習棟	鉄筋平屋 (大実習室1, 室内飼育室1)
海洋観測棟	鉄筋平屋 (海洋観測室1, 資料保存室1, 作業室1, シャワー室1)
宿泊棟	鉄筋3階建 (洋室24, 和室3, 食堂1, 浴室2, 休憩室1)
船 舶	つくばII (19t, 612馬力×2, 定員40名) カレット (0.5t, 9.9馬力, 定員6名) SMRC (ゴムボート, 8馬力, 定員4名) オベリア (FRP手漕ぎボート, 定員2名)
海水設備	水深3mから新鮮な海水を海拔約13mにある56トンタンクに常時汲み上げ、屋内外の飼育施設および各研究棟の実験室に枯渇なく供給している。

## 利用方法

利用希望者はセンター利用申込書及び関連書類に必要事項を記入し、利用開始日の2週間前までに当センター事務室あてにE-mailまたはFaxで送る。学生・大学院生が利用する場合は、指導教員より申し込む。利用の諾否については、折り返しE-mailまたはFaxで通知する。利用申込書はホームページからダウンロード可能である。原則的に休日の利用はできない。また、混み合う期間は利用日など希望に添えないこともある。学生や大学院生が利用する場合には、学生教育研究災害傷害保険（もしくはこれに相当する保険）に加入していることが望ましい。不明な点のある場合は、直接センターに問い合わせしてほしい。臨海実習のための利用を希望する場合は、前年度の12月までにセンター長と連絡をとり利用許可の内諾を得なければならない。さらに、実習開始日の一ヶ月以上前に実施内容に関してセンター担当教員と相談したのち、利用申し込みを行なう。

## センター職員

			分野・専門	e-mail address
教員	教授 センター長	笹倉 靖徳	発生遺伝学	sasakura@shimoda.tsukuba.ac.jp
教員	教授	稲葉 一男	分子細胞生物学	inaba@shimoda.tsukuba.ac.jp
教員	教授	Jason Hall-Spencer	環境生態学	j.hall-spencer@shimoda.tsukuba.ac.jp
教員	准教授	谷口 俊介	発生生物学	yag@shimoda.tsukuba.ac.jp
教員	准教授	中野 裕昭	進化発生学	h.nakano@shimoda.tsukuba.ac.jp
教員	助教	柴 小菊	細胞生物学	kogiku@shimoda.tsukuba.ac.jp
教員	助教	和田 茂樹	生物海洋学	swadasbm@shimoda.tsukuba.ac.jp
教員	助教	堀江 健生	動物生理学	horie@shimoda.tsukuba.ac.jp
教員	助教	今 孝悦	海洋生態学	kon@shimoda.tsukuba.ac.jp
教員	助教	Sylvain Agostini	海洋生物学	agostini.sylvain@shimoda.tsukuba.ac.jp
教員	助教	Ben Harvey	環境生態学	ben.harvey@shimoda.tsukuba.ac.jp
専門員		潤米 保男		urume@shimoda.tsukuba.ac.jp
研究員		Yang Sung-Ying		
技術職員		柴田 大輔		shibata@shimoda.tsukuba.ac.jp
技術職員		大植 学		ooue@shimoda.tsukuba.ac.jp
技術職員		小高 友実		kodaka@shimoda.tsukuba.ac.jp
技術職員		高野 治朗		takano@shimoda.tsukuba.ac.jp
非常勤	研究員	笹倉 暁子		
非常勤	研究員	宮澤 秀幸		
非常勤	研究員	梁瀬 隆二		
非常勤	事務補佐員	土屋 富士子		
非常勤	事務補佐員	土屋 理恵		
非常勤	事務補佐員	鈴木 敦子		
非常勤	臨時用務員	山田 順子		
非常勤	臨時用務員	田中 文子		
非常勤	臨時用務員	秋元 公子		
非常勤	臨時用務員	堀内 愛子		
非常勤	技術補佐員	高橋 妃呂美		
非常勤	技術補佐員	鈴木 真紀子		
非常勤	技術補佐員	田中 佐貴子		
非常勤	技術補佐員	秋山 佳子		
非常勤	技術補佐員	大畑 雅江		
非常勤	技術補佐員	土屋 絵里		
非常勤	技術補佐員	田子内 加代		
非常勤	技術補佐員	土屋 泰孝		

非常勤 技術補佐員 佐藤 壽彦  
学振興会特別研究員 谷口 順子  
学振興会特別研究員 寺内 菜々

## 分野別研究概要・トピックス

海洋分子生物学部門 遺伝学分野

笹倉 靖徳 教授

### 【研究概要】

遺伝学分野では、世代時間が短く室内飼育系が確立しているホヤの1種、カタユウレイボヤを用いて、遺伝学的実験手法から遺伝子の発現・生理的機能の解明を進めている。またカタユウレイボヤはナショナルバイオリソース事業に採択されており、その代表機関として各種のトランスジェニック系統や突然変異体系統、DNA コンストラクトなどを収集し、世界の研究者へと提供するプロジェクトを、京都大学と東京大学と共に進めている。



図1：カタユウレイボヤ *Ciona intestinalis*

### 【トピックス】

- 1) ホヤの変態時における成体組織分化に関する知見

我々のグループは現在、ホヤの変態に特に注目して研究している。ホヤは成体の外見とは全く異なる、オタマジャクシ型の幼生形態をしており（図2）、活発に遊泳する。そのような、幼生と成体の形態

や生活様式の大幅な変化をもたらすのがホヤの変態である。外見だけでなく、幼生の時には機能していない消化器系や循環器系が変態中に増殖・分化し機能を始めることも分かっている。

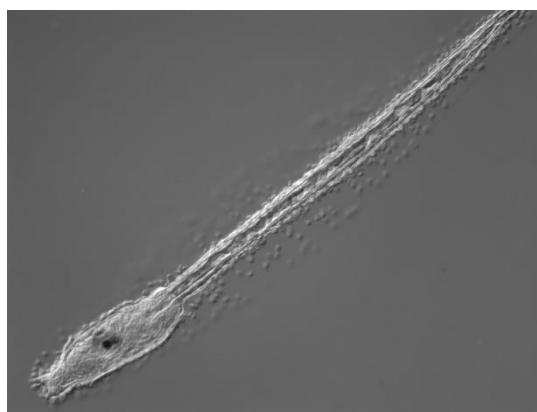


図2：カタユウレイボヤのオタマジャクシ型幼生

ホヤの変態は、幼生が付着突起で固着することが開始のトリガーになるとされている。では、固着した刺激で上記の成体組織・器官の分化も開始されるのか、もしくはそれらの分化は固着とは独立に進行するのか、そのことが謎であった。成体の組織や器官で蛍光タンパク質を発現する系統を利用して、そのことを検証する実験を行った。具体的には、それらの系統の幼生を変態開始しないような条件で飼育し、蛍光タンパク質が発現するかどうかによって、成体構造の分化が進行するかどうかを確認することとした。その結果、神経系と内胚葉系の組織については変態しない条件下においても、時間経過とともに蛍光タンパク質の発現が認められ、



その発現パターンは変態後のものに類似していた (図 3)。このことから、ホヤの変態の開始は、組織分化のタイミングとは必ずしも一致しないこと、組織分化は固着無しでも進行することが明らかとなった。

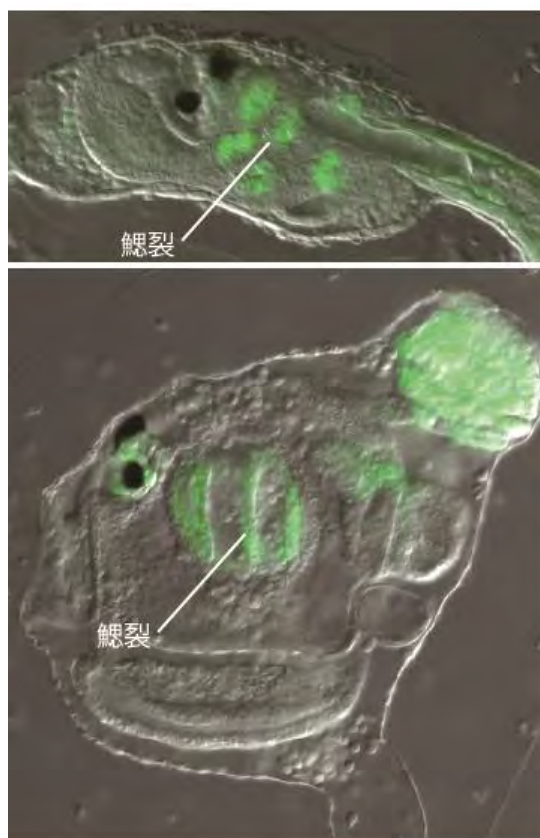


図 3: (上) 長期間幼生のままで維持した、鰓裂で GFP を発現させる系統。鰓における GFP の発現が認められる。(下) 同じ系統の変態後の個体の GFP 発現パターン。共に、左右でそれぞれ一対、4つの鰓裂が存在する。

## 2) ナショナルバイオリソース事業の活動

2017 年度から、ナショナルバイオリソース事業 (NBRP) は第 4 期に入っている。

第 4 期では従来のトランスジェニック系統や突然変異体系統に加えて (図 4)、NBRP 系統の作製と解析に用いられた DNA コンストラクトも収集し、より安定的なリソース事業を目指すこととなった。2018 年度には、遺伝学分野から延べ 39 件の系統リソースと、32 件の DNA コンストラクトが提供されるなど、本リソース事業はホヤ研究を支える欠かせない事業となっている。前段落で紹介した実験でも本リソースの系統が利用されている。本事業については以下の URL に詳細がある。

<http://marinebio.nbrp.jp/>

<http://marinebio.nbrp.jp/ciona/>

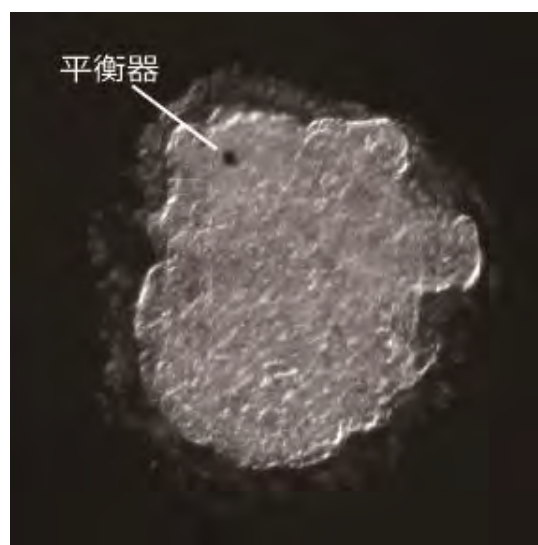


図 4: 2018 年度に NBRP リソースとして収集したトランスジェニック系統が示す発生異常。幼生期であるが、体軸の方向も分からないボールのような形態になる。平衡器などの組織分化は完了している。この形態異常は、posterior end mark 遺伝子の母性での機能が欠損することで引き起こされる。

## 研究成果

### 原著論文

1. Horie T, Horie R, Chen K, Cao C, Nakagawa M, Kusakabe T.G., Satoh N, **Sasakura Y**, Levine M  
Regulatory cocktail for dopaminergic neurons in a protovertebrate identified by whole-embryo single-cell transcriptomics. *Genes & Development* 32, 1297-1302 (2018)
2. Satoh T, Iitsuka T, Shiraishi A, Hozumi A, Satake H, **Sasakura Y**  
piRNA-like small RNAs are responsible for the maternal-specific knockdown in the ascidian *Ciona intestinalis* Type A. *Scientific Reports* 8, 5869 (2018)

### 学会発表

1. **笹倉靖徳**  
ゲノム編集の実際.  
ホヤ研究を中心とした技術研究会  
京都 2019年3月23日 (特別・招待講演)
2. **笹倉靖徳**  
ゲノム編集について.  
NBRP カタユウレイボヤ講習会 静岡  
2019年3月18日・19日 (口頭発表)
3. **笹倉靖徳**  
カタユウレイボヤ 脊索動物の特徴を備えた単純な体制をもつ動物の研究支援.  
第41回日本分子生物学会年会 神奈川 2018年11月28~30日 (ポスター発表)
4. **笹倉靖徳**  
脊索動物ホヤの変態は、GABA を介した

ゴナドトロピン放出ホルモン GnRH の放出制御によって開始される.

第41回日本分子生物学会年会 神奈川 2018年11月28日 (ポスター発表)

5. **笹倉靖徳**  
遺伝子破壊体を用いたカタユウレイボヤバソプレシンの機能解析.  
第41回日本分子生物学会年会 神奈川 2018年11月28日 (ポスター発表)
6. **笹倉靖徳**  
第4期ナショナルバイオリソース事業におけるカタユウレイボヤ.  
第4回ホヤ研究会 仙台 2018年10月5日 (口頭発表)
7. **笹倉靖徳**  
ホヤの変態機構の研究の展開.  
第4回ホヤ研究会 仙台 2018年10月4日 (口頭発表)
8. **Sasakura Y**  
Research projects in Shimoda Marine Research Center, University of Tsukuba. University of Tsukuba and Harry Perkins Institute of Medical Research Mini-Symposium, Perth, Australia 2018年6月5日 (特別・招待講演)
9. **笹倉靖徳**  
海の生き物「ホヤ」を研究して私たちにもたらされるもの.  
筑波大学下田臨海実験センター海洋生物講演会 静岡 2018年4月16日 (特別・招待講演)

Department of Marine Molecular Biology,  
Genetics group

Yasunori Sasakura, Professor

[Summary]

The tunicate *Ciona intestinalis* (Fig.1) is splendid experimental model for genetics, because of its relatively short generation time (2-3 months) and established in-laboratory culturing systems that are essential for preventing genetically modified organisms from spreading the ocean. The genetic group uses this tunicate to pursue molecular mechanisms underlying development and physiology of chordates.

*Ciona intestinalis* has been selected in the National BioResource Project (NBRP), Japan. This project is purposed to support research activities by providing genetic resources. Our group is the core center of *Ciona* NBRP, and together with Kyoto Univ. and Univ. Tokyo, we are engaged in collecting transgenic and mutant lines of *Ciona* as well as DNA constructs for their long-term storage and provision of them to researchers upon request.



Fig 1. The model tunicate *Ciona intestinalis*

[TOPICS]

### 1. Specification of adult organs during metamorphosis in *Ciona*

Unlike vase-like sessile adults, larvae of ascidians exhibit tadpole-like structure (Fig. 2) and they swim actively. During development, ascidians modify their body structure by metamorphosis. By metamorphosis, ascidians lose larva-specific organs such as tail, whereas they grow organs that are necessary to exert functions after metamorphosis. Gill, endostyle/thyroid gland and digestive tube are examples of adult organs that are primitive in the larval body and grow to be functional after metamorphosis.

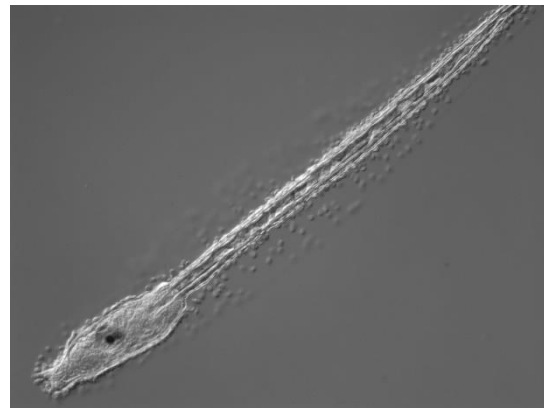


Fig. 2. A larva of *Ciona intestinalis*

The key event that triggers ascidian metamorphosis is settlement. Without this event, ascidian larvae do not start metamorphosis. Ascidian larvae have adhesive organ at the anterior end of its body. Once they adhere to substrate with the organ, the stimulus of adhesion triggers subsequent

metamorphic events. However, the relationships between settlement and development of adult organs was not clear. Is settlement triggers specification (for example, inducing expression of adult-specific genes) of these adult organs, or this event is not triggered by settlement; adult organ specification takes place by an internal mechanism? To answer this question, we used transgenic lines that express GFP in adult organs. When larvae of the transgenic lines were cultured while preventing their adhesion, they kept larval shape. These larvae exhibited GFP expression like that in the juveniles (the animals that completed metamorphosis). Therefore, specification of adult organs is not triggered by settlement.



Fig. 3. Adult organ specification in the larval body. (Upper) A larva of gill-GFP line prevented from adhesion and subsequent metamorphosis. The four gill slits, a typical adult organ, expresses GFP in the larval trunk. (Lower) A juvenile of the same line as the above completed metamorphosis.

## 2. National BioResource Project

The fourth stage of this project started from 2017. The project about *Ciona intestinalis* was continued in this stage. In this project, we collect, preserve and deliver transgenic/mutant lines and DNA constructs that were used to create and analyze these lines. In 2018 academic period we provided transgenic lines 39 times and DNA resource 32 times. The experiment described in the previous section also used NBRP lines, suggesting that our resource project is crucial for advance of tunicate researches. Detailed information can be seen in the following URLs:

<http://marinebio.nbrp.jp/>

<http://marinebio.nbrp.jp/ciona/>

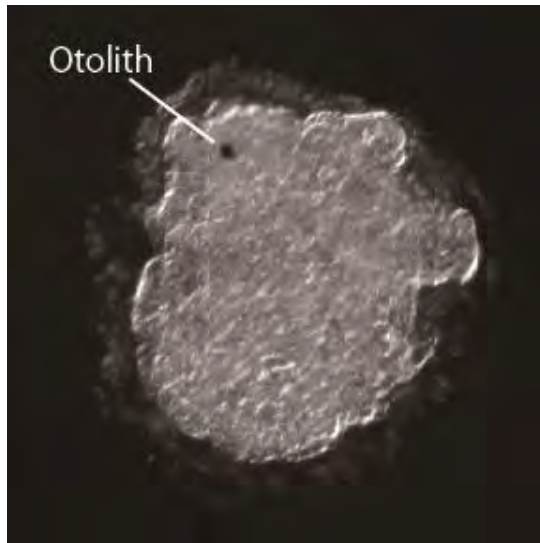


Fig. 4. A larva of a transgenic line newly collected by the NBRP project. In this transgenic line, the maternally stored mRNA, *posterior end mark* is disrupted and the animals develop in an abnormal shape, while differentiation of tissues such as otolith (a sensory organ at the central nervous system) takes place.

#### Publications

1. Horie T, Horie R, Chen K, Cao C, Nakagawa M, Kusakabe T.G., Satoh N, **Sasakura Y** & Levine M

Regulatory cocktail for dopaminergic neurons in a protovertebrate identified by whole-embryo single-cell transcriptomics. *Genes & Development* 32, 1297-1302 (2018)

2. Satoh T, Iitsuka T, Shiraishi A, Hozumi A, Satake H & **Sasakura Y**  
piRNA-like small RNAs are responsible for the maternal-specific knockdown in the ascidian *Ciona intestinalis* Type A. *Scientific reports* 8, 5869 (2018)

#### Presentations

1. **Sasakura Y**

Research projects in Shimoda Marine Research Center, University of Tsukuba. University of Tsukuba and Harry Perkins Institute of Medical Research Mini-Symposium  
Perth, Australia, June 5, 2018 (invited speaker)

## 分野別研究概要・トピックス

海洋分子生物学部門 細胞生物学分野

稲葉 一男 教授

柴 小菊 助教



### 【研究概要】

私たちの研究室では、さまざまな海産生物を用いて鞭毛・繊毛の構造、機能、進化に関する研究を行っています。鞭毛・繊毛の研究を通して、受精、形態形成、進化、さらには海洋生態といった生物に普遍的に存在するメカニズム、幅広い分野の謎に迫るべく研究を進めています。

### 【トピックス】

#### 1) ハプトネマのコイリングメカニズム

ハプト藻は主に海洋に生息する微細藻類であり、海洋生態系においては一次生産者として重要な役割を果たしている。しかし真核生物全体におけるハプト藻の系統的位相は未だにはっきりしていない。私たちはハプト藻を特徴づける微小管系の運動装置ハプトネマの高速コイリングのメカニズムを明らかにするため、ハプト藻の一種 *Chrysochromulina* sp. を用いて実験を行った。微小管脱重合阻害剤や外液カルシウム組成を変える実験の結果、カルシウム依存的なコイリングに微小管のダイナミクスが関与していることを見

出した。さらに、電子顕微鏡による観察の結果、6-7本の微小管のらせん型配置と、微小管どうしをつなぎとめる繊維状構造を明らかにした。海洋酸性化の進行により *Chrysochromulina* 属の増殖が阻害的な影響を受けることが明らかになっており、ハプトネマの生理機能やコイリングメカニズムの解明は、広く海洋生態系の解明に寄与すると考えられる。

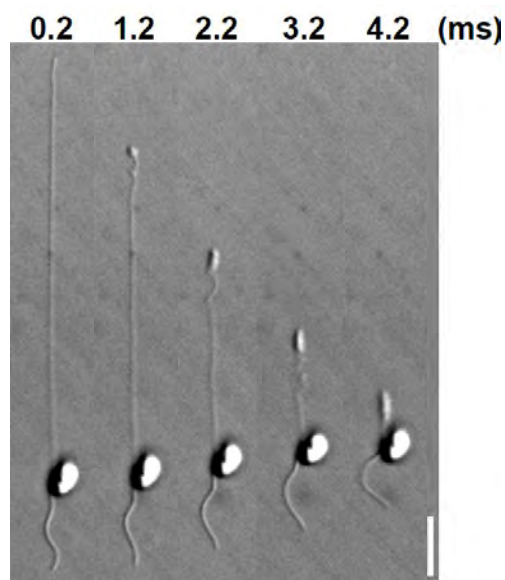


図 高速カメラで捉えたハプト藻の運動器官ハプトネマのコイリングの様子、スケールバー：10  $\mu$ m

### 研究成果

#### 原著論文

1. Hill R.W., Armstrong E.J., **Inaba K.**, Morita M, Tresguerres M, Stillman J.H., Roa J.N., Kwan G.T.  
Acid secretion by the boring organ of the burrowing giant clam, *Tridacna crocea*.

- Biology Letters 14, 20180047 (2018)
2. Nomura M, Atsuji K, Hirose K, **Shiba K**, Yanase R, Nakayama T, Ishida K, **Inaba K**  
Microtubule stabilizer reveals requirement of Ca<sup>2+</sup>-dependent conformational changes of microtubules for rapid coiling of haptonema in haptophyte algae.  
Biology Open 8, bio036590 (2019)
  3. Harvey B.P., Agostini S, Wada S, **Inaba K**, Hall-Spencer J.M.  
Dissolution: The Achilles' Heel of the Triton Shell in an Acidifying Ocean.  
Frontiers in Marine Science (5, 371 (2018)
  4. Kinoshita-Terauchi N, **Shiba K**, Umezawa T, Matsuda F, Motomura T & **Inaba K**  
A brown algal sex pheromone reverses the sign of phototaxis by cAMP/Ca<sup>2+</sup>-dependent signaling in the male gametes of *Mutimo cylindricus* (Cutleriaceae).  
Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 192, 113-123 (2019)
  5. **Kazuo Inaba**, **Kogiku Shiba**  
Microscopic analysis of sperm movement: links to mechanisms and protein components.  
Microscopy 67, 144-155 (2019)
  6. Mizotani Y, Suzuki M, Hotta K, Watanabe H, **Shiba K**, **Inaba K**, Tashiro E, Oka K, Imoto M  
14-3-3 $\epsilon$ a directs the pulsatile transport of basal factors toward the apical domain for lumen growth in tubulogenesis.  
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 115, E8873-E8881 (2018)
  7. Yoshida K, **Shiba K**, Sakamoto A, Ikenaga J, Matsunaga S, **Inaba K**, Yoshida M  
Ca<sup>2+</sup> efflux via plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase mediates chemotaxis in ascidian sperm.  
Scientific Reports 8, 16622 (2018)
  8. Momose T, Cian A.D., **Shiba K**, **Inaba K**, Giovannangeli C, Concordet J-P  
High doses of CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein efficiently induce gene knockout with low mosaicism in the hydrozoan *Clytia hemisphaerica* through microhomology-mediated deletion.  
Scientific Reports 8, 11734 (2018)
  9. Ugwu S.I., **Shiba K**, **Inaba K**, Morita M  
A Unique Seminal Plasma Protein, Zona Pellucida 3-Like Protein, has Ca<sup>2+</sup> - Dependent Sperm Agglutination Activity.  
Zoological Science, 35, 161-171 (2018)
  10. Kamiya R, **Shiba K**, **Inaba K**, Kato-Minoura T  
Release of Sticky Glycoproteins from *Chlamydomonas* Flagella During Microsphere Translocation on the Surface Membrane.  
Zoological Science 35, 299-305 (2018)
- 学会発表
1. 伊藤岳, 守田昌哉, **稲葉一男**, 柴小菊, 本間光雄, 安房田智司

- 交尾に伴う精子の進化は海産魚類でどの程度共通しているか？近縁種同士の比較から。  
第 66 回日本生態学会大会、兵庫、2019 年 3 月 15～19 日（ポスター発表）
2. **稲葉一男**  
酸性化した将来の海 ～CO2 シープから見えてきたもの～。  
第 27 回自然科学研究機構シンポジウム「生物の環境適応戦略」 東京、2019 年 3 月 3 日（特別・招待講演）
  3. Yanase R, Nomura M, **Shiba K**, **Inaba K**  
Microtubule Dynamics and Centrin-Related Proteins in the Haptonema of Haptophyte Algae  
The 66th NIBB Conference / ABiS International Symposium "Cutting Edge Techniques of Bioimaging" Aichi, 2019 年 2 月 17～18 日（特別・招待講演）
  4. **稲葉一男**  
カラクシン欠損によるマウス繊毛病の発症。  
2019 年生体運動研究合同班会議、福岡、2019 年 1 月 4～6 日（口頭発表）
  5. 城倉 圭, 柴田 大輔, 山口 勝司, 重信 秀治, **柴小菊**, **稲葉一男**  
カブトクラゲ櫛板タンパク質 CTENO64 の局在と機能。  
2019 年生体運動研究合同班会議 福岡、2019 年 1 月 4～6 日（口頭発表）
  6. 岩本 裕之, 城倉 圭, **稲葉一男**  
クシクラゲの櫛板は動く蛋白巨大単結晶である。  
2019 年生体運動研究合同班会議 福岡、2019 年 1 月 4～6 日（口頭発表）
  7. **柴小菊**  
可視化・イメージング技術の開発による高速鞭毛繊毛運動のメカニズム解明に関する研究。  
日本動物学会第 89 回札幌大会代替大会、東京、2018 年 12 月 9 日（特別・招待講演）
  8. 城倉 圭, 柴田 大輔, 山口 勝司, 重信 秀治, 柴小菊, **稲葉一男**  
カブトクラゲ櫛板を構成する新規タンパク質 CTENO64 の機能解析。  
日本動物学会第 89 回札幌大会代替大会、東京、2018 年 12 月 9 日（ポスター発表）
  9. **Shiba K**, Sakano T, Furuta T, Fujiwara E, Baba SA, **Inaba K**.  
cAMP modulates Ca<sup>2+</sup>-mediated regulation of sperm flagellar waveform  
第 56 回日本生物物理学会年会、岡山、2018 年 9 月 15～17 日（口頭発表）
  10. Jokura K, Shibata D, Yamaguchi K, Shigenobu S, **Shiba K**, **Inaba K**.  
Identification of a novel protein CTENO64 in giant compound cilia in the ctenophore and its role in the coordinated ciliary movement  
第 56 回日本生物物理学会年会、岡山、2018 年 9 月 15～17 日（口頭発表）
  11. Iwamoto H, Jokura K, Inaba K.  
The comb plate of ctenophore is a nearly perfect giant single protein crystal that moves  
第 56 回日本生物物理学会年会、岡山、2018 年 9 月 15～17 日（口頭発表）
  12. **稲葉一男**  
ダイニン調節軽鎖の役割と進化。  
第 9 回繊毛研究会、山梨、2019 年 6



月 21・22 日 (口頭発表)

13. Nakayama T, Takano Y, Nomura M, **Shiba K**, **Inaba K**, Tanifuji G, Inagaki Y Kawata M.

Genome analysis of a symbiotic cyanobacterium in a dinophysialean dinoflagellate, *Ornithocercus magnificus*  
International Society for Evolutionary Protistology 2018, Droushia, Cyprus, May 27-June 1. 2018 (ポスター発表)

14. Shiba K, Sakano T, Furuta T, Fujiwara E, Baba SA, **Inaba K**

cAMP modulates Ca<sup>2+</sup>-mediated regulation of sperm flagellar waveform  
XIII International Symposium on Spermatology (ISS) Stockholm, Sweden. May 9-13, 2018 (ポスター発表)

15. Sasaki K, **Shiba K**, Nakamura A, Kawano N, Satouh Y, Shibata D, Miyado M, Takada S, Ueno H, Nonaka S, Ikawa M, Baba T, Miyado K, **Inaba K**

Calaxin is essential for ciliary formation in nodal monocilia but not in sperm flagella or epithelial multicilia  
XIII International Symposium on Spermatology (ISS) Stockholm, Sweden. May 9-13, 2018 (ポスター発表)

Department of Marine Molecular Biology,  
Cell biology group  
Kazuo Inaba, Professor  
Kogiku Shiba, Assistant Professor

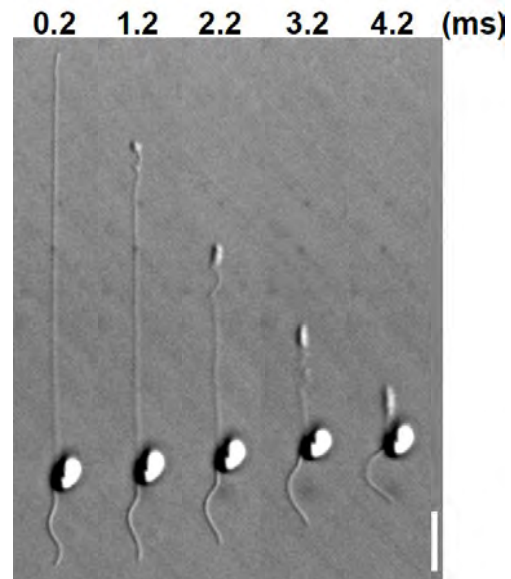
We study on the structure, function and evolution of cilia and flagella by using marine organisms. Our research topics cover a wide range of subjects, including fertilization, morphogenesis, locomotion, evolution and ecology of marine unicellular and multicellular organisms.

**【Research topic】**

1. Mechanism of the rapid coiling of haptonema in haptophyte algae

Haptophytes are the group of microalgae that are widely distributed in oceans. They are one of the major primary producers in the marine ecosystem. The haptonema is a motile machinery of haptophytes, composed of six or seven singlet microtubules. The most notable movement of haptonema is rapid “coiling”, which occurs in several milliseconds by mechanical stimuli in a  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent manner. The coiling of the haptonema in *Chrysochromulina sp.* is inhibited by paclitaxel (taxol), suggesting that microtubule dynamics is involved in the mechanism. TEM observation of demembranated haptonema showed that one or two microtubules wind around the others in a helical path. It is reported that the growth of *Chrysochromulina* species are greatly inhibited by ocean acidification. Our findings provide not only a key clue to

reveal the molecular mechanism how  $\text{Ca}^{2+}$  induce such a fast microtubule-dependent motility but also a molecular basis for understanding the marine ecosystem.



Figure; the rapid coiling of haptonema in haptophyte algae recorded by high speed camera. Bar; 10  $\mu\text{m}$ .

Publications

1. Hill R.W., Armstrong E.J., **Inaba K**, Morita M, Tresguerres M, Stillman J.H., Roa J.N., Kwan G.T.  
Acid secretion by the boring organ of the burrowing giant clam, *Tridacna crocea*.  
*Biology Letters* 14, 20180047 (2018)
2. Nomura M, Atsuji K, Hirose K, **Shiba K**, Yanase R, Nakayama T, Ishida K, **Inaba K**  
Microtubule stabilizer reveals requirement of  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent conformational changes of microtubules

- for rapid coiling of haptonema in haptophyte algae.  
Biology Open 8, bio036590 (2019)
3. Harvey B.P., Agostini S, Wada S, **Inaba K**, Hall-Spencer J.M.  
Dissolution: The Achilles' Heel of the Triton Shell in an Acidifying Ocean.  
Frontiers in Marine Science (5), 371 (2018)
  4. Kinoshita-Terauchi N, **Shiba K**, Umezawa T, Matsuda F, Motomura T, **Inaba K**  
A brown algal sex pheromone reverses the sign of phototaxis by cAMP/Ca<sup>2+</sup>-dependent signaling in the male gametes of *Mutimo cylindricus* (Cutleriaceae).  
Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 192, 113-123 (2019)
  5. **Kazuo Inaba, Kogiku Shiba**  
Microscopic analysis of sperm movement: links to mechanisms and protein components.  
Microscopy 67, 144-155 (2019)
  6. Mizotani Y, Suzuki M, Hotta K, Watanabe H, **Shiba K, Inaba K**, Tashiro E, Oka K, Imoto M  
14-3-3 $\epsilon$ a directs the pulsatile transport of basal factors toward the apical domain for lumen growth in tubulogenesis.  
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 115, E8873-E8881 (2018)
  7. Yoshida K, **Shiba K**, Sakamoto A, Ikenaga J, Matsunaga S, **Inaba K**, Yoshida M  
Ca<sup>2+</sup> efflux via plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase mediates chemotaxis in ascidian sperm.  
Scientific Reports 8, 16622 (2018)
  8. Momose T, Cian AD, **Shiba K, Inaba K**, Giovannangeli C, Concordet JP  
High doses of CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein efficiently induce gene knockout with low mosaicism in the hydrozoan *Clytia hemisphaerica* through microhomology-mediated deletion.  
Scientific Reports, 11734 (2018)
  9. Ugwu SI, **Shiba K, Inaba K** & Morita M  
A Unique Seminal Plasma Protein, Zona Pellucida 3-Like Protein, has Ca<sup>2+</sup> -Dependent Sperm Agglutination Activity.  
Zoological Science, 35, 161-171 (2018)
  10. Kamiya R, **Shiba K, Inaba K** & Kato-Minoura T  
Release of Sticky Glycoproteins from *Chlamydomonas* Flagella During Microsphere Translocation on the Surface Membrane.  
Zoological Science 35, 299-305 (2018)
- Presentations
1. Ynase R, Nomura M, **Shiba K, Inaba K**  
Microtubule Dynamics and Centrin-Related Proteins in the Haptonema of Haptophyte Algae  
The 66th NIBB Conference / ABIS International Symposium "Cutting Edge Techniques of Bioimaging" Aichi, Feb 17-18, 2019
  2. **Shiba K**, Sakano T, Furuta T, Fujiwara

- E, Baba SA, **Inaba K.**  
 cAMP modulates Ca<sup>2+</sup>-mediated regulation of sperm flagellar waveform  
 第 56 回日本生物物理学会年会  
 岡山、2018 年 9 月 15～17 日（口頭発表）
3. Jokura K, Shibata D, Yamaguchi K, Shigenobu S, **Shiba K, Inaba K.**  
 Identification of a novel protein CTENO64 in giant compound cilia in the ctenophore and its role in the coordinated ciliary movement  
 第 56 回日本生物物理学会年会  
 岡山、2018 年 9 月 15～17 日（口頭発表）
4. Iwamoto H, Jokura K, **Inaba K**  
 The comb plate of ctenophore is a nearly perfect giant single protein crystal that moves  
 第 56 回日本生物物理学会年会  
 岡山、2018 年 9 月 15～17 日（口頭発表）
5. Nakayama T, Takano Y, Nomura M, **Shiba K, Inaba K,** Tanifuji G, Inagaki Y, Kawata M.  
 Genome analysis of a symbiotic cyanobacterium in a dinophysialean dinoflagellate, *Ornithocercus magnificus*  
 International Society for Evolutionary Protistology 2018, Droushia, Cyprus, May 27-June 1. 2018（ポスター発表）
6. **Shiba K,** Sakano T, Furuta T, Fujiwara E, Baba SA, **Inaba K**  
 cAMP modulates Ca<sup>2+</sup>-mediated regulation of sperm flagellar waveform  
 XIII International Symposium on Spermatology (ISS) Stockholm, Sweden. May 9-13, 2018 (ポスター発表)
7. Sasaki K, **Shiba K,** Nakamura A, Kawano N, Satouh Y, Shibata D, Miyado M, Takada S, Ueno H, Nonaka S, Ikawa M, Baba T, Miyado K, **Inaba K**  
 Calaxin is essential for ciliary formation in nodal monocilia but not in sperm flagella or epithelial multicilia  
 XIII International Symposium on Spermatology (ISS) Stockholm, Sweden. May 9-13, 2018 (ポスター発表)

## 分野別研究概要・トピックス

海洋分子生物学部門 発生生物学分野  
谷口 俊介 准教授



### 【研究概要】

発生生物学分野では、棘皮動物であるウニ胚をモデルとして、体軸形成と神経形成の分子メカニズムの解明、および神経の機能解析を目的として研究を進めている。本年度はモデル動物であるバフンウニのゲノム解読を行った。

### 【トピックス】

1) 転写因子 **Meis** がウニ胚前後軸形成の制御および神経外胚葉の維持を担っている。

ウニは発生生物学の分野で長い歴史をもつ研究材料である。特に初期発生においてはウニ研究から見つかった重要な現象・メカニズムも多い。しかし一方で、遺伝学的手法が使えないことから、卵のなかにある物質、つまり **maternal factor** の機能に関してはほとんど報告がない。今回は、当ラボがフォーカスをあてている神経形成に関与していそうで、かつ **maternal** な発現が見られる転写因子として単離されている **Meis** に着目して、その機能を解析した。

**Meis** の機能解析として第一選択であるノックダウンを行なった。その結果、a)

体の前後軸パターンが正常とは異なり、全体的に前方へシフトすることが明らかになった (図1)。また、b) 胚前端部にある神経外胚葉の形成が抑制され、神経の形成もほぼ見られなくなった。

以上の結果から、**Meis** は **maternal factor** としてウニ卵に存在し、前端部神経外胚葉の維持に必要であり、かつ胚の前後軸形成に必要であることがわかった。前後軸形成不全の原因が神経外胚葉維持の不全であるかどうかは不明であったため、今後の解析を続けていく。

2) **TGF-β** シグナルが原腸を曲がらせる。

図1

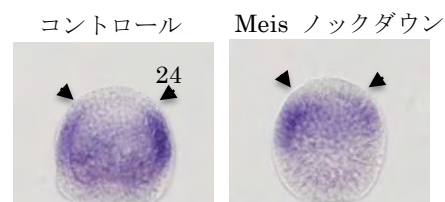


図1 / Fig. 1 体の側面に発現する遺伝子 **Univin** が **Meis** のノックダウンにより胚前方にシフトして発現する

左右相称動物は口から肛門まで一続きの消化管を持っている。ほとんどの場合で口や肛門は体の腹側に偏って存在している。しかし、ウニを例にして発生過程を見てみると原腸は陥入後、まずまっすぐと体内を伸びて、その後、口が開く直前に腹側へ曲がる。この曲がりは何に起因するのかを調べた。

腹側から原腸を誘引する物質が出ていと仮定して、腹側を決める因子であるNodalをノックダウンして原腸を観察した。原腸は予想通り曲がらずまっすぐ伸びたままになったが、Nodalのノックダウンでは体全体が放射相称になってしまうため、そもそも「曲がる」の概念が適応できるか不明であった。そこで、体軸形成因子を初期から阻害するのではなく、原腸が曲がり始める直前からNodalの機能を阻害することを試みた。そこで、原腸胚期にNodalを含めたTGF- $\beta$ 受容体の阻害剤であるSB431542を作用させたところ、原腸が口側へ曲がらずまっすぐ伸びた(図2)。この結果から原腸が口側へ曲がるためには、TGF- $\beta$ シグナルの作用が必要であることがわかった。今回、技術的な問題から、この作用するTGF- $\beta$ がNodalそのものであるかどうかは判断できなかったが、Nodalは腹側から分泌される因子であるため、可能性は非常に高いと判断される。

図2 正常胚 SB処理胚

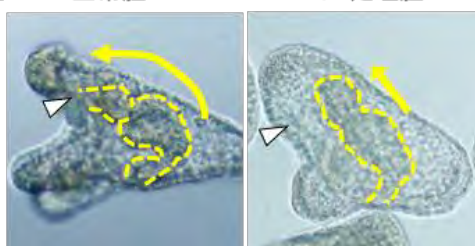


図2 / Fig. 2 正常胚ではくち(矢じり)に向かって原腸が曲がるが、SB431542処理されると曲がらない

## 研究成果

### 原著論文

1. Yaguchi J, Yamazaki A, **Yaguchi S**

Meis transcription factor maintains the neurogenic ectoderm and regulates the anterior-posterior patterning in embryos of a sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*.

Developmental Biology 444, 1-8 (2018)

2. Suzuki H, **Yaguchi S**

Transforming growth factor- $\beta$  signal regulates gut bending in the sea urchin embryo.

Development Growth & Differentiations 60, 216-225 (2018)

### 学会発表

1. Suzuki H, Yaguchi J, **Yaguchi S**

Disturbance of the directional ciliary beating induce abnormal L-R axis formation in sea urchin larvae.

Developmental Biology of the Sea Urchin XXV, Woods Hole, USA, Oct 17-21. 2018.

2. **Yaguchi S**

Temnopleurus as an emerging sea urchin model.

Developmental Biology of the Sea Urchin XXV, Woods Hole, USA, Oct 17-21. 2018

(Invited).

3. Suzuki H, **Yaguchi S**

TGF- $\beta$  signal regulates gut bending in the sea urchin embryo.

Joint Annual Meeting of JSDB 51<sup>st</sup> and JSCB 70<sup>th</sup>, Tokyo, June 6-8. 2018

Department of Marine Molecular Biology,  
Developmental Biology group  
Shunsuke Yaguchi, Associate Professor

Our group focuses on understanding the axis specification and the development of nervous system in sea urchin embryos/larvae.

[Topics]

**1) The transcription factor Meis is responsible for the regulation of sea urchin embryonic anterior-posterior axis formation and maintenance of the neuroectoderm.**

Sea urchins are research materials with a long history in the field of developmental biology. Especially in early development, there are many important phenomena and mechanisms discovered from sea urchin research. On the other hand, there is almost no report on the function of the substance in the egg, i.e., maternal factors, because genetics cannot be used in sea urchins. This time, we focused on Meis, which was isolated as a transcription factor that is likely to be involved in neurogenesis, and whose maternal expression is observed.

As the functional analysis of Meis, the first choice was knockdown. As a result, a) the anterior-posterior axis pattern of the body was disrupted, and it became clear that the whole body shifts forward (Fig. 1). In addition, b) the formation of anterior neuroectoderm was suppressed, and neurons was almost disappeared.

As a conclusion, Meis exists as a maternal factor in sea urchin eggs and is required for the maintenance of the anterior neuroectoderm and for the anterior-posterior axis formation of the embryo.

**2) TGF- $\beta$  signal is required for bending the gut.**

Bilaterians have a series of digestive tracts from the mouth to the anus. In most cases, the mouth and anus are located on the ventral side of the body. However, in the developmental process, for example in sea urchin, the gut elongates straightly into the blastocoel soon after invagination, and then bends to the ventral side just before the mouth opens. We investigated what caused this bending.

Assuming that a substance that attracts the gut bending was released from the ventral side, the gut bending was observed under the knocking down condition of Nodal, which is a factor that determines the ventral side. The gut did not bend as expected and remained straight, but it was unclear whether the concept of "bending" could be applied here because the whole body became a radial symmetry in Nodal knockdown condition. Therefore, we attempted to inhibit the function of Nodal immediately before the start of gut bending, instead of inhibiting the axis formation factor from the beginning. Therefore, when SB431542, which is an inhibitor of TGF- $\beta$  receptors including Nodal in the gastrula stage, was applied, the gut straightened without bending to the oral side

(Fig. 2). From this result, it was found that TGF- $\beta$  signal is necessary for the gut bending to the oral side. It was not possible to determine whether this TGF- $\beta$  was Nodal itself due to technical problems, but it is highly possible because Nodal is a factor secreted from the ventral side.

- XXV, Woods Hole, USA, Oct 17-21. 2018
3. Suzuki H, **Yaguchi S**  
TGF- $\beta$  signal regulates gut bending in the sea urchin embryo.  
Joint Annual Meeting of JSDB 51<sup>st</sup> and JSCB 70<sup>th</sup>, Tokyo, June 6-8. 2018

#### Publications

1. Yaguchi J, Yamazaki A, **Yaguchi S**  
Meis transcription factor maintains the neurogenic ectoderm and regulates the anterior-posterior patterning in embryos of a sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*.  
*Developmental Biology*. 444, 1-8 (2018)
2. Suzuki H, **Yaguchi S**  
Transforming growth factor- $\beta$  signal regulates gut bending in the sea urchin embryo.  
*Development Growth & Differentiations* 60, 216-225 (2018)

#### Presentations

1. Suzuki H, Yaguchi J, **Yaguchi S**  
Disturbance of the directional ciliary beating induce abnormal L-R axis formation in sea urchin larvae.  
*Developmental Biology of the Sea Urchin XXV, Woods Hole, USA, Oct 17-21. 2018.*
2. **Yaguchi S**  
Temnopleurus as an emerging sea urchin model.  
*Developmental Biology of the Sea Urchin*



## 分野別研究概要・トピックス

海洋分子生物学部門 系統進化学分野

中野 裕昭 准教授



### 【研究概要】

系統進化学分野では、後生動物の起源、進化、多様性をテーマに、あまり研究が進んでいない海産無脊椎動物の研究を行っている。本年度は、珍渦虫に寄生する新種の直泳動物の記載、および棘皮動物ドングリウミシダの生きた個体の初採集の報告を行った。

### 【トピックス】

#### 1) 珍渦虫に寄生する新種の直泳動物

直泳動物は非常に単純な構造を持つ体長 1 mm 程度の寄生性の海産動物である。他の動物内部に寄生している際には多核体のアメーバ状の構造をとるなど、非常に特異な生活史をもつ。かつては単細胞動物と多細胞動物の間の進化段階の生物であると考えられ、ニハイチュウなど他の単純な構造の動物とともに中生動物というグループに含められていたが、近年では寄生性によって単純化した環形動物であるという説が有力である。

直泳動物の研究は進んでおらず、全世界でもこれまでに 20 種程度しか報告がない。私たちは、珍渦虫に寄生する直泳動物を発見し、形態の観察などに基づいてこ

の直泳動物がこれまで報告されていない種であることを確認した。そして、*Rhopalura xenoturbellae* として新種記載を行い、宿主である珍渦虫の生殖への影響に関しても考察した。

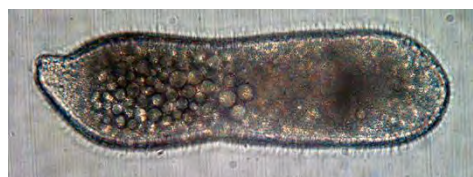


図 1. 珍渦虫に寄生する直泳動物 *Rhopalura xenoturbellae*

#### 2) 生きたドングリウミシダの初採集

棘皮動物門ウミユリ綱ウミシダ類のドングリウミシダは、現在まで生きた個体の報告がなく、これまでの報告は全て死んだ標本を用いて行われてきた。また、その標本はとても脆く、腕部の先端などが欠損していた。私たちは、下田市須崎沖の水深 135m において ROV を用いて、ドングリウミシダの生きた個体の初の採集に成功した。下田からの初記録でもある。本研究から、本種の生時の体色や外部形態が明らかとなった。



図 2. 下田沖で採集された生きたドングリウミシダ

## 研究成果

## 原著論文

1. **Nakano H**, Miyazawa H  
A new species of Orthonectida that parasitizes *Xenoturbella bocki*: Implications for studies on *Xenoturbella*.  
The Biological Bulletin 236, 66-73 (2019)
2. Kohtsuka H, Tsuchiya Y, **Nakano H**  
First report of live *Balanometra balanoides* (Echinodermata: Crinoidea), with observations on its coloration, collected from the Sagami Sea.  
Biogeography 20, 41-44 (2018)

## 学会発表

1. **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 三島 2019年3月16日(口頭発表)
2. 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 東京 2019年3月9日(ポスター、最優秀ポスター賞)
3. 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 東京 2019年3月9日(ポスター)
4. **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 東京 2019年1月12日  
(招待講演)

5. **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/平成30年度日本動物学会中部支部大会共催。名古屋 2018年12月8日(招待講演)
6. Takatani K, **Nakano H**, Kondo M.  
Re-establishment of the anteroposterior axis in regenerating intestines of a sea cucumber *Apostichopus japonicus*.  
16<sup>th</sup> International Echinoderm Conference. 名古屋 2018年5月31日(口頭発表)

## その他

1. 幸塚久典、**中野裕昭**、吉田真明  
島根県隠岐諸島から得られたトヤマヤツデヒトデ(棘皮動物門、海星綱)と寄生性ハナゴウナ科の1種(軟体動物門、腹足綱)  
ホシザキグリーン財団研究報告 22:203-208 (2019) (査読なし、和文報告)
2. **中野裕昭**  
「動物学の百科事典」日本動物学会編 丸善出版 (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

Department of Marine Molecular Biology,  
Evolution and Phylogeny group  
Hiroaki Nakano, Associate Professor

We are performing research on less studied non-model animal groups, with the aim of gaining new insights on the origins and evolution of metazoans and bilaterians. This year, we described a new species of orthonectids that parasitize *Xenoturbella*, and also reported the first collection of living *Balanometra balanoides* specimen.

#### 【Topics】

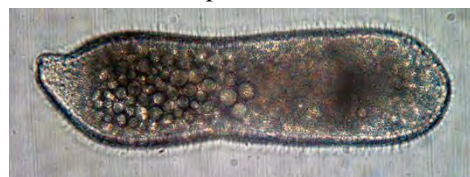
- 1) A new species of orthonectids that parasitize *Xenoturbella*

Orthonectids are marine parasitic animals about 1 mm in body length with a very simple body plan. They have a peculiar life cycle, being present as amoeba-like multinucleate plasmodia within the hosts. They were originally regarded to represent the evolutionary link between unicellular and multicellular organisms, and were classified in a clade called the Mesozoa. But recent phylogenomic studies suggest them to be simplified annelids.

Not much is known about orthonectids, with only about 20 species reported to date. We discovered orthonectids that parasitize *Xenoturbella*, and report them as a new species *Rhopalura xenoturbellae*. We also discussed the effects that the parasite causes on the reproduction of the host.

Figure1. An orthonectid that parasitize

*Xenoturbella*, *Rhopalura xenoturbellae*



- 2) The first collection of living *Balanometra balanoides* specimen

There have been no reports of living specimens of the feather star *Balanometra balanoides* (Echinodermata: Crinoidea), and past reports were all based on dead and damaged specimens. Using ROV, we collected a live specimen off Suzaki, Shimoda, Izu Peninsula, at a depth of about 135 m. This is also the first report of this species from Shimoda. Observations on this specimen revealed live body coloration and external morphology of the animal.

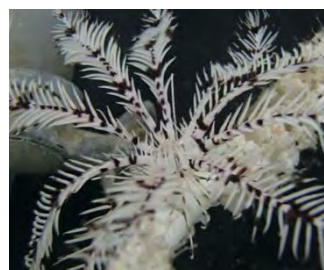


Figure2. A living specimen of *Balanometra balanoides* collected off Shimoda

#### Publications

1. **Nakano H**, Miyazawa H  
A new species of Orthonectida that parasitizes *Xenoturbella bocki*:  
Implications for studies  
on *Xenoturbella*.  
The Biological Bulletin 236, 66-  
73 (2019)

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

#### Presentations

1. **Nakano H**  
Faunal survey of deep and shallow  
coastal areas of the Izu Peninsula  
The 4th Izu Peninsula Geopark Academic  
Research Presentation Meeting  
Mishima, March 16, 2019.
2. Asai M, **Nakano H**  
Morphological observations and  
phylogenetic analysis of Acoelomorpha  
collected at Shimoda  
The 71st Annual Meeting of the  
Zoological Society of Japan Kanto  
Branch  
Tokyo, March 9, 2019  
(poster, Best Poster Award)
3. Takatani K, **Nakano H**  
Studies on the motion mechanisms of  
Placozoa using inhibitors  
The 71st Annual Meeting of the  
Zoological Society of Japan Kanto  
Branch  
Tokyo, March 9, 2019 (poster)
4. **Nakano H**  
Discovery of *Xenoturbella* from Japan  
The Union of the Japanese Societies for  
Systematic Biology 18th Public  
Symposium  
Tokyo, January 12, 2019

(invited speaker)

5. **Nakano H**  
Search and Discovery of *Xenoturbella* in  
Japan.  
Sugashima Marine Biological  
Laboratories, Graduate School of Science,  
Nagoya University Symposium.  
Nagoya, December 8, 2018  
(invited speaker)
6. Takatani K, **Nakano H**, Kondo M  
Re-establishment of the anteroposterior  
axis in regenerating intestines of a sea  
cucumber *Apostichopus japonicus*.  
16<sup>th</sup> International  
Echinoderm Conference.  
Nagoya, May 31, 2018

#### Others

1. Kohtsuka H, **Nakano H**, Yoshida M  
*Calasterias toyamensis* (Echinodermata:  
Asterozoa) and its parasitic Eulimidae  
gen. sp. (Mollusca: Gastropoda)  
collected from the Oki Islands, Sea of  
Japan.  
*Bull. Hoshizaki Green Found.* 22, 203-  
208 (2019) (in Japanese)
2. **Nakano H**  
*Encyclopedia of Zoology* (ed. the  
Zoological Society of Japan) Maruzen  
Publishing (2018) (in Japanese)  
Establishment of multicellular body  
plans. pp. 148-149  
Xenacoelomorpha. pp. 86-87  
Cnidaria Ctenophora Placozoa  
Porifera. pp. 58-59

## 分野別研究概要・トピックス

海洋生態学部門 物質循環学分野

和田 茂樹 助教



### 【研究概要】

物質循環学分野では、海水中の生物と環境の関連を基にして、海の生態系の仕組みや人と海の関係について研究を進めている。本年度は特に、式根島 CO<sub>2</sub> シープを利用した研究と、海藻および海草のヨウ素含有量の季節変動に関わる解析を行った。

### 【トピックス】

1) 式根島 CO<sub>2</sub> シープを利用した海洋酸性化の影響評価に関する研究

人為起源の二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)の放出は海水中の炭酸系の化学平衡を変化させ、結果的に海水の pH が低下する。これは海洋酸性化と呼ばれ、海洋の生物および生態系の激変を引き起こすことが危惧されている。

式根島で我々が以前に発見した、CO<sub>2</sub> シープ(海底から CO<sub>2</sub> が噴き出す海域)では周囲の海水が高 CO<sub>2</sub> 状態となり、海洋酸性化の進行した仮想的な未来の生態系が広がる。この海域において生物相の変化や貝類の殻の変成を解析し、海洋酸性化が生態系の激変を引き起こすことを明らかにした。

さらに、同海域を利用して人の生活と海洋酸性化の関りの解析を行った。式根島のダイビング事業者は、CO<sub>2</sub> 濃度の異なる 2 つの海域を一度に回遊するダイビングツアーを行っており、このツアーの参加者が撮影した写真中の水中景観の解析を行った。その結果、観光資源となるべき水中景観要素が 2 つの海域で大きく異なっており、サンゴや魚などレクリエーションダイビングの主要対象生物が、高 CO<sub>2</sub> 海域で大きく低下することが明らかとなった。さらに、漁業従事者へのアンケートを行ったところ、高 CO<sub>2</sub> 海域は低質な漁場であるという認識が得られ、海洋酸性化が漁業に負の影響をもたらすことも明らかとなった。

2) 海藻および海草のヨウ素含有量の季節変動

ヨウ素は生物にとっての必須元素であるが、地球上のヨウ素の起源は海洋であり特に海藻はヨウ素を多く蓄積する。しかし、ヨウ素含有量の季節変化に関する情報は少なく、その変動の大きさや変動要因の解析が必要である。また、沿岸の植生として重要な海草に関しては、ヨウ素含有量の情報はほとんどないのが現状である。

海藻および海草を大浦湾および外浦において 1-2 か月に 1 度の頻度で採取し、含有されるヨウ素の量を定量した。その結果、海藻は海草と比較して約 300 倍のヨウ素を含有することが明らかとなった。海草のヨウ素含有量は季節的に変動し、冬季から春季が最大値を示した。

(公益財団法人環境科学技術研究所との共同研究)

## 研究成果

### 原著論文

1. 氏家萌美、武正憲、原光宏、**和田茂樹**  
式根島浅海域 CO<sub>2</sub> シープに対するダイビング事業者と漁業従事者の認識。  
環境情報科学学術研究論文発表会 32, 227-232 (2018)
2. Agostini S, Harvey B.P., **Wada S**, Kon K, Milazzo M, Inaba K, Hall-Spencer J.M.  
Ocean acidification drives community shifts towards simplified non-calcified habitats in a subtropical-temperate transition zone.  
Scientific Reports 8, 11354 (2018)
3. Harvey B.P., Agostini S, **Wada S**, Inaba K, Hall-Spencer J.M.  
Dissolution: the Achilles' Heel of the Triton shell in an Acidifying Ocean.  
Frontiers in Marine Sciences 5, 371 (2018)
4. Sato Y, **Wada S**, Hisamatsu S  
Seasonal variations in iodine concentrations in a brown alga (*Ecklonia cava* Kjellman) and a seagrass (*Zostera marina* L.) in the northwestern Pacific coast of central Japan.  
Journal of Oceanography 75, 111-117 (2019)

### 学会発表

1. **和田茂樹**  
式根島 CO<sub>2</sub> シープで見られる未来の海

ワークショップ「海洋酸性化問題と二酸化炭素回収貯留 (CCS) 技術」 東京、 2018年9月25日

2. **Wada S**, Agostini S, Harvey B.P., Omori Y, Hall-Spencer J.M.  
Photosynthetic activity of early successional phytobenthos at a shallow CO<sub>2</sub> seep off Shikine Island, Japan.  
PICES-2018 Annual Meeting. Yokohama, October 25-November 4, 2018
3. Agostini S, Harvey B.P., **Wada S**, Kon K, Milazzo M, Inaba K, Hall-Spencer J.M.  
Ocean acidification drives community shifts towards simplified non-calcified habitats in a subtropical-temperate transition zone.  
PICES-2018 Annual Meeting. Yokohama, October 25-November 4, 2018
4. Kurosawa S, **Wada S**, Agostini S, Harvey B.P., Milazzo M, Hall-Spencer J.M.  
Effects of ocean acidification on net community production in coastal ecosystems: *In situ* assessment in natural CO<sub>2</sub> seep.  
PICES-2018 Annual Meeting. Yokohama, October 25-November 4, 2018
5. Harvey B.P., Agostini S, **Wada S**, Inaba K, Hall-Spencer J.M.  
Dissolution: the Achilles' heel of gastropods in an acidifying ocean.  
PICES-2018 Annual Meeting. Yokohama, October 25-November 4, 2018

Department of Marine Ecology, Material  
Circulation group

Shigeki Wada, Assistant Professor

In the Material Circulation group, we are studying mechanism of ecosystem based on the interaction between organisms and marine environment. We showed the effect of Ocean acidification using CO<sub>2</sub> seep in Shikine Island and seasonal variations of iodine contents of seaweed and seagrass in this fiscal year.

#### 【Topics】

##### 1) Effect of ocean acidification using CO<sub>2</sub> seep in Shikine Island

Anthropogenic CO<sub>2</sub> emission affect carbonate chemistry in seawater, inducing decline of pH, termed as ocean acidification (OA). Since OA is serious threats on marine organisms and ecosystems, it is concern for future oceans.

We had previously discovered volcanic CO<sub>2</sub> vents; CO<sub>2</sub> seep in Shikine Island, which is natural analogue of OA. Using this study site, we provided the data of biota, showing drastic change in ecosystems. In addition, assessment of shells of a triton showed negative impact on calcifying organisms.

In addition, we analyzed the relationship between lives of local people and ecosystem with high CO<sub>2</sub>. Analysis of photo taken by tourist showed that component of seascape which is target of recreational diving declined under high CO<sub>2</sub> site. Interview for fisherman showed that they tend to avoid the high CO<sub>2</sub> site as fishing ground.

##### 2) Seasonal variations of iodine contents of

seaweed and seagrass

Iodine is an essential element for organisms. The origin of iodine is mainly ocean, and seaweed would accumulate much amount of iodine. However, less information had been provided about seasonal variation in iodine contents of seaweeds' body. In addition, iodine content in another important flora in coastal sea; seagrass has been rarely studied. We had collected seaweed and seagrass with intervals of 1-2 month in Oura bay and Sotoura, and iodine contents were measured. Seaweed tended to accumulate 2-order of magnitude higher amount of iodine than seagrass. Iodine content of seagrass had clear seasonal variation; higher in winter to spring and lower in autumn.

#### Publications

1. 氏家萌美、武正憲、原光宏、**和田茂樹**  
式根島浅海域 CO<sub>2</sub> シープに対するダイビング事業者と漁業従事者の認識。  
環境情報科学学術研究論文発表会 32, 227-232 (2018)
2. Agostini S, Harvey B.P., **Wada S**, Kon K, Milazzo M, Inaba K, Hall-Spencer J.M.  
Ocean acidification drives community shifts towards simplified non-calcified habitats in a subtropical-temperate transition zone.  
Scientific Reports, 8, 11354 (2018)
3. Harvey B.P., Agostini S, **Wada S**, Inaba K, Hall-Spencer J.M.  
Dissolution: the Achilles' Heel of the Triton shell in an Acidifying Ocean.  
Frontiers in Marine Sciences 5, 371

(2018)

4. Sato Y, **Wada S**, Hisamatsu S.  
Seasonal variations in iodine concentrations in a brown alga (*Ecklonia cava* Kjellman) and a seagrass (*Zostera marina* L.) in the northwestern Pacific coast of central Japan.

Journal of Oceanography 75, 111-117  
(2019)

#### Presentations

1. **和田茂樹**

式根島 CO<sub>2</sub> シープで見られる未来の海

ワークショップ「海洋酸性化問題と二酸化炭素回収貯留(CCS)技術」 東京、2018年9月25日

2. **Wada S**, Agostini S, Harvey B.P., Omori Y, Hall-Spencer J.M.

Photosynthetic activity of early successional phytobenthos at a shallow CO<sub>2</sub> seep off Shikine Island, Japan.

PICES-2018 Annual Meeting  
Yokohama, October 25-November 4, 2018

3. Agostini S, Harvey B.P., **Wada S**, Kon K, Milazzo M, Inaba K, Hall-Spencer J.M.

Ocean acidification drives community shifts towards simplified non-calcified habitats in a subtropical-temperate transition zone.

PICES-2018 Annual Meeting  
Yokohama, October 25-November 4, 2018

4. Kurosawa S, **Wada S**, Agostini S, Harvey B.P., Milazzo M, Hall-Spencer

J.M.

Effects of ocean acidification on net community production in coastal ecosystems: *In situ* assessment in natural CO<sub>2</sub> seep.

PICES-2018 Annual Meeting  
Yokohama, October 25-November 4, 2018

5. Harvey B.P., Agostini S, **Wada S**, Inaba K, Hall-Spencer J.M.

Dissolution: the Achilles' heel of gastropods in an acidifying ocean.

PICES-2018 Annual Meeting  
Yokohama, October 25-November 4, 2018



## 分野別研究概要・トピックス

海洋分子生物学部門 神経生理学分野

堀江 健生 助教



### 【研究概要】

神経生理学分野では、原始的な脊索動物であるホヤをモデルとして、ニューロンの発生とその生理機能を解明することを目指して研究を進めている。本年度は、ホヤ幼生に存在する4つの感覚ニューロンと脊椎動物のプラコードと神経堤細胞との進化的な関連、新規のドーパミンニューロンの分化機構を明らかにした。

### 【トピックス】

1) ホヤ幼生に存在する感覚ニューロンの分化機構に関する研究

ホヤには神経板の境界領域から生じる4種類の感覚ニューロンが存在し、前方から、PSC (palp sensory cell), aATEN (anterior apical trunk epidermal neuron), pATEN (posterior apical trunk epidermal neuron), BTN (bipolar tail neuron) と名づけられている。このうち、PSC および aATEN は頭部プラコードの原始的な性質をもつことが報告されている。最も後方に位置するBTN は神経堤細胞に由来する後根神経節と性質が似ていることが報告されており、神経堤細胞との相似性が指摘されている。

頭部プラコードと神経堤細胞は脊椎動

物の特徴づける構造であるが、ホヤから脊椎動物の進化の過程においてどのように獲得されたのかは不明であった。

我々は、頭部プラコードと神経堤細胞の起源的な性質を備えたPSCs, aATENs, BTNsの分化機構について、細胞系譜の追跡実験、遺伝子機能阻害実験、単一細胞トランスクリプトームなどの手法を用いて包括的な解析を行った。その結果、ホヤの頭部プラコードと神経堤細胞はお互いに運命変換が可能なく似た性質を備えていることが示された。この結果から、頭部プラコードと神経堤細胞は共通の進化的な起源から派生した可能性が示唆された。

(米国プリンストン大学との共同研究)

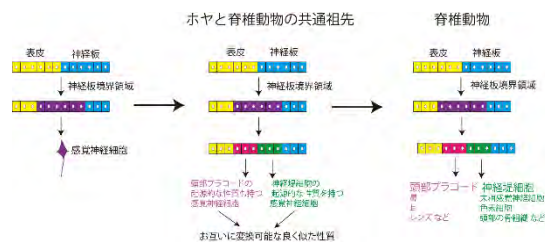


図 1. 頭部プラコードと神経堤細胞の進化のシナリオ。表皮と神経板の境界領域に感覚神経細胞を生み出す神経板境界領域が獲得され、この神経板境界領域が頭部プラコードと神経堤細胞の共通の進化的な起源となったこと示唆された。

2) ドーパミンニューロンの分化機構

ドーパミンニューロンは情動行動や運動のコントロールなど生き物の生存に重要な働きをするニューロンである。脊椎動物の脳内には複数種類のドーパミンニューロンが存在している。パーキンソン

病に関連する中脳のドーパミンニューロンについては、その分化機構については詳しく調べられているが、その他の領域に存在するドーパミンニューロンの分化機構は不明である。

我々はホヤをモデルとして、ドーパミンニューロンの分化機構について、単一細胞トランスクリプトーム解析、遺伝子機能阻害実験などの手法を用いて解析を行った。

その結果、ホヤのドーパミンニューロンは脊椎動物の視床下部と類似していること、ホヤのドーパミンニューロンの分化には *Ptf1a* と *Meis* という2つの遺伝子が必須の役割をしていることを明らかにした。さらに、*Ptf1a* と *Meis* 遺伝子カクテル導入により中枢神経系の全ての細胞をドーパミンニューロンへと変換することに成功した。(米国プリンストン大学との共同研究)

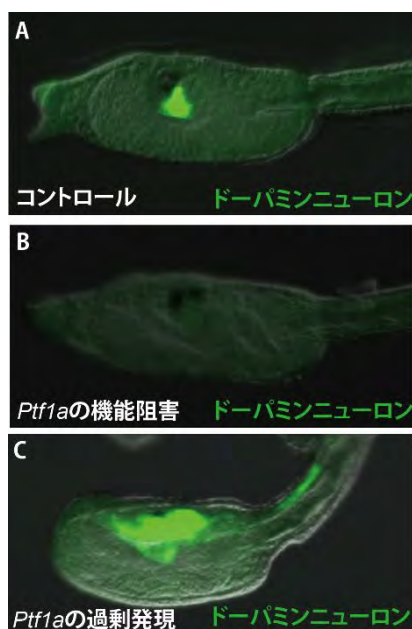


図 2. *Ptf1a* 遺伝子の機能を阻害したホヤ。A の写真はコントロール、B の写真は

*Ptf1a* 遺伝子の機能を阻害したホヤ、C は *Ptf1a* 遺伝子を過剰発現したホヤ。ドーパミンニューロンを緑色の蛍光で光らせている。*Ptf1a* 遺伝子の機能を阻害するとドーパミンニューロンが完全に失われてしまう。一方で *Ptf1a* を過剰発現するとドーパミンニューロンが大量に分化する。

## 研究成果

### 原著論文

1. Horie R, Hazbun A, Chen K, Cao C, Levine M, **Horie T\***.  
Shared evolutionary origin of vertebrate neural crest and cranial placode.  
Nature 560, 228-232 (2018)
2. **Horie T**, Horie R, Chen K, Cao C, Nakagawa M, Kusakabe T.G., Satoh N, Sasakura Y, Levine M  
Regulatory cocktail for dopaminergic neurons in a protovertebrate identified by whole-embryo single-cell transcriptomics. Genes & Development 32, 1297-1302 (2018)

Department of Marine Molecular Biology,  
 Neurophysiology group  
 Takeo Horie, Assistant Professor

In the neurophysiology group, we are conducting the research to elucidate the development and function of individual neurons with the primitive chordate ascidian as a model system. In this year, we studied the evolutionary origin of vertebrate placode and neural crest, and identification of regulatory cocktail for dopaminergic neurons in the ascidian.

**【Topics】**

1) The differentiation mechanisms of sensory neurons in ascidian larvae.

Ascidians have 4 sensory neurons derived from the lateral plate ectoderm: palp sensory cells, PSCs (Palp Sensory Cells), aATEN (Anterior Apical Trunk Epidermal Neurons), pATENs (Posterior Trunk Epidermal Neurons), and BTNs (Bipolar Tail Neurons). The PSCs and aATENs were previously shown to possess properties of placode-derived sensory neurons. The BTNs are thought to share properties with neural crest-derived dorsal root ganglia.

We use a combination of lineage tracing with the fluorescent dye, gene disruption with Morpholino oligo injection, and single-cell RNA-sequencing assays to explore the properties of sensory neurons derived from lateral plate ectoderm in the ascidian *Ciona intestinalis*.

BTNs (neural crest derived sensory neurons) were readily transformed into PSCs, protoplacodal sensory neurons that arise from anterior-most regions of the lateral plate ectoderm in *Ciona*. Proofs of transformations were confirmed by whole embryos single-cell RNA sequencing assays. These findings suggested that the lateral plate ectoderms that produce sensory neurons preceded the advent of vertebrates, and serve as a common source for the evolution of both placode and neural crest.

(Collaboration with Princeton University in UAS)

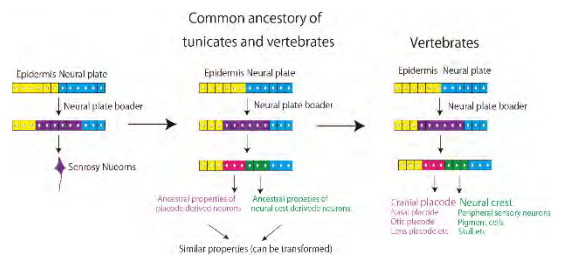


Figure 1. Hypothesis for vertebrate neural crest and cranial placodes evolution

2) The differentiations mechanisms of dopaminergic neurons.

Dopaminergic (DA) neurons mediate a wide variety of behaviors such as emotional behavior and motor behavior. There are several types of DA neurons in the vertebrate brain. There is considerable information about the specification of midbrain DA neurons due to their importance in Parkinson's disease. However, less is known about other class of DA neurons such as those associated with the hypothalamus.

We analyzed the differentiation mechanisms of DA neurons in ascidians with gene disruption experiments and whole embryo single-cell RNA sequencing assays.

We found that the transcription factor, *Ptfla* is expressed in the DA neurons in *Ciona*. *Ptfla* knockdown larvae showed complete loss of DA neurons, while misexpression of *Ptfla* results in the appearance of supernumerary DA neurons. Co-expression of *Ptfla* and *Meis* caused the wholesale transformation of the entire CNS into DA neurons.

We, therefore, suggest that reiterative use of functional manipulations and single-cell RNA-sequencing assay is effective for the identification of regulatory cocktail underlying the specification of specific cell types.

(Collaboration with Princeton University in UAS)

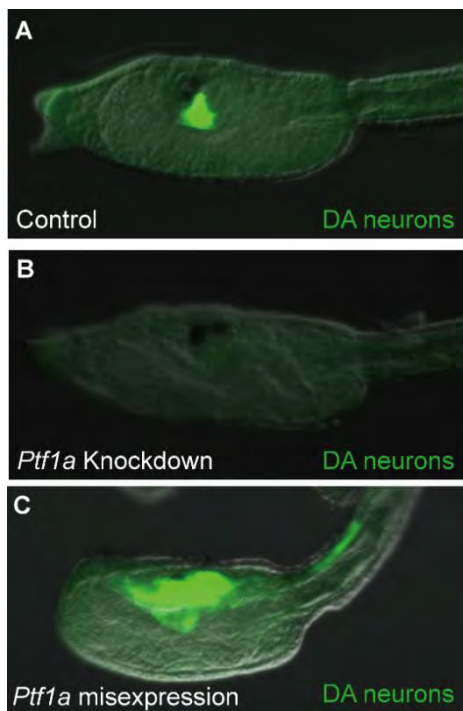


Figure 2. *Ptfla* knock down larvae showed loss of DA neurons. A: Control larva. B: *Ptfla* knock down larva. C: *Ptfla* misexpressed larva. DA neurons were labeled by the fluorescent reporter gene expression. *Ptfla* knock down larva lost differentiation of DA neurons, while misexpression of *Ptfla* result in supernumerary DA neurons.

#### Publications

1. Horie R, Hazbun A, Chen K, Cao C, Levine M, **Horie T\***  
Shared evolutionary origin of vertebrate neural crest and cranial placode.  
Nature 560, 228-232 (2018)
2. **Horie T**, Horie R, Chen K, Cao C, Nakagawa M, Kusakabe T.G., Satoh N, Sasakura Y, Levine M  
Regulatory cocktail for dopaminergic neurons in a protovertebrate identified by whole-embryo single-cell transcriptomics.  
Genes & Development 32, 1297-1302 (2018)

## 分野別研究概要・トピックス

海洋生態学部門 多様性生態学分野

今 孝悦 助教



### 【研究概要】

多様性生態学分野では、沿岸域の様々な生息場を対象に、生物群集が形成・維持される機構の解明を目指して研究を進めている。本年度は主としてマングローブ域の底生動物群集に対する複合的攪乱の影響評価を行った。

### 【トピック】

マングローブ域の底生動物群集に対する複合的攪乱の影響

マングローブ域の底生動物は周期的に台風攪乱に晒されている。他方、近年では農業排水流入などの人為的攪乱も増大しつつある。本研究では、こうした複合的な攪乱がマングローブ域の底生動物群集に与える影響を評価した。沖縄県石垣島のマングローブ域において、農業排水が流入する区域と流入しない区域を選定し、台風攪乱の前後で、環境要因と底生動物群集を比較した。その結果、農業排水の流入域では、底生微細藻類量およびマングローブリター量が有意に増加し、また、底生動物の種数も増大することが判明した。それら種組成は、排水流入のない区域では台風攪乱前後で種の入替わりが生じ

ていた一方で、排水流入域では台風攪乱に関わらず種組成は一定であることが明らかになった。従って、農業排水流入は、底生動物の餌料となる底生微細藻類やマングローブリター量を増大させることで種数の増加を促すものの、台風攪乱による日和見種の移出入を妨げ得ることが示唆された。

### 研究成果

#### 原著論文

1. Agostini S, Harvey B, Wada S, **Kon K**, Milazzo M, Inaba K, & Hall-Spencer J. Ocean acidification drives community shifts towards simplified non-calcified habitats in a subtropical-temperate transition zone. *Scientific Reports* 8, 11354 (2018)
2. Yamada H, Nakamoto K, Hayakawa J, Kawamura T, **Kon K**, Shimabukuro H & Fukuoka K. Seasonal variations in leaf growth of *Cymodocea serrulata* in subtropical seagrass meadows. *Fisheries Science* 84, 461-468 (2018)
3. 山川宇宙、今井亮介、**今孝悦**、津田吉晃. 茨城県利根川で記録された国内外来魚ドンコ *Odontobutis obscura*. *茨城生物* 38, 2-5 (2018)

#### 学会発表

1. **今孝悦**、後藤鮎美、山田秀秋、谷田巖、南條楠土

マングローブ域の底生動物群集に対する複合的攪乱の影響.

平成 31 年度日本水産学会春季大会  
東京、2019 年 3 月 26-30 日

2. 戸祭森彦、今孝悦

岩礁潮間帯のヤドカリ群集に対する海洋酸性化の影響.

第 66 回日本生態学会大会、兵庫、  
2019 年 3 月 15-19 日

3. Hirano H, Kon K, Yoshida M, Harvey B, Setiamarga D

Geochemistry analyses of sea floor sediments from the coasts of Shikine island in Japan indicate an influence of CO<sub>2</sub> seeps to coastal environments.

The 8th International Conference on Geotechnique, Construction Materials and Environment. Kuala Lumpur, November 20 - 22, 2018

4. Yamakawa U, Imai R, Tsunamoto Y, Kon K, Suyama Y, Faulks L, Yoshiaki Tsuda Y.

Local-scale genetic structure and kinship in the sleeper goby, *Eleotris oxycephala*, an amphidromous migratory fish, in the Sagami River System, Japan.

The 8th East Asian Federation of Ecological Societies International Congress. Nagoya, April 21-23, 2018

Department of Marine Ecology, Biodiversity group

Koetsu Kon, Assistant Professor

Our group is attempting to elucidate the mechanisms underlying community organization in various coastal habitats, including rocky shores, sandy beaches, mudflats, salt marshes, and mangrove forests. During the academic year 2018, we assessed the effects of massive disturbances on macrofaunal community structure in mangrove estuaries.

#### 【Topic】

Effects of massive disturbances on macrofaunal community structure in mangrove estuaries

Benthic faunal communities in a mangrove ecosystem are regularly subjected to massive disturbances, such as typhoons. Over the recent decades, anthropogenic disturbances (e.g., agricultural wastewater input) have been emerging gradually. Therefore, the present study aimed to elucidate the effects of agricultural wastewater input and typhoon disturbances on macrofaunal community structure in a mangrove estuary. We compared the environmental parameters and macrofaunal community structures between the reference and wastewater-affected sites before and after a typhoon hit. The results revealed that the biomass of microphytobenthos and mangrove litter was significantly greater and the species richness

of macroinvertebrates was higher at the affected site, regardless of the typhoon hit. However, the typhoon hit altered the species composition at the reference site, representing the transition of opportunistic species, whereas species composition at the affected site remained stable. In conclusion, our study demonstrated that although agricultural wastewater input increased macrofaunal diversity along with primary production, it regulated ecological succession by typhoon disturbance.

#### Publications

1. Agostini S, Harvey B, Wada S, **Kon K**, Milazzo M, Inaba K & Hall-Spencer J. Ocean acidification drives community shifts towards simplified non-calcified habitats in a subtropical-temperate transition zone. *Scientific Reports* 8, 11354 (2018)
2. Yamada H, Nakamoto K, Hayakawa J, Kawamura T, **Kon K**, Shimabukuro H & Fukuoka K. Seasonal variations in leaf growth of *Cymodocea serrulata* in subtropical seagrass meadows. *Fisheries Science* 84, 461-468 (2018)
3. Yamakawa U, Imai R, **Kon K** and Tsuda Y. Record of *Odontobutis obscura* from Tone River in Ibaraki, Japan. *Ibaraki Seibutsu* 38, 2-5 (2018)

#### Presentations

1. **Kon K**, Goto A, Yamada H, Tanita I,

- Nanjyo K  
 Impacts of compositive disturbances on mangrove benthic communities.  
 The 2019 Spring Meeting of Japan Society of Fisheries Science.  
 Tokyo, March 26-30, 2019
2. Tomatsuri M. and **Kon K.**  
 Impacts of ocean acidification on hermit crab communities in intertidal rocky shores.  
 The 66th Annual Meeting of the Ecological Society of Japan.  
 Kobe, March 15-19, 2019
3. Hirano H, **Kon K.**, Yoshida M, Harvey B, Setiamarga D.  
 Geochemistry analyses of sea floor sediments from the coasts of Shikine island in Japan indicate an influence of CO<sub>2</sub> seeps to coastal environments.  
 The 8th International Conference on Geotechnique, Construction Materials and Environment.  
 Kuala Lumpur, 20 - 22 November, 2018
4. Yamakawa U, Imai R, Tsunamoto Y, **Kon K.**, Suyama Y, Faulks L, Yoshiaki Tsuda Y.  
 Local-scale genetic structure and kinship in the sleeper goby, *Eleotris oxycephala*, an amphidromous migratory fish, in the Sagami River System, Japan.  
 The 8th East Asian Federation of Ecological Societies International Congress.  
 Nagoya, April 21-23, 2018



## 分野別研究概要・トピックス

海洋複合生物学部門

生態生理学分野

シルバン アゴスティーニ助教



### 【研究概要】

Our laboratory studies the eco-physiology of marine organisms, especially under present and future conditions. Special attention is ported to warm temperate coral communities as these are rapidly changing under climate change and ocean acidification. We use a combination of field studies including long term monitoring, natural analogues and field experiments and laboratory experiments.

### 【トピックス】

#### 1) **Monitoring of Warm Temperate Coral Communities in Izu and around.**

Since 2013, we have been monitoring several warm temperate coral communities in Izu and elsewhere. These communities may represent a future thermal refuge for scleractinian corals that are under increasing threats in the low tropical and subtropical latitudes where recurrent high temperature has been causing massive bleaching events and mass mortality of corals. But our knowledge of the eco-physiology of already established communities in higher latitudes is still poor.

By monitoring established communities, we identified physiological processes such as cold stress induced bleaching, ecological drivers such as competition with algae and other yet undescribed drivers such as recurrent disease outbreak, that will certainly play an important role in determining the future evolution of these communities in a high CO<sub>2</sub> world. We also showed the recent colonisation of the marine ecosystems in the region by new species of Acroporid corals and showed the limited connectivity with the tropical reefs of southern Japan, suggesting the the poleward shift of corals mostly happens within the warm temperate regions of Japan. Monitoring is being done in collaboration with the local communities to increase the awareness on the importance of warm temperate coral communities and to develop effective conservation strategies.



☒ 1. Warm temperate coral community in Katsuyama, Chiba, Japan where corals and kelp cohabit. Photo by Nicolas Floc'h, artist aboard Tara during the Japan Leg.

#### 2) **Tara Pacific Expedition**

The Tara Ocean Fondation (formerly Tara

Expedition Fondation) is a French NPO dedicated to the study and conservation of marine ecosystems. After conducting several successful project in the Arctic (Tara Arctic Expedition), on plankton (Tara Oceans Expedition), and on marine microplastics (Tara Mediterranee), the foundation organized the Tara Pacific Expeditions in partnership with the French CNRS, CEA and many others international institute including the University of Tsukuba. This expedition is dedicated to the study of coral and coral reefs under increasing pressure from climate change and increasing human population. The Pacific expeditions includes sampling of coral, plankton and seawater along two transects crossing the Pacific Ocean. In Japan, the sampling was performed in Ogasawara and Sesoko Isld (Okinawa).



☒ 2. Islands sampled during the Tara Pacific expeditions.

Our team at the Shimoda Marine Research Center in collaboration to researchers at the National Institute of Environmental Science, are in charge of taxonomically identifying the corals that have been sampled. This is challenging as the taxonomy for the sampled species is not yet fixed and would need to be

reviewed.

### 3) Response of coral communities to ocean acidification

The increase in atmospheric CO<sub>2</sub> is leading to an increase in temperature but also a reduction in seawater pH and a shift in the ocean carbonate equilibrium towards conditions unfavourable for coral growth. This phenomenon is referred to as ocean acidification. The study of the physiological response of corals to ocean acidification on a short time scale is possible in the laboratory but the study of their chronic responses and indirect effects on their growth and recruitment is not possible. The discovery of a CO<sub>2</sub> seep in Shikine Isld, a natural analogue for ocean acidification allowed us to study the chronic and indirect effects of ocean acidification on corals. We have been able to show that ocean acidification will lead to major shifts in the benthic ecosystems and we have been studying the ecological and physiological characteristics of organisms and species resistant to ocean acidification compared to sensitive species. Moreover by including coastal ecosystems around Shimoda, we are able to study the effect of ocean warming (sites around Shimoda vs sites around Shikine) and combined ocean warming and acidification (sites around Shimoda vs sites around the Shikine CO<sub>2</sub> seeps).

## 研究成果

### 原著論文

1. **Agostini Sylvain**, Ben P. Harvey, Shigeki Wada, Koetsu Kon, Marco Milazzo, Kazuo Inaba and Jason M. Hall-Spencer  
Ocean Acidification Drives Community Shifts towards Simplified Non-Calcified Habitats in a Subtropical–temperate Transition Zone.  
Scientific Reports 8, 11354 (2018)
2. Harvey Ben P., **Sylvain Agostini**, Shigeki Wada, Kazuo Inaba, and Jason M. Hall-Spencer  
Dissolution: The Achilles’ Heel of the Triton Shell in an Acidifying Ocean.  
Frontiers in Marine Science 5 (2018).

### 学会発表

1. Joshua M. Heitzman, and **Sylvain Agostini**.  
Recurrent Disease Outbreak in a High Latitude Marginal Coral Community.  
21st Japanese Coral Reef Symposium  
Nishihara-machi Okinawa,  
November 24, 2018 (Poster)

海洋気候変動生態学

ホールスペンサー ジェイソン 教授

ハーベイ ベン 助教



### 【研究概要】

Our investigations aim to elucidate the mechanisms that underpin the effects of living in a ‘high CO<sub>2</sub> world’. Our laboratory is using a combination of field surveys and in situ experiments at CO<sub>2</sub> seeps in Japan and Europe to investigate the effects on marine organisms and their habitats. In this year, we focused on the effects of ocean acidification on calcification mechanisms and community succession.

### 【トピックス】

#### 1) 酸性化が引き起こす殻の溶解は巻貝の生存にとって脅威となる

Biom mineralisation is the process by which calcifying marine invertebrates construct calcium carbonate shells and skeletons. Now while this process is biologically controlled, environmental factors such as pH can potentially affect it as well. The impact of ocean acidification on the ability of individual species to calcify has remained elusive, partially because previous studies have only reported net calcification. Consequently, this often makes it unclear whether reduced levels

of calcification are being driven biologically (e.g. reducing calcification) or by the physical environment (e.g. aragonite undersaturated waters causing passive dissolution).

In this research we investigated the large predatory ‘Triton shell’ gastropod *Charonia lampas* in acidified conditions near CO<sub>2</sub> seeps off Shikine Island (Japan) and compared them with individuals from an adjacent bay with seawater pH at present-day levels (outside the influence of the CO<sub>2</sub> seep).



図 1. Representative *Charonia lampas* at the reference site, pH<sub>T</sub> 8.14 (D), and at the elevated pCO<sub>2</sub> site, pH<sub>T</sub> 7.81 (E). Note extensive coverage of encrusting organisms and intact apex region. At the elevated pCO<sub>2</sub> site shells had a smooth bare shell surface and severely eroded apex regions (arrow).

By using computed tomography, we show that acidification negatively impacts their thickness, density and shell structure, causing visible deterioration to the shell surface. Periods of aragonite undersaturation caused the loss of the apex region, exposing body tissues. While gross calcification rates were likely reduced near CO<sub>2</sub> seeps, the corrosive effects of acidification were far more pronounced around the oldest parts of the shell. As a result, the capacity of *C. lampas* to maintain their shells under ocean acidification

may be strongly driven by abiotic dissolution and erosion, and not under biological control of the calcification process.

**2) A study into the role of community succession in determining community-level responses to ocean acidification**

Anthropogenic global change has given rise to a wide variety of processes that can bring about dramatic, abrupt changes in the structure and function of ecological communities (termed regime shifts). These shifts result in habitats that typically possess less ecological, functional and human value compared to the pre-existing habitat.

We had previously assessed the responses of coral and algal habitats along a gradient of CO<sub>2</sub> using natural CO<sub>2</sub> seeps at Shikine Island, Japan. We had found that the study area is comprised of rocky reef habitat with the reference pCO<sub>2</sub> area being characterised by a mixture of both canopy-forming fleshy macroalgae and zooxanthellate scleractinian corals, whereas the elevated pCO<sub>2</sub> area (that is under the influence of the CO<sub>2</sub> seep) was characterised by a mat of turf algae. In order to understand the mechanisms driving these ecological community shifts, this year we used settlement plates to investigate the role of early-stage community succession in determining climax communities found under high-CO<sub>2</sub> conditions.

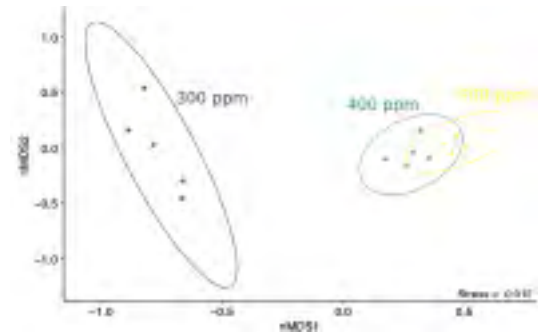
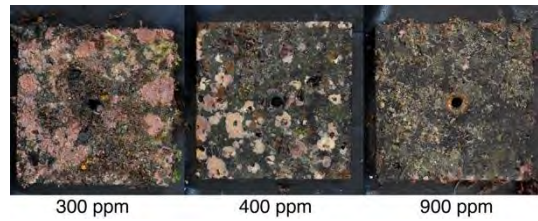


Fig 2. (Top) Example settlement plate from reference (300 ppm), mid-CO<sub>2</sub> (400 ppm) and high-CO<sub>2</sub> (900 ppm) site, showing the changes in alternative trajectory for species under ocean acidification. This shows a loss of calcified algae, and an increase in microalgae under increasing CO<sub>2</sub>. (Below) The change in communities as illustrated by an nMDS plot based on Bray Curtis distance.

Our research suggests a profound shift away from important calcareous species, towards more simplistic ecosystems dominated by microalgae and turf algae. This suggested that the trajectory of communities during succession will differ when under present-day conditions and future predicted conditions of pCO<sub>2</sub>. Such changes will have important implications for ecosystem functioning, as well as the goods and services that we derive from our oceans.

## 研究成果

### 原著論文

1. Brown N.E., Milazzo M, Rastrick S.P., **Hall-Spencer J.M.**, Therriault T.W. and Harley C.D.  
Natural acidification changes the timing and rate of succession, alters community structure, and increases homogeneity in marine biofouling communities.  
*Global Change Biology*, 24, 112-127 (2018)
2. Castro M.C.T., **Hall-Spencer J.M.**, Poggian C.F., Fileman T.W.  
Ten years of Brazilian ballast water management.  
*Journal of Sea Research* 133, 36-42 (2018)
3. Urbarova I, Patel H, Forêt S, Karlsen B.O., Jørgensen T.E., **Hall-Spencer J.M.**, Johansen S.D.  
Elucidating the small regulatory RNA repertoire of the sea anemone *Anemonia viridis* based on whole genome and small RNA sequencing.  
*Genome Biology and Evolution* 10, 410-426 (2018)
4. Bray L, Kassis D, & **Hall-Spencer J.M.**  
Assessing larval connectivity for marine spatial planning in the Adriatic.  
*Marine Environmental Research* 125, 73-81 (2017)
5. Campbell B.M., Beare D.J., Bennett E.M., **Hall-Spencer J.M.**, Ingram J.S., Jaramillo F., ... and Shindell D.  
Agriculture production as a major driver of the Earth system exceeding planetary boundaries.  
*Ecol. Soc.*, 22 (4), pp? (2017)
6. Celis-Plá P.S.M., Martínez B, Korbee N, **Hall-Spencer J.M.**, Figueroa F.L.  
Ecophysiological responses to elevated CO<sub>2</sub> and temperature in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyceae).  
*Climatic Change* 142, 67-81 (2017)
7. Cornwall C, Reville A, **Hall-Spencer J.M.**, Milazzo M, Raven J, Hurd C.  
Inorganic carbon physiology underpins macroalgal responses to ocean acidification.  
*Science Report* 7, 46297 (2017)
8. Duquette A, McClintock J.B., Amsler C.D., Pérez-Huerta A, Milazzo M and **Hall-Spencer J.M.**  
Effects of ocean acidification on the shells of four Mediterranean gastropod species near a CO<sub>2</sub> seep.  
*Mar. Pollut. Bull.*, 124 (2), 917-928 (2017)
9. **Harvey B.P.** and Moore P.J.  
Ocean warming and acidification prevents compensatory response in a predator to reduced prey quality.  
*Mar. Ecol. Prog. Ser.* 563, 111-122 (2017)
10. Hernandez-Kantun J.J., **Hall-Spencer J.M.**, Grall J, Adey W, Rindi F, Maggs C.A., Bárbara I, Peña V.  
North Atlantic rhodolith/maerl beds.  
In: *Rhodolith/maerl beds: A Global Perspective.* (eds. Riosmena-Rodriguez,

- R., Nelson W. and Aguirre J.) Springer, Coastal Research Library (2017)
11. Lemasson A.J., Fletcher S, **Hall-Spencer J** and Knights A.M.  
Linking the biological impacts of ocean acidification on oysters to changes in ecosystem services: A review.  
Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 492, 49-62 (2017)
  12. Lemasson A.J., Kuri V, **Hall-Spencer J.M.**, Fletcher S, Moate R and Knights A.M.  
Sensory qualities of oysters unaltered by a short exposure to combined elevated  $p\text{CO}_2$  and temperature.  
Front. Mar. Sci. 4, 352 (2017)
  13. Martin S and **Hall-Spencer J.M.**  
Effects of ocean warming and acidification on rhodolith/maerl beds.  
In: *Rhodolith/maerl beds: A Global Perspective* (eds. Riosmena-Rodriguez, R., Nelson W. and Aguirre J.) Springer, Coastal Research Library (2017)
  14. Sheehan E.V., Rees A, Bridger D, Williams T and **Hall-Spencer J.M.**  
Strandings of NE Atlantic gorgonians.  
Biological conservation 209, 482-487 (2017).

The ecosystem effects of ocean acidification.

JPGU-AGU Joint Meeting  
Okinawa, May 20-25, 2017.

#### 学会発表

1. **Harvey B.P.**, Agostini S, Wada S, Kon K, Inaba K and **Hall-Spencer J.M.**

## 技術職員 業務概要・トピックス

### 技術職員

柴田 大輔・大植 学・小高 友実・高野  
治朗

シニアスタッフ

佐藤 壽彦



### 【業務概要】

技術職員は、研究・調査の支援、および施設管理・維持など様々な業務を担っている。野外での船舶を利用する調査や潜水調査において、船舶の操縦や船上・潜水での作業を行っている。研究調査船「つくばII」では主に研究・調査・実習で、ドレッジやプランクトンネット、ニスキン採水器などを用いて生物や水などを採集し



図 1. つくばIIでの底生生物採集.



図 2. 実習でのプランクトンネットを用いた採集.

ている。また、つくばIIには自航式水中ハイビジョン TV ロボット (Remotely operated vehicle、ROV)を搭載することもでき、潜水できないような水深での海底環境を観察可能である。近年、つくばIIを用いて式根島で定期的な調査を行うなど、センター周辺以外でも調査を行っている。その際、つくばIIにゴムボートを搭載して採集地点に赴き、現地で潜水調査を行うこともある。その他にも、依頼された生物の採集や、外部利用での様々な研究機材の運用をサポートしている。

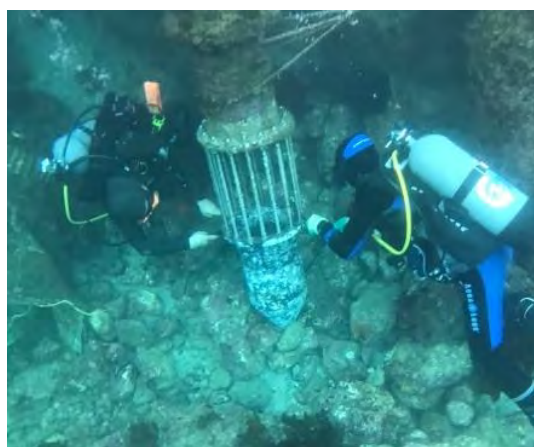


図 3. 潜水による導入管のメンテナンス.



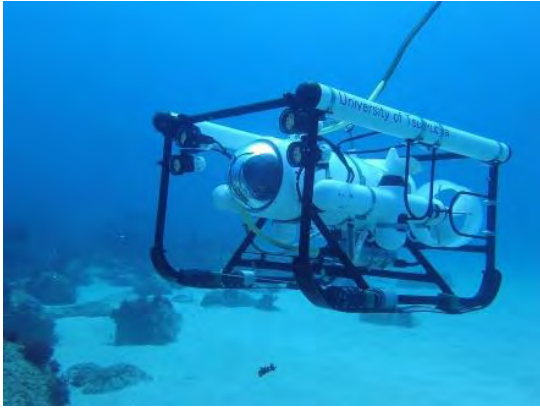


図 4. ROV.

一方、施設内ではウニ類を継代して飼育し、採集された生物を実験に使用するまで飼育・維持している。また、野外調査や実験では特殊な道具が必要になることもあり、それらを作成するなどの作業も行っている。また、施設管理・維持では、生物飼育・維持に欠かすことのできない海水を運ぶポンプや配管のメンテナンスを行い、台風等の災害時には施設内の復旧も行っている。

#### 【トピックス】

##### ＜海底撮影装置の開発＞

研究や実習において、ドレッジなどの採集器具を用いて海産生物の採集を行っている。しかし、採集物や採集された生物から詳細な海底環境を把握することは難しい。そこで、アクションカメラを使用した海底撮影装置の開発に取り組み、海底の撮影を試みている。この撮影装置は、採集器具を曳航する際のワイヤーに取り付けることが可能であり、採集しながら撮影することができる。これにより、ROVなどの機器を用いずに、手軽に海底環境を把握できるようになった。さらに、水中における採集器具の動きが明らかになったこ

とで、今後の採集技術の向上に役立っている。



図 5. 海底撮影装置を用いて撮影された映像.

#### 研究成果

##### 原著論文

1. 小高友実、柴田大輔、大植学、高野治朗、佐藤壽彦  
アクションカメラを使用した海底撮影装置の開発.  
第38回筑波大学技術報告, 6-10 (2018)
2. 小高友実、柴田大輔、大植学、高野治朗、佐藤壽彦  
アクションカメラを使用した海底撮影.  
臨海・臨湖 35, 38-40 (2018)
3. 柴田大輔  
第59次日本南極地域観測隊での活動.  
第38回筑波大学技術報告, 1-5 (2018)
4. 柴田大輔  
オーセン湾沿岸で採集された生物.  
臨海・臨湖 35, 41-43 (2018)
5. 菅沼悠介、田邊優貴子、香月興太、柴田大輔、川又基人  
氷上からの湖底・海底堆積物掘削プロジェクトの報告(JARE-58/59).

南極資料 62, 15-42 (2018)

- 菅沼悠介、香月興太、金田平太郎、川又基人、田邊優貴子、**柴田大輔**  
可搬型パーカッションピストンコア  
ラーの開発.  
地質学雑誌 125 (4), 323-326 (2018)

#### 発表

- 後藤慎平、田邊優貴子、**柴田大輔**、香月興太、Rachel Rudd、工藤栄  
水中探査機(ROV)を用いた南極湖沼でのベントス生態系のマッピングに資する技術.  
第 83 回日本陸水学会大会 岡山 2018 年 10 月 7 日
- Gotoh S, Tanabe Y, **Shibata D**, Katsuki K, Rudd R, Kudoh S  
Study on habitat mapping of benthos ecosystem in Antarctic lake using underwater Remotely Operated Vehicle (ROV).  
The 9th Symposium on Polar Science, Tokyo, December 4-7, 2018
- Katsuki K, Suganuma Y, Tanabe Y, **Shibata D**, Kawamata M, Seto K, Irizuki T, Shakutsui H, Kashima K, Ikehara M, Kudo S  
Preliminary report of lake sediment investigation in Lützow-Holm Bay, East Antarctica by JARE58/59.  
The 9th Symposium on Polar Science, Tokyo, December 4-7, 2018
- 香月興太、菅沼悠介、田邊優貴子、**柴田大輔**、川又基人、服部素子、工藤栄  
新型携帯採泥器を用いた南極沿岸氷結湖の調査(速報).  
地球惑星科学連合 千葉 2018 年 5 月 20~24 日
- 小高友実、柴田大輔、大植学、高野治朗、佐藤壽彦**  
特殊任務への挑戦 ー南極編・海底撮影編ー アクションカメラを使用した海底撮影装置の開発.  
第 1 回筑波大学技術職員交流会 茨城 2019 年 3 月 1 日
- 工藤栄、田邊優貴子、**柴田大輔**  
南極から基礎湖沼学研究のオモシロサを学ぶ.  
第 83 回日本陸水学会大会 岡山 2018 年 10 月 7 日
- 大植学、柴田大輔、小高友実、高野治朗、佐藤壽彦**  
アクションカメラを使用した海底撮影.  
第 45 回国立大学法人臨海・臨湖実験所・センター技術職員研修会議 北海道 2018 年 10 月 31 日~11 月 2 日
- 柴田大輔**  
第 59 次日本極地域観測隊での行動.  
第 45 回国立学法人臨海・臨湖実験所・センター技術職員研修会議 北海道 2018 年 10 月 31 日~11 月 2 日
- 柴田大輔**  
特殊任務への挑戦 ー南極編・海底撮影編ー 第 59 次日本南極地域観測隊での行動<先遣隊>.  
第 1 回筑波大学技術職員交流会 茨城 2019 年 3 月 1 日
- 菅沼悠介、香月興太、金田平太郎、川又基人、田邊優貴子、**柴田大輔**  
可搬型パーカッションピストンコアラーの開発.

地球惑星科学連 千葉 2018 年 5 月  
20～24 日

11. 田邊優貴子、國分互彦、林健太郎、木田森丸、菅沼悠介、香月興太、川又基人、**柴田大輔**、藤嶽暢英、工藤栄  
南極湖底生物群集の光合成の季節変化、および湖底堆積物による湖沼誕生年代解明に向けた研究.

第 83 回日本陸水学会大会 岡山  
2018 年 10 月 7 日

Technical staff

Daisuke Shibata, Manabu Ooue, Tomomi Kodaka, Jiro Takano

Senior staff

Toshihiko Sato

The technical staff perform various duties including research/survey support and manage and maintain all facilities/boats at the center. Field surveys are managed by technical staff, as we are required to steer all boats and assist in diving surveys onboard and in the water. Our largest research vessel, Tsukuba II, is helmed by all technical staff and is used during both field research and courses that take place throughout the year. Samples are usually collected onboard using a dredge, plankton nets and Niskin water samplers.



Figure 1. Benthos sampling aboard the Tsukuba II.

Tsukuba II also houses an ROV (Remotely Operated Vehicle) and onboard monitor to survey deep waters. Recently, surveys aboard the Tsukuba II have also taken place outside of the Shimoda Center, including monthly surveys at Shikine Island. Tsukuba II is also

equipped with a small rubber boat for transportation to survey sites that are inaccessible by the large vessel. Requested sample/organism collection and usage/guidance of research equipment are also done by technical staff.



Figure 2. Sampling using plankton nets during a field course.

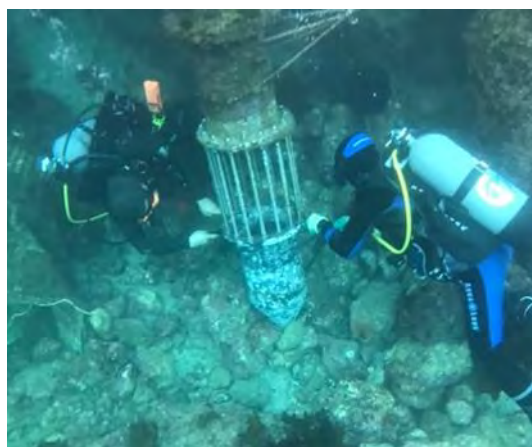


Figure 3. Seawater pipe maintenance by diving.

Within the SMRC facility, sea urchins are reared and maintained for research purposes. Many other marine organisms are also maintained within the facility for future research use. From laboratory to field research, special tools to accomplish both are designed

and made by technical staff. This is to ensure all research and surveys are accomplished with the use of tools not readily available. Seawater pumps that are located within an outside of the center and the underwater seawater pipe are all maintained by technical staff, including in the event of natural disasters.

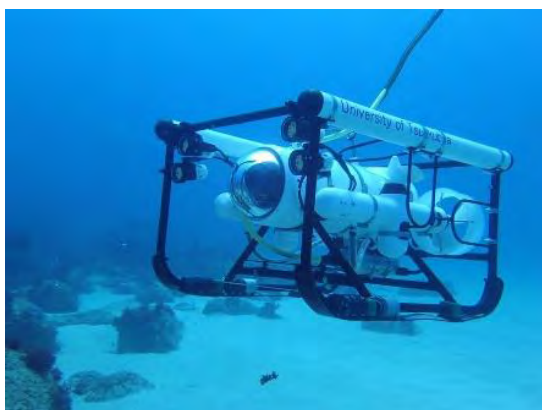


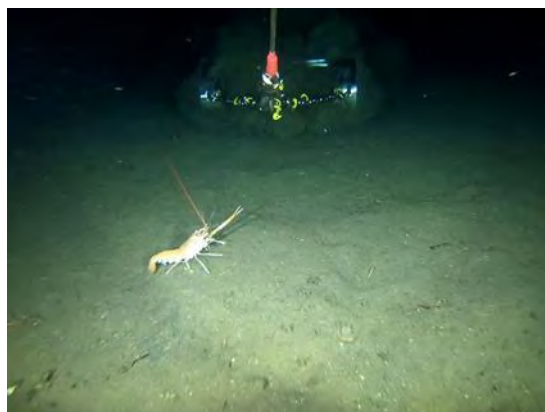
Figure 4. ROV (Remotely Operated Vehicle).

**【Topics】**

< Development of a videography device for investigating the benthic habitat using an action camera >

Marine organisms and samples are often collected for research and field courses; however, it is difficult to observe the sampled habitat due to depth. To solve this, we developed a videography system using an action camera. This works by attaching the action camera to the tow wire of the sampling device (ie. Dredge). Using this simple method, observation of the sampled benthos is accomplished without usage of the ROV. Additionally, we were able to observe the movement of the sampling device underwater, and with this information, research methodologies can be detailed and improved

for future sampling.



Publications

1. **Kodaka T, Shibata D, Ooue M, Takano J, Sato T**  
Development of a videography device for investigating the benthic habitat using an action camera.  
Technical Report, University of Tsukuba 38, 6-10 (2018)
2. **Shibata D**  
Research activities at the 59<sup>th</sup> Japanese Antarctic Research Expedition.  
Technical Report, University of Tsukuba 38, 1-5 (2018)
3. Suganuma Y, Tanabe Y, Katsuki K, **Shibata D**, Kawamata M  
Report on lake/marine sediment coring from ice surface (JARE-58/59).  
Antarctic Record 62, 15-42 (2018)
4. Suganuma Y, Katsuki K, Kaneda H, Kawamata M, Tanabe Y, **Shibata D**  
Development of a portable percussion piston corer.  
The Journal of the Geological Society of Japan 125 (4), 323-326 (2018)

Presentations

1. Gotoh S, Tanabe Y, **Shibata D**, Katsuki K, Rudd R, Kudoh S  
Study on habitat mapping of benthos ecosystem in Antarctic lake using underwater Remotely Operated Vehicle (ROV).  
The 9th Symposium on Polar Science  
Tokyo, December 4-7, 2018
2. Katsuki K, Suganuma Y, Tanabe Y, **Shibata D**, Kawamata M, Seto K, Irizuki T, Shakutsui H, Kashima K, Ikehara M, Kudo S  
Preliminary report of lake sediment investigation in Lützow-Holm Bay, East Antarctica by JARE58/59.  
The 9th Symposium on Polar Science  
Tokyo, December 4-7, 2018

## プレスリリースを行った研究

- 2018年4月27日 国際サンゴ礁年 2018 に関する取組について(第3報)～サンゴ礁保全シンポジウム及び各種イベント情報～ Sylvain Agostini / 環境省  
<https://www.env.go.jp/press/105439.html>
- 2018年5月24日 サンゴ礁保全シンポジウム Sylvain Agostini / フランス大使館  
<https://jp.ambafrance.org/article13049>
- 2018年7月27日 Study shows ocean acidification is having major impact on marine life Jason Hall-Spencer / Ben P Harvey  
<https://www.plymouth.ac.uk/news/study-shows-ocean-acidification-is-having-major-impact-on-marine-life>
- 2018年7月30日 海洋生態系に迫る危機～生物多様性を維持するために CO2 削減が不可欠なわけ～ Sylvain Agostini  
<https://www.tsukuba.ac.jp/wp-content/uploads/180730sylvain-1.pdf>
- 2018年8月2日 脊椎動物の「頭」の起源に迫る ～ホヤから脊椎動物への進化の一端を解明～ 堀江健生  
<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p201808020200.html>
- 2018年9月21日 情動や運動機能などに重要なドーパミン神経が作られる仕組みを解明 ～ドーパミン神経を作り出す遺伝子カクテルの発見～ 堀江健生 / 笹倉靖徳  
<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p201809211400.html>
- 2018年10月15日 Sea snail shells dissolve in increasingly acidified oceans, study shows Jason Hall-Spencer / Ben P Harvey  
<https://www.plymouth.ac.uk/news/sea-snail-shells-dissolve-in-increasingly-acidified-oceans-study-shows>
- 2019年3月5日 ウニもヒトも腸の幽門開口は類似の仕組みで制御されている ～一酸化窒素による幽門開口メカニズムの進化～ 谷口俊介  
<http://www.tsukuba.ac.jp/wp-content/uploads/p201903061442.pdf>
- 2019年3月11日 海洋の熱波による生物多様性の損失 Ben Paul Harvey  
<http://www.tsukuba.ac.jp/wp-content/uploads/p201903111400-2.pdf>

## 外部資金獲得状況

### <科学研究費助成事業>

研究種目	代表/分担	氏名	期間
基盤研究 (S)	分担	和田 茂樹	2016 年度～2020 年度
基盤研究 (A)	代表	稲葉 一男	2017 年度～2019 年度
基盤研究 (B)	代表	笹倉 靖徳	2016 年度～2018 年度
基盤研究 (B)	代表	今 孝悦	2018 年度～2021 年度
基盤研究 (B)	分担	柴 小菊	2016 年度～2018 年度
基盤研究 (B)	分担	今 孝悦	2017 年度～2020 年度
基盤研究 (C)	代表	柴 小菊	2016 年度～2018 年度
基盤研究 (C)	代表	堀江 健生	2016 年度～2018 年度
挑戦の萌芽研究	代表	和田 茂樹	2017 年度～2019 年度
挑戦の萌芽研究	分担	今 孝悦	2015 年度～2018 年度
新学術領域研究	分担	稲葉 一男	2016 年度～2021 年度
若手研究 (A)	代表	中野 裕昭	2014 年度～2018 年度
若手研究 (B)	代表	Agostini Sylvain	2017 年度～2019 年度
若手研究 (B)	代表	Benjamin Harvey	2017 年度～2019 年度
若手研究 (B)	代表	谷口 順子	2016 年度～2018 年度
特別研究員奨励費	代表	谷口 順子	2017 年度～2019 年度
特別研究員奨励費	代表	寺内 菜々	2017 年度～2019 年度
特別研究員奨励費	代表	戸祭 森彦	2016 年度～2018 年度



<その他の競争的資金>

研究種目	代表/分担	氏名	期間
医療研究開発 推進事業費補 助金(ナショナル バイオリソースプ ロジェクト)	代表	笹倉 靖徳	2017年度～2021年度
環境研究総合 推進費	代表	和田 茂樹	2017年度～2019年度
環境研究総合 推進費	分担	Agostini Sylvain	2018年度～2020年度
第58回東レ 科学技術研究 助成/東レ科 学振興会	代表	谷口 俊介	2018年度-2020年度
伊豆半島ジオ パーク学術研 究助成/伊豆 半島ジオパー ク推進協議会	代表	中野 裕昭	2018年度

<受託研究>

研究種目	支出機関名	代表/分担	氏名	期間
共同研究	サントリー生 命科学財団	代表	笹倉 靖徳	2018年度
日本学術振 興会外国人 研究者招へ い事業	日本学術振 興会	代表	稲葉 一男	2017年度

日本学術振興会外国人特別研究員招聘事業	日本学術振興会	代表	谷口 俊介	2018-2019 年度
日本学術振興会二国間交流事業(フランス)	日本学術振興会	代表	稲葉 一男	2017 年度～2019 年度
日本学術振興会二国間交流事業(イタリアとの共同研究)	日本学術振興会	代表	Agostini Sylvain	2017 年度～2019 年度

## 受賞など

受賞者	受賞名	授与団体
城倉 圭	第 56 会日本生物物理学会年会 学生発表賞	日本生物物理学会
Agostini Sylvain	平成 30 年度川口奨励賞	日本サンゴ礁学会
柴 小菊	平成 30 年度日本動物学会奨励賞	日本動物学会
Agostini Sylvain	若手研究賞	日本 DNA 多型学会
Agostini Sylvain	2018 Best FACULTY MEMBER	筑波大学
浅井 仁	日本動物学会 関東支部 71 回大会 最優秀ポスター賞	日本動物学会関東支部
戸祭 森彦	第 66 回日本生態学会大会 優秀ポスター賞	日本生態学会
鈴木 智佳	平成 30 年度 生命環境科学研究科長表彰	筑波大学

## 国際共同研究

研究者	研究内容	教員
カナダ・ビクトリア大学 Robert D. Burke 教授	「ウニ胚セロトニン神経形成に関する共同研究」	谷口俊介
アメリカ・コネチカット大学医学部 Stephen M. King 博士	「ホヤ鞭毛ダイニンのサブユニットに関する研究」	稲葉一男
ハンガリー・デブレセン医科大学 Zoltan Krasznai 博士	「精子運動調節の分子機構に関する研究」	稲葉一男
チェコ共和国・サウスボヘミア大学 Otmar Linhart 博士	「チョウザメ精子のタンパク質の解析」	稲葉一男
フランスビレフランシェ臨海実験所 Christian Sardet 博士	「ホヤ卵表層タンパク質の動態・プロテオミクス解析」	稲葉一男
韓国 NeoEnBiz Co. Jung-Suk Lee 博士	「CO <sub>2</sub> 増加にともなうウニの受精への影響」	稲葉一男 柴 小菊
ドイツ Max-Planck Institut fuer Molekulare Genetik Albert Poustka 博士 スペイン バルセロナ大学 Pedro Martinez 博士	「珍渦虫、無腸類のゲノムプロジェクト」	中野裕昭
スウェーデン Royal Swedish Academy of Sciences Michael Thorndyke 博士	「珍渦虫の発生学的研究」	中野裕昭
アメリカ プリンストン大学 Michael Levine 博士	「ゲノミクス技術を用いたホヤの進化発生生物学的研究」	堀江健生
中国 清華大学 Liu Xiao 博士	「左右相称動物間で保存された神経細胞の分化機構」	堀江健生

## 企画・運営した会議・シンポジウム

2018年5月15日 Sylvain Agostini

Coral Reef Conservation: Promoting awareness through effective communication

Japan, France, UK Tsukuba U., Tara Oceans Foundation, French Embassy

[http://www.shimoda.tsukuba.ac.jp/180515\\_coral\\_reef.html](http://www.shimoda.tsukuba.ac.jp/180515_coral_reef.html)

2018年10月17-21日 谷口俊介

Developmental Biology of the Sea Urchin XXV

MBL Woods Hole, MA

Sea Urchin meeting organizers

[http://www.echinobase.org/dbsu2018/Final\\_program\\_for\\_website\\_v4\\_\(posters\).pdf](http://www.echinobase.org/dbsu2018/Final_program_for_website_v4_(posters).pdf)

2019年1月17日 Jason Hall-Spencer / Ben P Harvey

Tackling the lionfish invasion in the Mediterranean: the EU-LIFE RELIONMED project: progress and results

United Nations Environment Programme

## 学会活動、社会貢献

- UNESCO-IOC GOSR (Editorial member) (稲葉一男)
- 全国臨海臨湖実験所所長会議幹事 (稲葉一男)
- Zoological Science (Associate Editor) (稲葉一男)
- Zoological Letters (Associate Editor) (稲葉一男)
- Zygote (Editor-in-Chief, Asian) (稲葉一男)
- Invertebrate Reproduction and Development (Editorial Board) (稲葉一男)
- 日本動物学会男女共同参画委員 (柴小菊)
- 日本動物学会 ZDW (ZooDiversityWeb) 委員 (柴小菊)
- 日本ゲノム編集学会 理事 (笹倉靖徳)
- Scientific Reports (Editorial Board) (谷口俊介)
- Scientific Reports (Editorial Board) (中野裕昭)
- 4月 科学技術週間 海産生物展示 (柴田大輔・高野治朗)
- 11月 第45回国立大学法人臨海・臨湖実験所・センター技術職員研修会議 (柴田大輔・大植学)
- 12月 第18回 JAMBIO 沿岸生物合同調査 in 下田

- 12月 下田臨海実験センター一般公開
- 1月 国立科学博物館 企画展 海産動物の標本展示 (中野裕昭)
- 2月 第19回 JAMBIO 沿岸生物合同調査 in 三崎 (高野治朗)
- 3月 第1回筑波大学技術職員交流会 (柴田大輔・小高友実)

#### イベント

- 4月 科学技術週間 海産生物展示 柴田大輔・高野治朗
- 11月 第45回国立大学法人臨海・臨湖実験所・センター技術職員研修会議 柴田大輔・大植学
- 12月 第18回 JAMBIO 沿岸生物合同調査 in 下田
- 12月 下田臨海実験センター一般公開
- 2月 第19回 JAMBIO 沿岸生物合同調査 in 三崎 高野治朗
- 3月 第1回筑波大学技術職員交流会 柴田大輔・小高友実

#### 実験材料提供

野田 直紀 日本大学医学部一般教育系生物学分野  
ムラサキウニ 30 個体(自然科学実習)

渡部 裕美 海洋開発研究機構海洋生物多様性研究分野  
キヌタレガイ 20 個体

## 社会公開教育関係

### 公開講座

	期 間	主 催	実 習 等 名	
1	7月31日～8月3日	下田臨海実験センター	「海洋生物学入門」	高校生対象26名
2	12月15日	下田臨海実験センター	「一般公開」	近隣住民対象60名
3	3月 1日	下田市教育委員会	「水産・海洋学講座」	下田市民対象計25名

## センター利用研究者

### センター利用者の主な研究課題

クマムシの精子の鞭毛、先体動態の定量的解析	慶應義塾大学
ウニ精子鞭毛運動に対する紅茶高分子ポリフェノール MAF の効果	筑波大学生命環境系
ウミウシ類の採集・観察	公益財団法人黒潮生物研究所
ウミシダの調査	東京大学大学院理学系研究科附属 臨海実験所
カタユウレイボヤにおける遺伝学的実験	千葉大学融合理工学府
ガンガゼにおける水温ストレス応答	香港大学
クシクラゲの平衡器官形成の研究	日本大学
クライオ電子顕微鏡に関する共同研究	京都産業大学
サンゴを用いた水槽実験の準備を行う	東京大学大気海洋研究所
シモダギボシムシ採集	東京大学理学系研究科生物科学専攻 海洋研究開発機構
堆積物標本を収集	国立科学博物館
ホヤ類の採集のため	筑波大学
ホンヤドカリの飼育および解析	日本大学
ムラサキウニの採集	国立研究開発法人海洋研究開発機構
ヤカドツノガイの生態研究のための試料採集	European Academy Of Art in Brittany
伊豆の漁礁や生態系に関する予備調査	筑波大学
下田周辺の露頭観察	東京農工大
海岸の照葉樹林帯に生息するチクシトゲアリ創設女王の採 集	大阪市立大学
海産カジカ科魚類の精子の微細構造観察	広島大学
海産下等動物プラコゾアのゲノム解析	山梨大学
海産無脊椎動物(平板動物・海綿動物・棘皮動物・刺胞動物) の採集	筑波大学
海底への付着基質の係留、海藻の採取	CNR Palermo
海洋酸性化によるサンゴの幼生への影響	Seoul National University
海洋酸性化研究: バイオフィルムの DNA	筑波大学
酸性化海域および通常海域で貝群集調査とpH 計測	国立遺伝学研究所
環境 DNA の採取と調査	筑波大学
海洋酸性化が生態系サービスに及ぼす影響-未来の海: CO2 シープを利用した解析のための調査	三重大学
環境省モニタリングサイト 1000(沿岸域調査)に関する藻場 調査	(環境省モニタリングサイト 1000)
岩石標本ならびに生物標本の収集(自然史学的研究)	国立科学博物館
金目鯛精子保存に関する共同研究	静岡県水産技術研究所伊豆分場
自然海水の採水	筑波大学

式根島 CO2 シープ調査	筑波大学
湿原で採取した間隙水の栄養塩の分析	筑波大学
マイクロインジェクションによるカプトクラゲ遺伝子の機能阻害 実験	沖縄科学技術大学院大学
受精・繊毛運動に関与するマウス精子タンパク質の機能解 析	筑波大学
水中二酸化炭素分圧センサーの運用試験	国立研究開発法人産業技術総合研究所 環境管理研究部門
珍渦虫の実験	情報・システム研究機構
微生物培養実験のための海水試料採取	独協大学
平板動物の採集	山梨大学
第 18 回 JAMBIO 沿岸生物合同調査	筑波大学

# プレスリリース資料

## (筑波大学 HP に掲載された資料)

- 2018年 7月 30日 海洋生態系に迫る危機～生物多様性を維持するために Sylvain Agostini  
CO2削減が不可欠なわけ～  
<https://www.tsukuba.ac.jp/wp-content/uploads/180730sylvain-1.pdf>
- 2018年 8月 2日 脊椎動物の「頭」の起源に迫る ～ホヤから脊椎動物への進 堀江健生  
化の一端を解明～  
<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p201808020200.html>
- 2018年 9月 21日 情動や運動機能などに重要なドーパミン神経が作られる仕 堀江健生 / 笹倉靖徳  
組みを解明 ～ドーパミン神経を作り出す遺伝子カクテルの  
発見～  
<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p201809211400.html>
- 2019年 3月 5日 ウニもヒトも腸の幽門開口は類似の仕組みで制御されてい 谷口俊介  
る ～一酸化窒素による幽門開口メカニズムの進化～  
<http://www.tsukuba.ac.jp/wp-content/uploads/p201903061442.pdf>
- 2019年 3月 11日 海洋の熱波による生物多様性の損失 Ben Paul Harvey  
<http://www.tsukuba.ac.jp/wp-content/uploads/p201903111400-2.pdf>



海洋生態系に迫る危機  
～生物多様性を維持するために CO<sub>2</sub> 削減が不可欠なわけ～

研究成果のポイント

1. 伊豆諸島式根島にある CO<sub>2</sub> シープ(海底から二酸化炭素 CO<sub>2</sub> が噴き出している場所)を利用し、今まさに海洋酸性化が生物群集の激変を引き起こしていることを明らかにしました。
2. 海洋酸性化の進行した海域では、サンゴや石灰藻、フジツボ、貝など、炭酸カルシウムの殻や骨格をもつ生物が減少していることが明らかになりました。
3. 高 CO<sub>2</sub> 環境下(CO<sub>2</sub> 濃度:400-1500  $\mu\text{atm}$  <sup>※</sup>)では小型の藻類が著しく増加し、他の大型生物(サンゴや大型の海藻など)の生息域を占有することが示されました。
4. サンゴや大型の海藻が減ると、それらが他の生物に提供していたすみかが失われることで、生物多様性が失われます。

国立大学法人筑波大学 下田臨海実験センター アゴスティーニ シルバン助教、ハーベイ ベン助教、和田茂樹助教、今孝悦助教、稲葉一男教授らは、プリマス大学(英国)、パレルモ大学(イタリア)との共同研究により、伊豆諸島の式根島に存在する CO<sub>2</sub> シープを利用して、海洋酸性化の影響が現時点において既に現れ始めていることを明らかにしました。このまま CO<sub>2</sub> が増加し続けると、生態系の激変が生じ、生物多様性が大幅に失われることが予測されます。

大気中の CO<sub>2</sub> 濃度の増加により、地球温暖化だけでなく、海洋の酸性化が進行することが危惧されています。CO<sub>2</sub> が海水に溶け込むことで、海洋生物に長期的な影響を及ぼす懸念があるためです。CO<sub>2</sub> シープは海底から CO<sub>2</sub> が噴出した場所で、周囲の海水に CO<sub>2</sub> が溶け込み、pH が低下(酸性化)します。つまり、この場所は、酸性化が進んだ未来の海と想定することができ、生態系全体に対する海洋酸性化の影響を調べることが可能です。式根島周辺は黒潮の影響を強く受け、サンゴなどの熱帯性の生物と大型海藻を始めとする温帯性の生物が共存する、生物多様性の高い海域です。また、CO<sub>2</sub> 濃度が世界でも低い海域であり、約 300 $\mu\text{atm}$  と産業革命前後の世界の平均的な CO<sub>2</sub> 濃度に近い値です。そのため、CO<sub>2</sub> シープから離れた海域は、100 年前の海と想定することができます。

研究グループは、CO<sub>2</sub> 濃度に基づき過去(300 $\mu\text{atm}$ )、現在(400 $\mu\text{atm}$ )、未来(900-1500 $\mu\text{atm}$ )の海域を選び、生物群集の調査を行いました。その結果、過去から現在で既に大きな生態系の変化が生じており、石灰化生物の減少や小型藻類の増加が生じています。さらに CO<sub>2</sub> 濃度が上昇すると、海底面の 90%以上が小型藻類に覆われることとなります。その結果、生物のすみかが失われ、生物多様性の低下が生じることとなります。

本研究は、Nature Springer グループが発行する電子ジャーナル「Scientific Reports」に、2018 年 7 月 27 日付けで先行公開されました。

## 研究の背景

人間活動に伴う二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)の放出は、とどまる気配も無く続いており、大気 CO<sub>2</sub> 濃度は産業革命以前の 280 $\mu$ atm から、現在は 400 $\mu$ atm を超えるまでに至っています。このまま CO<sub>2</sub> の排出が続くと、今世紀末には、900 $\mu$ atm 以上に達するとされています。大気に放出された CO<sub>2</sub> は、一部が海に吸収され、その結果として海の pH の低下(酸性化)が引き起こされます。この問題は海洋酸性化と呼ばれており、海洋生態系が将来どのように変化するのか、世界中で大いに注目されています。

海洋酸性化の影響を生態系レベルで評価するためには、実験室下での影響試験では不十分です。そこで、自然界にもともと存在する高 CO<sub>2</sub> 海域として、海底から CO<sub>2</sub> が噴き出す場所(CO<sub>2</sub> シープ)を使用することで、酸性化が進行した未来の海を模した生態系の影響予測が可能となります。

筑波大学下田臨海実験センターの研究グループは、伊豆諸島の式根島において新たな CO<sub>2</sub> シープを報告しました(Agostini et al. 2015)。式根島の周囲の平均的な CO<sub>2</sub> 濃度は約 300 $\mu$ atm です。産業革命前後と同等であり、世界的に見ても CO<sub>2</sub> 濃度が低い海域となります。一方、CO<sub>2</sub> シープ付近では 400 $\mu$ atm を越える高い CO<sub>2</sub> 濃度となっています。そのため、式根島の CO<sub>2</sub> シープでは、将来予測を行うだけでなく、過去 100 年間に世界中で生じた海洋酸性化の影響を明らかにすることが可能です。式根島は黒潮の影響を強く受け、サンゴなどの熱帯性の生物と大型海藻をはじめとする温帯性の生物が共存する、生物多様性の高い海域であるため、多様な生物に対する酸性化の影響を知ることができます。

## 研究内容と成果

筑波大学下田臨海実験センター、プリマス大学、パレルモ大学の国際研究グループは、式根島の沿岸で生物群集の調査を行いました。CO<sub>2</sub> シープから離れた海域(CO<sub>2</sub> 濃度:300 $\mu$ atm)では、サンゴや大型の海藻が他の生物のすみかを提供し、高い生物多様性が維持されています。しかし、現在の世界の平均的な CO<sub>2</sub> 濃度である 400 $\mu$ atm の海域では、サンゴや大型の海藻、潮間帯では大型のフジツボなどが減少し、小型の藻類などが優占します。さらに、CO<sub>2</sub> 濃度が高い 900-1500 $\mu$ atm の海域においては、海底面のほとんどが小型藻類によって覆われていました。小型の藻類が優占すると、他の生物にとってのすみかとなる海底の三次元的な構造が失われます。その結果、生物多様性が低下することとなります。

IPCC (国連気候変動に関する政府間パネル) の第 5 次報告書に基づくと、CO<sub>2</sub> 排出が最も多いシナリオ(RCP8.5)では、2100 年には CO<sub>2</sub> 濃度が 1200 $\mu$ atm に達します。今回の式根島での調査結果と比較すると、このような高い CO<sub>2</sub> 濃度下では、海洋生態系の変化は甚大なものとなります。人間社会が海洋生態系に深く依存していることから、海洋の生物多様性の低下は、人間社会に大きな損失をもたらします。そのため、少なくともパリ協定に基づいた CO<sub>2</sub> 削減を進めることが必須と言えるでしょう。

## 今後の展開

筑波大学下田臨海実験センターの研究グループは、国際的な共同研究を通して、生態系の変化を引き起こすメカニズムの解析や、酸性化が人間社会に及ぼす影響の評価を明らかにする予定です。

参考図



図1:CO<sub>2</sub> 濃度 300 $\mu$ atm:サンゴや大型海藻が主体の生物多様性の高い海域

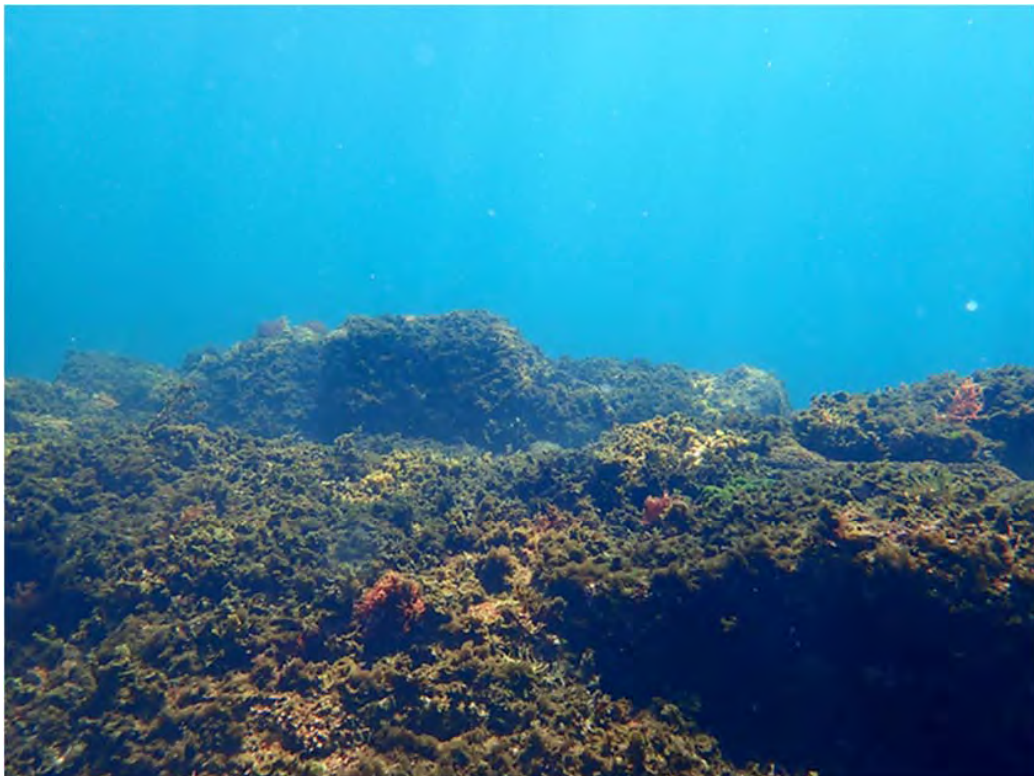


図2:CO<sub>2</sub> 濃度 900 $\mu$ atm:小型の藻類が主体の生物多様性の低い海域

### 用語解説

注)  $\mu\text{atm}$

大気中の二酸化炭素濃度は、空気中の二酸化炭素の存在比として、ppm(100 万分率)で表す。海水中に溶け込んだガス成分の存在比も ppm で表すこともある。しかしここでは、濃度の単位を圧力の単位に変換した二酸化炭素分圧として、 $\mu\text{atm}$ (100 万分の 1 気圧)で表す。

### 参考文献

Agostini, S., Wada, S., Kon, K., Omori, A., Kohtsuka, H., Fujimura, H., ... Inaba, K. (2015). Geochemistry of two shallow CO<sub>2</sub> seeps in Shikine Island (Japan) and their potential for ocean acidification research. *Regional Studies in Marine Science*, 2, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2015.07.004>

### 掲載論文

【題名】 Ocean acidification drives community shifts towards simplified non-calcified habitats in a subtropical–temperate transition zone

(海洋酸性化は温帯・亜熱帯境界域における生物群集を非石灰化生物を主体とする単純な生態系に変化させる)

【著者名】 アゴスティーニ シルバン<sup>1</sup>、ハーベイ ベン<sup>1</sup>、和田 茂樹<sup>1</sup>、今 孝悦<sup>1</sup>、ミラッツォ マルコ<sup>2</sup>、稲葉 一男<sup>1</sup>、ホール・スペンサー ジェイソン<sup>1,3</sup>

1: 筑波大学下田臨海実験センター、2: パレルモ大学(イタリア)、3: プリマス大学(英国)

【掲載誌】 Scientific Reports

DOI:10.1038/s41598-018-29251-7

### 問い合わせ先

アゴスティーニ シルバン

筑波大学 生命環境系 下田臨海実験センター 助教

〒415-0025 静岡県下田市5-10-1

脊椎動物の「頭」の起源に迫る  
～ホヤから脊椎動物への進化の一端を解明～

研究成果のポイント

1. 原始的な脊索動物であるホヤにおいて、脊椎動物の頭部を特徴づける神経提細胞<sup>※1</sup>と頭部プラコード<sup>※2</sup>の原始的な性質を備えた細胞の発生プログラムを解明しました。
2. ホヤにおいて頭部プラコード、神経堤細胞由来の感覚神経細胞はお互いに運命が変換することが可能な良く似た性質を備えていることが明らかになりました。
3. 脊椎動物の頭部プラコードと神経堤細胞は共通の進化的な起源を有しており、それはホヤと脊椎動物の共通祖先にさかのぼる可能性を示しました。
4. ホヤから脊椎動物への進化の一端を解明する研究です。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 堀江健生助教(国際テニュアトラック助教)らの研究グループは、米国プリンストン大学との共同研究により、脊椎動物の頭部感覚器を生み出す頭部プラコード、神経堤細胞の進化的な起源とその発生プログラムを明らかにしました。

脳と感覚器を備えた頭部は、脊椎動物の一大特徴です。それらの頭部感覚器は、神経板と表皮の境界領域(神経板境界領域)から生じる頭部プラコードと神経堤細胞から作られます。発生過程において、頭部プラコード、神経堤細胞が形成される区画は、それぞれで特異的に発現する遺伝子によって明確に決定されています。すなわち、頭部プラコードは神経板境界領域の前方から、神経堤細胞は神経板境界領域の後方から発生します。頭部プラコードと神経堤細胞は、脊椎動物に特有の組織であると考えられていましたが、最近になって、脊椎動物に最も近縁な無脊椎動物であるホヤにおいて、頭部プラコードと神経堤細胞の原始的な性質を備えた感覚細胞が存在することが報告されていました。しかしながら、頭部プラコードと神経堤細胞が、ホヤの仲間から脊椎動物への進化の過程においてどのように獲得されたのかは不明でした。

本研究では、ホヤにおいて頭部プラコードと神経堤細胞の起源にあたる性質を備えた細胞の発生プログラムについて、細胞系譜追跡実験、遺伝子機能阻害実験、単一細胞トランスクリプトームなどの手法を組み合わせた包括的な解析を行いました。その結果、①神経板境界領域は、*Foxc*, *Six1/2*, *Msx* という遺伝子によって区画化されており、これらの遺伝子による区画化のパターンはホヤと脊椎動物の間で保存されていること、②各遺伝子で区画化された領域から、頭部プラコード、神経堤細胞の性質を備えた感覚神経細胞が産み出されること、③頭部プラコードと神経堤細胞はお互いに運命を変換することが可能な似た性質を備えていることを示しました。

これらの結果から、神経板境界領域の区画化は脊椎動物以前に確立されていることが示されました。また脊椎動物以前の神経板境界領域は頭部プラコードと神経堤細胞の両方の起源となり、頭部プラコードと神経堤細胞は共通の進化的な起源から派生した可能性が示されました。これは、脊椎動物の進化を解明する上で重要な発見です。

本研究の成果は、2018年8月1日(日本時間2日午前2時)付けで英国科学誌「Nature」でオンライン公開されます。

\* 本研究は、日本学術振興会の科学研究費補助金、筑波大学戦略イニシアティブ推進機構プレ戦略イニシアティブ研究プロジェクト提案型の支援により実施されました。

## 研究の背景

脊椎動物の大きな特徴の一つは、発達した脳や、眼、鼻、耳などの感覚器官を備えた頭部構造をもつことです。脊椎動物の頭部を構成する脳や脊髄などの中枢神経系は神経板から作られ、頭部感覚器やそれを構成する感覚神経細胞は頭部ブラコードおよび神経堤細胞という構造から作られます(図1)。脊椎動物の進化における頭部ブラコードと神経堤細胞の唐突に見える出現は、長らく謎とされてきました。

これまで、頭部ブラコードや神経堤細胞は脊椎動物に特有の構造と考えられていました。しかし、最近になって、脊椎動物に最も近縁な無脊椎動物であるホヤにおいて、頭部ブラコード・神経堤細胞の原始的な性質を備えた細胞が存在することが報告されていました(Abituna *et al*/Nature 2015; Stolfi *et al*/Nature 2015)。しかし依然として、脊椎動物への進化の過程において、頭部ブラコードと神経堤細胞がどのように獲得されたのか(例えば、頭部ブラコードと神経堤細胞は進化的に共通の起源をもつのか、それとも別々の起源をもつのか)は不明でした。そこで本研究グループは、ホヤを用いて、頭部ブラコード・神経堤細胞の発生プログラムについて詳細な研究を行うことでこの問題に取り組みました。

## 研究内容と成果

脊椎動物が発生する過程で頭部ブラコードと神経堤細胞が作られる区画は、それぞれ特異的に発現する遺伝子によって明確に決められており、神経板と表皮の前方の境界領域には頭部ブラコードが、神経板と表皮の後方の側方の境界領域には神経堤細胞が作られます。上述したように、頭部ブラコードからは感覚器や頭部の感覚神経細胞が、神経堤細胞からは末梢神経系に分布する感覚神経細胞や頭部の骨組織や色素細胞が作られます。

一方、ホヤには神経板境界領域から派生する感覚神経細胞が4種類存在しており、前方からPSCs、aATENs、pATENs、BTNsと名前が付けられています。(図2, 3)。このうち、PSC、aATENsには頭部ブラコードの原始的な性質があることを(Abituna *et al*/Nature 2015)、BTNsには神経堤細胞との類似性があることが報告されています(Stolfi *et al*/Nature 2015)。

本研究グループは、各感覚神経細胞が発生過程において、どの割球から分化してくるのかを明らかにし、それぞれ別々の割球から発生することを確認しました。次に、頭部ブラコードや神経堤細胞の特異的形成において重要な働きをする遺伝子の神経板境界領域における発現パターン(図3)を調べたところ、脊椎動物とホヤでは非常に似ていることを明らかにしました。すなわち、ホヤにおけるこれらの遺伝子の前後軸に沿った発現パターンが、頭部ブラコード由来の感覚神経細胞、神経堤細胞由来の感覚神経細胞が分化してくる位置と対応していることを明らかにしました(図2, 3)。次に、頭部ブラコードや神経堤細胞を区画化している遺伝子の機能を阻害する実験、本来なら頭部ブラコードで発現する遺伝子を神経堤細胞で異所的に発現させる実験、体を構成する全ての細胞一つひとつの遺伝子の発現を単一細胞トランスクリプトームという最新の手法を用いて一挙に明らかにする実験を行うことにより、頭部ブラコードと神経堤細胞の発生運命が互いに変換可能な良く似た性質を備えていることを明らかにしました(図4)。これらの結果から、神経板境界領域の区画化は、脊椎動物が登場する以前に確立されていたこと、脊椎動物以前の神経板境界領域は頭部ブラコードと神経堤細胞両方の起源を可能とし、頭部ブラコードと神経堤細胞は共通の源、おそらくホヤと脊椎動物の共通祖先から進化的に派生した可能性が示されました。

今後の展開

今回の研究は、脊椎動物を特徴づける組織である頭部プラコードや神経堤細胞が脊椎動物の進化の過程においてどのように獲得されたのかについて、ホヤを用いて新たなモデルを提唱した研究です。今後とも、ホヤや様々な動物の研究を通して、脊椎動物への進化の過程を詳しく研究していきたいと思いをします。

参考図

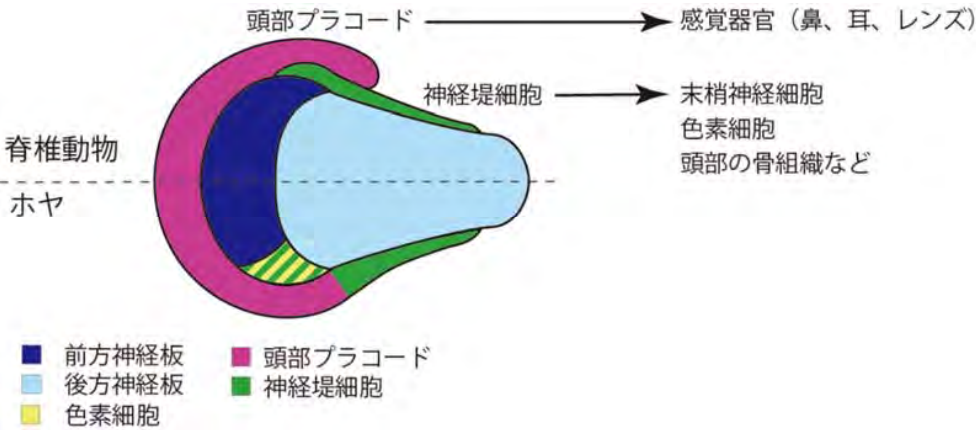


図 1. 脊椎動物とホヤの神経板境界領域の模式図

図の上半分は脊椎動物の神経板境界領域を、下半分はホヤの神経板境界領域を示している。赤紫色がプラコード、緑色が神経堤細胞、水色と紺色が神経板を表している。頭部プラコードは神経板の前方に、神経堤細胞は神経板の側方の後方に位置している。頭部プラコードからは耳や鼻などの感覚器官が、神経堤細胞からは末梢神経細胞や色素細胞、頭部の骨組織などが分化する。頭部プラコード、神経堤細胞の位置関係は、脊椎動物とホヤで良く似ている。

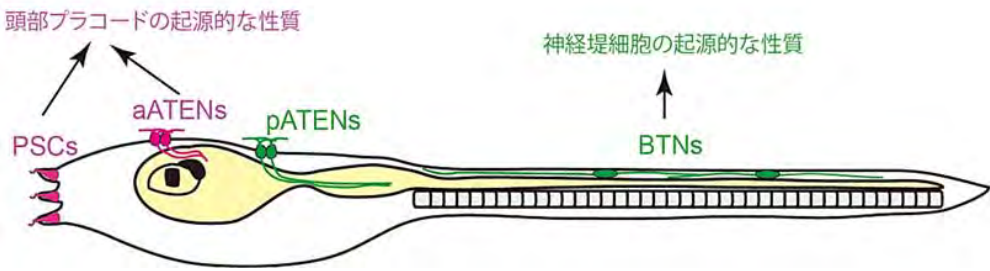


図 2. 神経板境界領域から派生する各感覚神経細胞の幼生における分布  
 前方から、PSCs、aATENS、pATENS、BTNs が存在する。PSCs、aATENS は頭部プラコードの起源的な性質を、BTNs は神経堤細胞の起源的な性質を有していることが報告されている。これらの感覚神経細胞はお互いに運命変換が可能な良く似た性質を備えていることが示された。

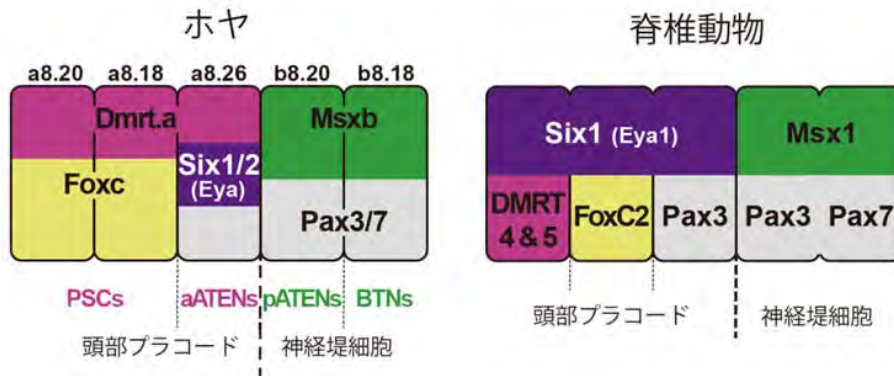


図3. ホヤの神経板境界領域と脊椎動物の神経板境界領域における遺伝子発現パターンの比較  
 左はホヤ、右は脊椎動物の神経板境界領域の模式図。頭部プラコードでは、*DMRT*、*FoxC*、*Six1* 遺伝子が、神経提細胞では *Msx* 遺伝子が発現している。*Pax3*、*Pax7* 遺伝子は頭部プラコードと神経提細胞の両方に発現している。この発現パターンはホヤ、脊椎動物で保存されている。また、各遺伝子で区画化された領域から、それぞれの感覚神経細胞は分化する。

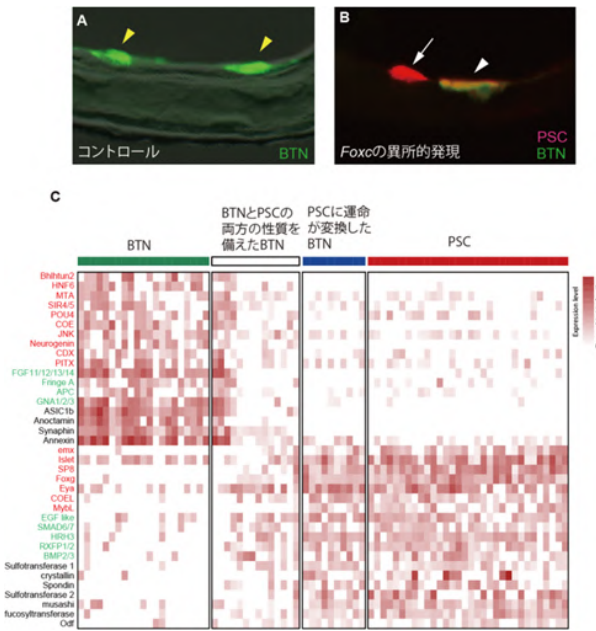


図4 感覚神経細胞の運命変換の例  
 本来なら頭部プラコードの前端で発現する *Foxc* 遺伝子を神経提細胞で異所的に発現させる実験を行った。  
 A: コントロール。緑色はBTNのマーカー遺伝子の発現。黄色の矢印はBTN細胞を示して得ている。  
 B: *Foxc* 遺伝子を神経提細胞で異所的に発現させたホヤ。緑色がBTNのマーカー遺伝子の発現を、赤色がPSC遺伝子の発現を示している。*Foxc*の異所的な発現により、PSCのマーカー遺伝子の発現が誘導されている（白の矢印と矢頭）。一部の細胞はBTNとPSCの両方の性質を備えている（白の矢頭）。  
 C: *Foxc* 遺伝子を神経提細胞で異所的に発現させたホヤについて、単一細胞トランスクリプトームを行った結果。BTN、BTNとPSCの両方の性質を備えたBTN、PSCに運命が変換したBTN、PSCの結果を支援している。赤色は左に示しているマーカー遺伝子発現の強さを示している。縦の1列が1細胞における遺伝子発現を示している。BTNとPSCの両方の性質を備えた細胞は、PSCとBTNの両方のマーカーを発現している。PSCに運命が変換したBTNはPSC様の遺伝子発現を示す。この結果から、BTNはPSCに運命が変換可能であることが示された。



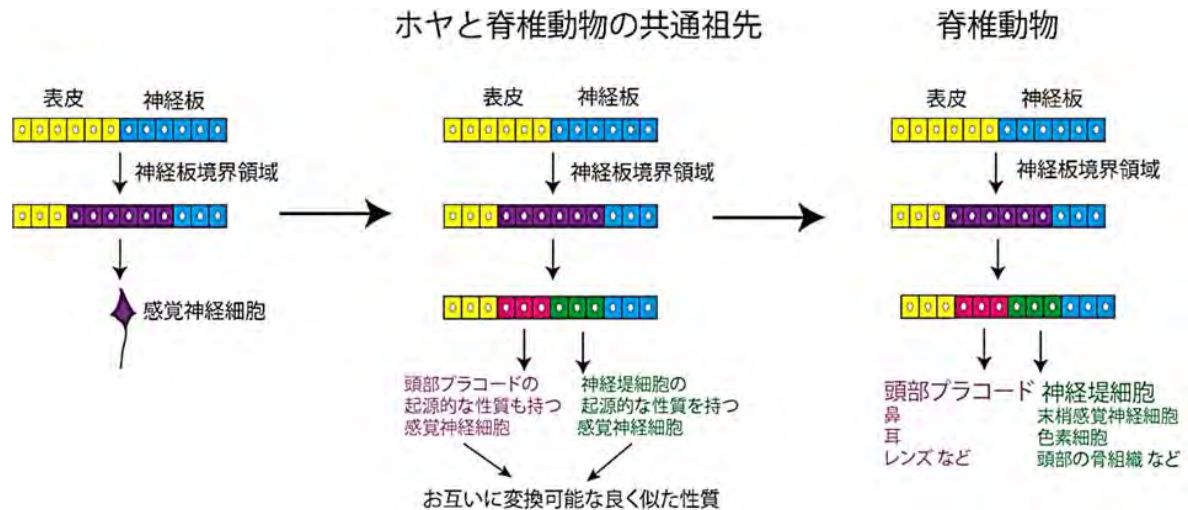


図5. プラコードと神経堤細胞の進化のシナリオ

表皮と神経板の境界領域に感覚神経細胞を生み出す神経板境界領域が獲得され、この神経板境界領域がプラコード、神経堤細胞の共通の進化的な起源となったと予想される。

**用語解説**

注1) 神経堤細胞

脊椎動物の発生初期において、胚の背側が肥厚して神経板が形成され、それが中枢神経系の原基となる。神経板と表皮の側方の境界領域に形成される細胞が神経堤細胞で、感覚神経細胞や色素細胞、頭がい骨や顎の骨などを作り出す。

注2) 頭部プラコード

神経板と表皮の前方の境界領域に形成され、主に感覚器のもとになる細胞を作り出す。

**掲載論文**

【題名】 Shared evolutionary origin of vertebrate neural crest and cranial placode

(脊椎動物の神経堤細胞と頭部プラコードの進化的な起源)

【著者名】 Ryoko Horie<sup>†</sup>, Alex Hazbun<sup>†</sup>, Chen Kai<sup>†</sup>, Chen Cao, Michael Levine\*, Takeo Horie\*

(<sup>†</sup>貢献度が同等の筆頭筆者) (\*責任筆者)

【掲載誌】 Nature

doi.org/10.1038/s41586-018-0385-7

**問い合わせ先**

氏名 堀江 健生 (ほりえ たけお)

筑波大学 生命環境系 下田臨海実験センター 国際テニユアトラック助教

〒415-0025 静岡県下田市5-10-1

平成30年9月21日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学  
公立大学法人 兵庫県立大学  
甲南大学  
沖縄科学技術大学院大学

## 情動や運動機能などに重要なドーパミン神経が作られる仕組みを解明 ～ドーパミン神経を作り出す遺伝子カクテルの発見～

### 研究成果のポイント

1. ヒトに最も近い無脊椎動物であるホヤにおいて、ドーパミン神経<sup>※1</sup>が作られる仕組みを明らかにしました。
2. *Ptf1a*と *Meis* を導入することにより、ホヤの脳にある全ての細胞がドーパミン神経に変換されたことから、ドーパミン神経は、*Ptf1a*と *Meis* という2つの遺伝子のカクテルによって作られることが分かりました。
3. 将来、ドーパミン神経の再生医療への応用につながりうる重要な発見です。

国立大学法人筑波大学生命環境系 堀江健生助教、笹倉靖徳教授の研究グループは、プリンストン大学、兵庫県立大学、甲南大学、沖縄科学技術大学院大学との共同研究により、ドーパミン神経の形成を選択的に誘導する遺伝子カクテルの同定に成功しました。

ドーパミン神経は、喜びや快楽を介する報酬行動や、恋愛や恐怖、不安といった情動行動のコントロールなど様々な役割をすることが知られており、ヒトの活動にとってきわめて重要な神経の一つです。脊椎動物の脳には複数種類のドーパミン神経が存在しており、中脳、視床下部<sup>※2</sup>、嗅球などに分布していることが知られています。しかし、ドーパミン神経が作られるメカニズムには未だ不明な点が多く残されています。

本研究では、ヒトに最も近い無脊椎動物であるホヤをモデルとして、ドーパミン神経が作られる仕組みについて、単一細胞トランスクリプトーム、遺伝子機能阻害などの手法を用いて徹底的な解析を行いました。その結果、ホヤのドーパミン神経の分化には *Ptf1a*、*Meis* という2つの遺伝子が必須の役割をしていることを明らかにしました。さらに、*Ptf1a*と *Meis* の遺伝子カクテルの導入により、ホヤの脳にある全ての細胞をドーパミン神経へと変換することに成功しました。また、ホヤのドーパミン神経は我々の視床下部とよばれる脳の領域にあるドーパミン神経と類似していることも、本解析から分かりました。

本研究の成果は、2018年9月18日付けで米国科学誌「Genes and Development」で先行オンライン公開されました。

\* 本研究は、日本学術振興会の科学研究費補助金、科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業さきがけ、東レ科学技術研究助成、筑波大学戦略イニシアティブ推進機構プレ戦略イニシアティブ研究プロジェクト提案型の支援により実施されました。

## 研究の背景

ドーパミン神経は、喜びや快楽を介する報酬行動や恐怖や不安、恋愛といった情動行動のコントロール、運動機能の調節など様々な役割をしており、ヒトが生命活動を行う上できわめて重要な神経の一つです。我々の脳には複数種類のドーパミン神経が存在しており、中脳、視床下部、嗅球など脳内のいくつかの領域に分布していることが知られています。特に中脳の黒質領域に存在するドーパミン神経の数が減少するとパーキンソン病<sup>注3</sup>が引き起こされることが知られており、ドーパミン神経は生物学的にも、医学的にも非常に重要な研究対象です。中脳のドーパミン神経の機能やその分化メカニズムに関する研究は、パーキンソン病の治療への応用のために精力的に進められており、実際にiPS細胞から中脳ドーパミン神経を誘導し、パーキンソン病の治療に応用することが試みられています。その一方で、視床下部など中脳以外の領域にあるドーパミン神経の分化メカニズムなど、この神経細胞が作られる仕組みには未だ不明な点が多く残されています。本研究グループはヒトに最も近い無脊椎動物であるホヤを用いてこの問題に取り組みました。

ホヤはヒトと同じ脊索動物というグループに属している動物です。ホヤの幼生はオタマジャクシ型の形態をしており、背側に神経管が位置するなど、我々脊椎動物と同じ基本設計を有しています。ホヤ幼生の脳・神経系を構成する細胞数は350個程度、神経細胞に限定すれば約200個と非常に少数の細胞から構成されています。このように単純でありながら脊椎動物との共通性を備えているホヤ幼生の脳・神経系は、複雑な脊椎動物の脳の発生を理解するうえで良いモデルとなります。本研究グループはホヤに存在する全ての神経細胞の形成メカニズムを明らかにすることを目標として研究を行っており、その研究の一環としてドーパミン神経が作られる仕組みについて、様々な手法を用いて徹底的に解析を行いました。

## 研究内容と成果

これまでの研究から、ホヤ幼生の脳の一部にもドーパミン神経が分布することが知られていました(参考図1)。この領域では脊椎動物の視床下部の形成に重要な遺伝子が発現することから、視床下部との類似性が指摘されていました。しかしながら、ホヤのドーパミン神経の発生メカニズムは不明でした。

本研究グループはまず単一細胞トランスクリプトーム<sup>注4</sup>という最新の手法を用いて、体を構成する全ての細胞一つひとつの遺伝子発現を網羅的に明らかにする実験を行いました。その結果、ドーパミン神経で特異的に発現する遺伝子群を一挙に同定することに成功しました。そして、ホヤのドーパミン神経には脊椎動物の視床下部と同様にホルモンや神経ペプチドが多く発現しており、発生遺伝子の発現だけでなく機能的にも脊椎動物の視床下部との類似性を備えていることを明らかにしました。

さらに、ドーパミン神経で特異的に働く発生制御遺伝子に注目して解析を行ったところ、ドーパミン神経で特異的に発現する転写因子<sup>注5</sup>として*Ptf1a*を同定しました(参考図2)。*Ptf1a*の機能を阻害したところ、ホヤの幼生からドーパミン神経が完全に失われました(参考図3B)。この結果から、*Ptf1a*がドーパミン神経の形成に必須の役割をしていることが明らかになりました。

次に、*Ptf1a*を脳で過剰に発現させたところ、脳の多くの細胞をドーパミン神経に変換することに成功しましたが、いくつかの細胞はドーパミン神経に変換されませんでした(参考図3C)。*Ptf1a*を脳で過剰に発現させた個体において、さらに解析を行い、細胞運命がドーパミン神経に変換した細胞と変換しなかった細胞について遺伝子発現を比較したところ、ドーパミン神経になった細胞にだけ、*Meis*という転写因子が強く発現していることが分かりました。

次に、*Ptf1a*と*Meis*の遺伝子カクテルを脳に発現させたところ、脳の全ての細胞がドーパミン神経に変換しました(参考図4)。これらの結果から、ホヤのドーパミン神経は*Ptf1a*と*Meis*という2つの遺伝子が共同で働くことによって作られることを明らかにしました。ホヤのドーパミン神経は我々脊椎動物の視床下部と似ていることから、脊椎動物の視床下部のドーパミン神経も同じメカニズムを使用している可能性が高いと考えられます。視床下部は体の成長や性成熟などにおいて極めて重要な機能を持つ脳領域であり、私たちの成果を基にした今後の解析が待たれます。

## 今後の展開

今回の研究は、ホヤを用いて、ドーパミン神経の分化を誘導する遺伝子カクテルを同定した研究です。今後はドーパミン神経だけでなくホヤに存在する全ての神経の発生メカニズムを解明したいと考えています。さらに、ホヤや様々な動物の研究を通して、神経細胞が作られる仕組みの共通原理を明らかにしたいと考えています。

## 参考図

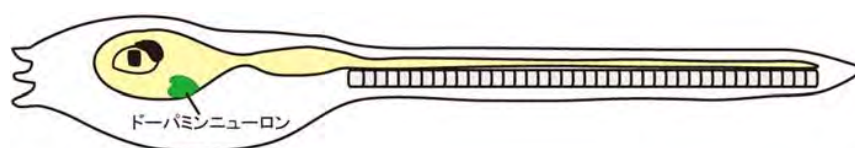


図 1. ホヤ幼生の模式図とドーパミン神経の分布

ホヤの幼生はオタマジャクシ型の形態をしており、背側に神経管が位置するなど脊椎動物と多くの共通点を備えている。神経管は黄色で示されており、前方部の膨らみが脳にあたる。緑色の部分がドーパミン神経で、脳の腹側に位置している。



図 2. *Ptf1a* はドーパミン神経で発現している

A: *Ptf1a* 発現細胞 (緑色)、B: ドーパミン神経 (赤紫色)、C: A と B の重ね合わせ。 *Ptf1a* はドーパミン神経で特異的に発現している。

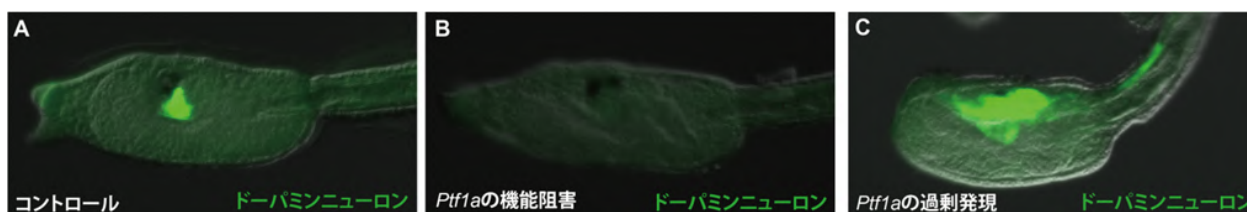


図 3. *Ptf1a* はドーパミン神経の分化に必須の役割をしている

A: コントロール、B: *Ptf1a* の機能を阻害した幼生、C: *Ptf1a* を過剰発現した幼生。緑色はドーパミン神経を示している。

*Ptf1a* の機能を阻害するとドーパミン神経が完全に失われる (図 3A と図 3B を比較)

*Ptf1a* を中枢神経系全体で過剰発現するとドーパミン神経が多く分化する (図 3A と図 3C を比較)

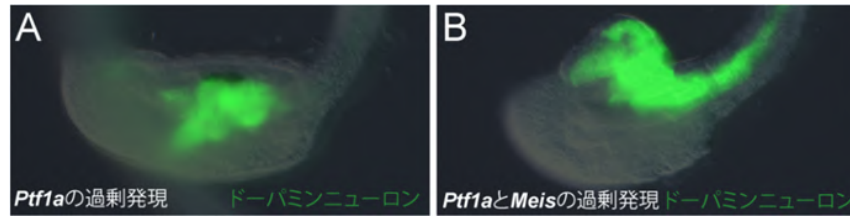


図4. *Ptfla*と*Meis*の遺伝子カクテルの導入により、脳の全ての細胞がドーパミン神経へと変換した  
A:*Ptfla*のみを過剰発現した幼生。B: *Ptfla*と*Meis*の遺伝子カクテルを導入した幼生。緑色はドーパミン神経を示している。遺伝子カクテルの導入により脳の全ての細胞がドーパミン神経へと変換した(図3B)

#### 用語解説

注1) ドーパミン神経 : 神経伝達物質であるドーパミンを分泌する神経細胞。

注2) 視床下部 : ホルモンや神経ペプチドを放出し、体の成長や性成熟、代謝制御などを行っており、生命維持の中核とされる

注3) パーキンソン病 : 手足の震えや歩行の困難など運動機能に影響のある神経変性疾患の一つ。中脳の黒質領域のドーパミン神経の数が減ることが原因の一つとなる。

注4) 単一細胞トランスクリプトーム解析 : 一つ一つの細胞のそれぞれで発現している全ての遺伝子を網羅的に調べる新しい実験手法。

注5) 転写因子 : DNAに結合して遺伝子の発現を調節するタンパク質。

#### 掲載論文

【題名】Regulatory cocktail for dopaminergic neurons in a proto-vertebrate identified by whole embryo single cell transcriptomics

(単一細胞トランスクリプトームによるドーパミンニューロン分化を引き起こす転写因子カクテルの同定)

【著者名】Takeo Horie<sup>†</sup>\*, Ryoko Horie<sup>†</sup>, Kai Chen<sup>†</sup>, Chen Cao<sup>†</sup>, Masahi Nakagawa, Takehiro G. Kusakabe, Noriyuki Satoh, Yasunori Sasakura\*, Michael Levine\*

(<sup>†</sup>貢献度が同等の筆頭筆者)(\*責任筆者)

【掲載誌】Genes and Development

doi/10.1101/gad.317669.118.

#### 問い合わせ先

氏名 堀江 健生(ほりえ たけお)

筑波大学 生命環境系 下田臨海実験センター 国際テニユアトラック助教

〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1

氏名 笹倉 靖徳(ささくら やすのり)

筑波大学 生命環境系 下田臨海実験センター センター長・教授

## ウニもヒトも腸の幽門開口は類似の仕組みで制御されている

### ～一酸化窒素による幽門開口メカニズムの進化～

#### 研究成果のポイント

1. 後口動物内で、脊椎動物以外でも腸の幽門開口に一酸化窒素が利用されていることを初めて明らかにしました。
2. ウニ幼生の幽門が一酸化窒素依存的に開口制御を受けること、また、神経型一酸化窒素合成酵素を発現する神経様細胞が幽門付近にあり、それが内胚葉由来であることを明らかにしました。
3. ヒトを含む動物の進化の過程で、幽門の開口制御がどのように獲得され多様化してきたのかを考える上で、重要なヒントをあたえる成果です。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 下田臨海実験センター 谷口俊介准教授と谷口順子研究員(日本学術振興会特別研究員)は、バフンウニ(*Hemicentrotus pulcherrimus*)を用いて、その幼生期の胃腸において、幽門の開口は一酸化窒素<sup>※1</sup>によって制御されており、その近傍には神経型一酸化窒素合成酵素を発現している内胚葉<sup>※2</sup>由来の神経様細胞が存在していることを明らかにしました。

ヒトを含む脊椎動物では、神経堤細胞<sup>※3</sup>由来の腸管神経が胃や腸といった消化管の機能を制御しています。しかし、神経堤細胞は脊椎動物でしか見られないため、消化管制御の仕組みが動物進化の過程でどのように獲得され、多様化してきたのかを議論することが不可能でした。そこで、脊椎動物と同じ後口動物に属しながら、神経堤細胞を持たない無脊椎動物である棘皮動物のウニ幼生の消化管に着目し、特に幽門の開閉がどのように制御されているのかを明らかにすることを試みました。その結果、ウニ幼生の幽門付近に神経様細胞が存在しており、そこで生産されている一酸化窒素が幽門の開口を制御していることが明らかになりました。これは、脊椎動物の腸管神経が一酸化窒素を利用して幽門開口を制御していることと類似しています。しかし、ウニには神経堤細胞が存在しないことから、この神経様細胞の由来を調べてみると、内胚葉由来であることが明らかになりました。左右相称動物では神経は外胚葉由来とされているため、幽門を制御する神経様細胞が内胚葉由来であることを詳細な細胞系譜追跡実験で明らかにしたことは、その進化的意義も含めて大きな成果です。

今回の成果により、後口動物の共通祖先では一酸化窒素を利用した幽門開口の制御システムが既に獲得されており、それは、内胚葉由来の神経様細胞によって制御されていた可能性が強く示唆されました。このことは、ヒトを含む脊椎動物においても、消化管制御に関わる内胚葉由来の神経が新たに発見される可能性や、幽門開口の制御システムが進化の過程でどのように神経堤細胞由来のシステムへと移行していったのかを議論する上で重要なヒントを与える成果です。

本研究の成果は、「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)」オンライン版にて、2019年3月4日(日本時間5日午前5時)以降に公開されます。

＊ 本研究は、武田科学振興財団が助成するライフサイエンス研究奨励(2015年度)、千里ライフサイエンス振興財団が助成する岸本基金(2015年度)、日本学術振興会が助成する科学研究費若手(B)(2016-2018年度)と特別研究員奨励費(2017-2019年度)によって実施されました。

## 研究の背景

ほぼすべての左右相称動物は、口から得た食物を消化管で消化して栄養分の吸収を行ったのち、不要分を肛門から排出します。この一連の流れを司る消化管は、文字通りの「管」ではあるものの、単純な管では口から入った食物が素通りして肛門まで達してしまいます。そのため、その流れをせき止め、消化吸収効率をあげるための門が存在しています。食道と胃、胃と腸の間にはそれぞれ噴門、幽門があり、腸からの排出は肛門によりコントロールされています。例えば、胃の中に新たに食物が入った時点では幽門は閉じていますが、十分に食物が消化されると開口し、胃内容物を腸へと流します。我々ヒトを含む脊椎動物では、このような消化管の運動は、外胚葉性の神経堤細胞が消化管表面へと移動し、腸管神経ネットワークを築くことで制御されています。しかし、神経堤細胞は脊椎動物以外ではその存在が認められていないため、現存の腸管制御の仕組みが動物進化の過程でどのように獲得され、多様化したのかは不明でした。

そこで本研究グループは、この不明な点を明らかにするために、ヒトと同じ後口動物に属しながら、神経堤細胞を持たない棘皮動物であるウニの幼生を用いて、消化管制御の仕組み、それも特に幽門の開閉機構に着目して研究を実施しました。ウニ幼生はほとんど透明であるため、消化管が体の外からでも容易に観察でき、その形成過程や機能を探る上でとても優れたモデル生物です。これまで、ウニやヒトデの幼生においても幽門付近に神経マーカであるタンパク質SynaptotagminB (SynB)を発現している細胞の存在は報告されていましたが、その由来や機能に関してはいっさい解析されていませんでした。観察によれば、胃に入った食物が腸まで簡単に素通りすることはないため、胃腸間の食物輸送は幽門の開閉によって制御を受けていることが想定されました。また、神経堤細胞がないにもかかわらず、消化管に神経様細胞が見られることから、ウニ幼生の幽門開閉制御機構の解明が、動物界における消化管制御機構の獲得と進化を論じる上で重要なターゲットになりうると判断しました。

## 研究内容と成果

まず、本研究グループは、幽門付近に存在する神経様細胞の位置と数を、幽門括約筋に発現するタンパク質、トロポニンと同時に染色することで正確に記載しました(図1)。特に、胃側に存在する神経様細胞が軸索のような構造を幽門括約筋に伸ばしている様子を明らかにしました。また、本研究ではウニの神経マーカとして報告されている3つの遺伝子(*zfhx1*, *delta*, *soxC*)についても発現を確認しました。さらに、この神経様細胞がどの胚葉から分化しているかを明らかにするために、細胞系譜追跡の実験を行いました。その結果、内中胚葉由来であることがまず明らかとなり、その後、中胚葉由来である可能性を実験的に否定することで、内胚葉由来の神経様細胞であることを結論づけました。

次に、ヒトやマウスで幽門開口に必要な神経伝達物質である一酸化窒素に着目しました。まず、一酸化窒素発生剤である S-nitroso-N-acetyl-D,L-penicillamine (SNAP)で幼生を処理すると、平常時に閉じている幽門がほぼ100%開くことが明らかになりました。これは、ウニ幼生でも一酸化窒素が幽門開口を誘導していることを示しています。そして実際に、ヒトやマウスの幽門開口を制御する神経に発現している神経型一酸化窒素合成酵素(nNOS)が、ウニ幼生の幽門神経様細胞に発現していることが確認されました。

最後に、その nNOS 機能を翻訳阻害により失わせると、胃の内容物が腸に移行しにくくなることが明らかになりました。その結果、エサを与えていない幼生と同程度の成長段階で発生が停止してしまうことがわかりました。nNOS 阻害幼生では、おそらく栄養吸収が十分に行われていないものと考えられ、この症状は nNOS ノックアウトマウスや、ヒト

の一酸化窒素合成酵素の不全で見られる肥厚性幽門狭窄症と類似の症状でした。

以上の結果から、神経堤細胞を持たないウニ幼生では、内胚葉由来の神経様細胞がnNOSを発現し、そこから生じる一酸化窒素により、幽門の開口を制御していることが強く示唆されました。これにより、後口動物内の脊椎動物（脊索動物）と棘皮動物の共通祖先では、一酸化窒素を幽門の開口に利用していたことが推測されました。また、その制御に利用する神経（様）細胞は、もともと内胚葉由来であり、脊椎動物が進化する過程で神経堤細胞にその役割が移行したことが示唆されました。

#### 今後の展開

本研究では、後口動物内の無脊椎動物で一酸化窒素を用いて幽門開口を制御している内胚葉由来の神経様細胞の存在を明らかにしました。しかし、脊椎動物では一酸化窒素を用いる神経細胞は、外胚葉性の神経堤細胞由来とされているため、ウニで見られた内胚葉由来のシステムが脊椎動物で完全に失われたのか、痕跡的に残っているのかを確認する必要があります。また、他の無脊椎動物についても消化管制御に寄与する神経系の詳細な細胞系譜追跡実験や機能解析をすることで、幽門開口のシステムが進化過程のどのタイミングでどのように獲得され、その後多様化していったのかをより正確に議論できるようになると考えられます。

#### 用語解説

注1) 一酸化窒素(NO)

多くの動物種において、平滑筋の制御に機能している。合成酵素は、その発現場所と機能に応じて、神経型、内皮型、誘導型に分類される。

注2) 内胚葉

多細胞生物の体の中で主に消化管を形成する胚葉。

注3) 神経堤細胞

外胚葉において神経外胚葉と表皮の境界領域から生じる遊走性の細胞で、将来末梢神経や内臓神経、色素細胞等に分化する。



参考図

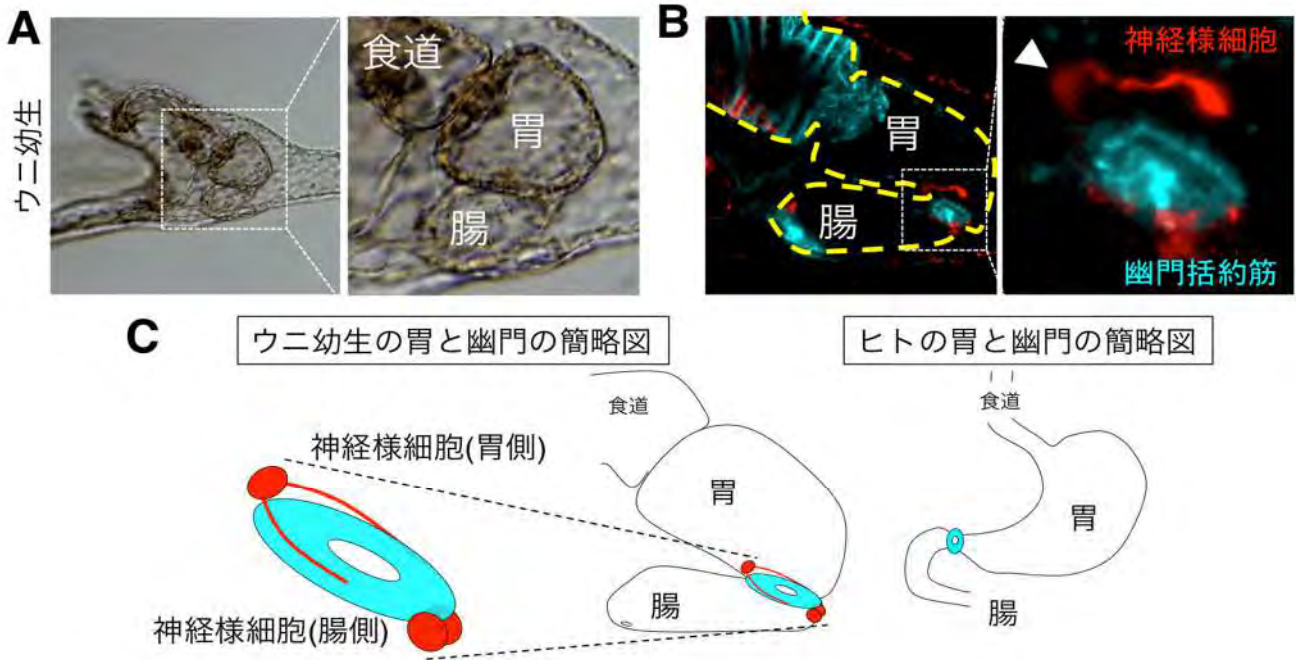


図1：ウニ幼生の幽門には神経様細胞が存在する。(A)ウニ幼生を左側から見た図。消化管が、食道・胃・腸の3区画に分かれている。(B)ウニ幼生の消化管付近の筋肉（水色）と神経（様）細胞（赤）。拡大図で幽門括約筋の胃側（矢尻）と腸側に神経様細胞が存在する。(C)ウニ幼生とヒトの消化管の簡略図。幽門括約筋を水色で強調してある。赤；神経様細胞

14日目 バフンウニ幼生



図2：一酸化窒素は幽門開口をコントロールしている。(A)正常なウニ幼生は消化管にエサである珪藻を大量に取り込み（白矢尻）、消化・栄養吸収をして14日目には後期6腕幼生になる。(B)神経型一酸化窒素合成酵素の機能を阻害された幼生では、胃まではエサが入るが（黒矢尻）幽門開口がスムーズにいかないため、多くを取り込むことができない。そのため、消化や栄養吸収に不具合を生じ、エサを一切与えていない幼生と同程度にしか成長できない。

### 掲載論文

【題名】 Evolution of nitric oxide regulation of gut function

(一酸化窒素による腸管制御の進化)

【著者名】 Junko Yaguchi and Shunsuke Yaguchi

【掲載誌】 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)

(米国科学アカデミー紀要)

DOI: 10.1073/pnas.1816973116

### 問合わせ先

谷口 俊介(やぐち しゅんすけ)

筑波大学 生命環境系 下田臨海実験センター 准教授

〒415-0025 静岡県下田市五丁目10-1

## 海洋の熱波による生物多様性の損失

### 研究成果のポイント

1. 国際共同研究により複数の熱波の影響を同一手法で評価し、その影響を定量化しました。
2. 熱波はサンゴや海草、海藻などの海洋生物に負の影響をもたらし、社会経済や政策決定にも影響を及ぼすことを示しました。
3. 太平洋、大西洋、インド洋は特に熱波に脆弱であることが明らかになりました。
4. 気候変動が深刻化とともに熱波の頻発が予測され、海洋生物への影響は生態系を変化させ、生態系サービスにも影響を及ぼすと予測されます。

国立大学法人筑波大学 下田臨海実験センター ベンジャミン ハーベイ助教は、7カ国 19 組織が参加する国際共同研究により、海洋における熱波が海の生態系に甚大な影響を及ぼすことを明らかにしました。気候変動がそのまま進行し続けると、海洋生態系の激変が生じ、生態系サービスの低下が生じることが予想されます。

熱波は極端な高温状態が生じる現象で、陸上だけでなく海洋においてもしばしばみられます。近年、海洋の熱波の頻度は上昇し続けており、1987～2016年の期間は1925～1954年の期間と比較して、熱波の期間が54%増加したとされています。その一方で、熱波が海洋生態系の及ぼす影響は未だに明らかになっていません。

研究グループは、幅広い海洋環境で調査を行うため、多数の研究組織からなるチームで統一した手法を用いて海洋の熱波の影響を評価しました。その結果、様々な海洋生物・生態系に対して熱波が負の影響をもたらす、生態系の重要種であるサンゴや海草、海藻に対しても大きな影響があることを見出しました。また、海域ごとの比較においては、太平洋、大西洋、インド洋の生態系がより海洋の熱波に対して脆弱であることが明らかとなりました。これは、この海域に多様な生物種が生息していること、水温による分布制限を受ける種が卓越していること、人間活動の影響が強いことなどに起因します。熱波の規模は様々ですが、その影響は多様な生物種に対して概ね、負の影響をもたらします。

近年、海洋の生態系は過剰な漁業活動や海洋酸性化、プラスチック汚染といった様々な問題に直面しています。それらと比較しても、熱波の影響は短期間で顕在化するとともに、生物の生息場の消失や種の絶滅、漁業の減退、食物網の変化など、極めて大きな変化をもたらします。さらに、人為起源のCO<sub>2</sub>に起因する気候変動はこれからの数十年で、熱波の強化および頻発化に寄与すると考えられています。すなわち、熱波によって海洋生態系の崩壊が生じるかもしれません。それらは、生態系サービスといった我々人類へ生態系から提供される利益を低下させることにもつながりかねません。

本研究は、電子ジャーナル「Nature Climate Change」に、2019年3月5日付けで先行公開されました。

### 研究の背景

熱波とは極端な高温状態が生じた環境を意味し、陸上だけでなく海洋においてもしばしば発生します。過去30年(1987～2016)における熱波の頻度は1925～1954年の期間よりも54%も増加したとされており、気候変動の影響が懸念されています。熱波は様々な生物種やそれらが作り出す生態系に劇的な変化をもたらすとされていますが、その影響に対する知見は多くありません。

## 研究内容と成果

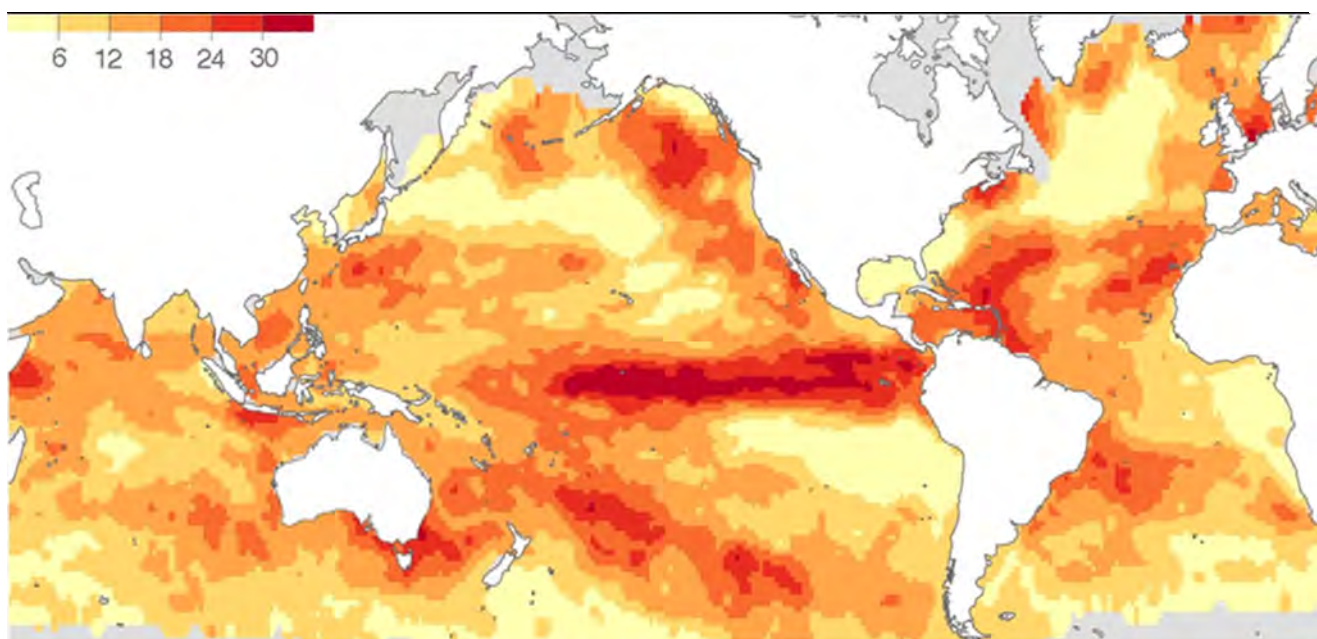
筑波大学下田臨海実験センターを含む 7 カ国 19 組織からなる国際研究グループは、世界各地の熱波の規模や影響について、主に既存の学術報告を基に、合同で同一の手法を用いて定量的な調査検討を行いました。その結果、生物や生態系の変化だけでなく、社会経済や政策決定にまで熱波が大きな影響を及ぼす可能性があることを示しました。また、その影響を地域的に解析したところ、太平洋、大西洋、インド洋の生態系が、熱波に対してより脆弱であることも明らかとなりました。これは、種の多様性や、生息可能水温の限界点、その他の人間活動などの影響を受けた結果と考えられています。さらに、様々な生物の生息する異なる生態系で解析を行った際にも、熱波の影響は同様に負の影響をもたらすことが明らかとなりました。

近年の人間活動の活発化は、熱波の強化と頻発化を招くと考えられています。それによって、生物の大量斃死や種構成の入れ替わり、生態系全体の変化などが懸念されます。この影響は短期間で起こり、かつ生態系を劇的に変化させるものです。海洋生態系は近年、過剰な漁業や海洋酸性化、プラスチック汚染といった様々な問題に直面していますが、熱波の影響の即時性と影響の大きさを考慮すると、大きな懸念事項になるといえるでしょう。陸上の熱波ではすでに、作物や森林、動物群集が根底から覆るほどの変化を見せると予測されていますが、海洋の熱波に関しても、海洋生態系の崩壊を引き起こす可能性があると言えます。

## 今後の展開

筑波大学下田臨海実験センターの研究グループは、今後とも、国際的な共同研究を通して、生態系の変化が引き起こされるメカニズムの解析や、熱波が人間社会に及ぼす影響の評価を明らかにする予定です。

## 参考図



図：1925～1954 年と比較した際の 1987～2016 年における年間の熱波の発生日数の増加

図は 1°四方ごとのデータを示す。(本研究論文の図を改変)。カラーバーは 1987-2016 年における熱波発生の増加日数を示し、濃い赤色ほど増加日数が多いことを示す。

## 参考文献

Hobday, A.J. et al., A hierarchical approach to defining marine heatwaves. *Prog. Oceanogr.*, 141, 227-238 (2016).

Oliver, E.C.J. et al., Longer and more frequent marine heatwaves over the past century. *Nature Communications*, 9, 1324 (2018).

## 掲載論文

【題名】 Marine heatwaves threaten global biodiversity and the provision of ecosystem services  
(海洋の熱波は世界の生物多様性と生態系サービスの提供の低下を引き起こす)

【著者名】 Dan A. Smale<sup>1,2\*</sup>, Thomas Wernberg<sup>2\*</sup>, Eric C. J. Oliver<sup>3,4,5</sup>, Mads Thomsen<sup>6</sup>, Ben P. Harvey<sup>7,8</sup>, Sandra C. Straub<sup>2</sup>, Michael T. Burrows<sup>9</sup>, Lisa V. Alexander<sup>10,11,12</sup>, Jessica A. Benthuyesen<sup>13</sup>, Markus G. Donat<sup>10,11,14</sup>, Ming Feng<sup>15</sup>, Alistair J. Hobday<sup>16</sup>, Neil J. Holbrook<sup>4,17</sup>, Sarah E. Perkins-Kirkpatrick<sup>10,11</sup>, Hillary A. Scannell<sup>18</sup>, Alex Sen Gupta<sup>10,11</sup>, Ben Payne<sup>9</sup>, Pippa J. Moore<sup>7,19</sup>

1. Marine Biological Association of the United Kingdom, The Laboratory, Citadel Hill, Plymouth PL1 2PB, UK
2. UWA Oceans Institute and School of Biological Sciences, The University of Western Australia, Crawley 6009 Western Australia, Australia
3. Department of Oceanography, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, B3H 4R2, Canada
4. Institute for Marine and Antarctic Studies, University of Tasmania, Hobart, Australia
5. Australian Research Council Centre of Excellence for Climate System Science, University of Tasmania, Hobart, Tasmania, Australia
6. School of Biological Sciences, University of Canterbury, Private Bag 4800, Christchurch, New Zealand
7. Institute of Biological, Environmental and Rural Sciences, Aberystwyth University, Aberystwyth SY23 3DA, UK
8. Shimoda Marine Research Center, University of Tsukuba, 5-10-1 Shimoda, Shizuoka, 415-0025, Japan
9. Department of Ecology, Scottish Association for Marine Science, Scottish Marine Institute, Oban, Argyll, PA37 1QA, Scotland, UK.
10. Climate Change Research Centre, The University of New South Wales, Sydney, New South Wales, Australia
11. Australian Research Council Centre of Excellence for Climate Extremes, The University of New South Wales, Sydney, New South Wales, Australia
12. Australian Research Council Centre of Excellence for Climate System Science, The University of New South Wales, Sydney, New South Wales, Australia
13. Australian Institute of Marine Science, Townsville, Queensland, Australia
14. Barcelona Supercomputing Center, Barcelona, Spain
15. CSIRO Oceans and Atmosphere, Perth, Western Australia, Australia
16. CSIRO Oceans and Atmosphere, Hobart, Tasmania, 7000, Australia
17. Australian Research Council Centre of Excellence for Climate Extremes, University of Tasmania, Hobart, Tasmania, Australia
18. School of Oceanography, University of Washington, Seattle, WA, USA
19. Centre for Marine Ecosystems Research, School of Natural Sciences, Edith Cowan University, Joondalup 6027 Western Australia, Australia

【掲載誌】 Nature Climate Change

DOI:10.1038/s41558-019-0412-1

## 問い合わせ先

ハーベイ ベンジャミン

筑波大学 生命環境系 下田臨海実験センター 助教

〒415-0025 静岡県下田市5-10-1

発行

筑波大学下田臨海実験センター

〒415-0025 静岡県下田市5丁目 10-1

TEL : 0558-22-1317

FAX : 0558-22-0346

URL: [http:// www.shimoda.tsukuba.ac.jp/](http://www.shimoda.tsukuba.ac.jp/)

E-mail: [jim@kurofune.shimoda.tsukuba.ac.jp](mailto:jim@kurofune.shimoda.tsukuba.ac.jp) (事務室)