

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：13601
研究種目：挑戦的研究(萌芽)
研究期間：2018～2020
課題番号：18K19361
研究課題名(和文)新規「胎生システム」を獲得した可能性が高い昆虫の極めて特殊な発生に関する研究
研究課題名(英文)Embryology and unique reproductive strategy on a worldwide distributed mayfly, Cloeon dipterum: Proposal for a new type of insect viviparity
研究代表者
東城 幸治 (Tojo, Koji)
信州大学・学術研究院理学系・教授
研究者番号：30377618
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：フタバカゲロウは汎世界的に生息するカゲロウ類である。広域分布を遂げた背景には、人工的な水たまりも含めた幅広い水環境への適応と、単為生殖能力や卵胎生の獲得などが考えられてきた。

本研究では、まず本種の系統進化的解析を実施し、日本列島や朝鮮半島の系統が派生的で、特異な種内系統であることを明らかにした。加えて、日本列島の系統には単為生殖能力がなく、発生様式も極めて特異であることを明らかにした。卵胎生ではなく、母体から栄養供給を受ける胎生である可能性を示唆した。また、従来知られているような昆虫類の胎生のどのタイプとも異なる、新規の胎生である可能性を示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

地球上で最も種多様性が高い昆虫類には、多様な形態や生態がよく知られている。しかしながら、系統の存続に強く影響する繁殖システムについては保存性が高く、一部の特殊な昆虫類に、卵胎生や胎生が知られる程度で、基本的には卵生が大多数を占めている。

この研究で注目したフタバカゲロウは最も身近な昆虫の一種で、学校の水泳プールなどにも生息し、北半球を中心に汎世界的に分布する普通種であるが、少なくとも本種の日本列島系統では、新規「胎生」という、特殊な発生様式をもつことが明らかとなった。これは、昆虫における多様性の理解や進化における神秘性に一石を投じる

研究成果の概要(英文)：Cloeon dipterum is a globally distributed mayfly species. The reasons for achieving such widespread distribution have been considered to be adaptation to various aquatic environments including artificial pools, and also acquisition parthenogenetic ability and ovoviviparity.

In this study, we conducted phylogeographic analyses of this mayfly, and clarified that the populations of the Japanese Archipelago and the Korean Peninsula are derivative and peculiar intra-specific lineage. In addition, it was revealed that the lineage of the Japanese archipelago does not have parthenogenetic ability and their developmental patterns are extremely peculiar. It was suggested that the embryogenesis of this mayfly may not be an ovoviviparous type, but an viviparous type that receives nutrition from the mother. Furthermore, it was suggested that C. dipterum may be a novel viviparous type that is different from any type of insect viviparity such as previously known.

研究分野：進化生態学

キーワード：昆虫 胚発生 胎生 カゲロウ 適応放散 卵黄タンパク質 栄養供給 栄養の再吸収

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

昆虫類は、今日の地球上の全記載生物種の約半数を占める最大の生物グループである。このような種多様性により、実に多様な形態や生態が知られ、多くの研究対象とされてきた。しかしながら、世代の継続や種族の維持にとって重要である繁殖形質に関しては、比較的保存性が高く維持されている。一部の昆虫類には、卵胎生や胎生などの特殊な発生システムが進化してきたものの、多くは卵を産む「卵生」種である。産卵せずに母体内で胚発生が進行する「卵胎生」は、卵生の特殊型と捉えられる。一方、母体から胚へ直接的に栄養が供給される「胎生」については、卵生や卵胎生とは全く異なる発生システムであり、ごく一部の特殊化した昆虫類において報告されている程度である。

このような背景下、本研究では原始的昆虫類であるカゲロウ目昆虫（有翅昆虫類における最原始系統）のフタバカゲロウ *Cloeon dipterum* の発生様式に注目した。リンネが記載した本種は、古くから欧州を中心によく知られた身近な昆虫種である。汎世界的な広域分布種であり、欧州から東アジア地域までのユーラシア大陸広域に分布するほか、北米大陸やアフリカ大陸にも生息している。最近では、南米大陸からは記録されている。飛翔能力をもつ成虫の寿命が極端に短いカゲロウ類において、汎世界的な分布は本種だけがもつ特徴である。このような特異的な広域分布の背景には、「卵胎生」種であること、この形質と関係してメス成虫の寿命がカゲロウ類の中では長いこと（約2-3週間）などが考えられてきた。加えて、単為生殖能力をもつことも重要であり、成虫寿命が長いメスが1個体だけで移動・分散した場合にも、新たな分散先に集団を形成することが可能となるからである。

このフタバカゲロウは日本列島にも広域的に分布する（北海道・本州・四国・九州と周辺離島）。しかしながら、本種・日本列島集団の繁殖生態を観察している限り、欧州を中心に観察・研究されてきた知見とは必ずしも合致しない傾向が散見された。

2. 研究の目的

上記のような背景から、(1) 日本列島に生息し、従来、フタバカゲロウとして扱われてきた種は、分類学的にも問題なくフタバカゲロウでよいのか？ さらに、(2) 日本列島のフタバカゲロウにも単為生殖能力があるのか？ (3) 日本列島のフタバカゲロウも卵胎生により世代を繋いでいるのか？ について究明することを目的に、日本列島を中心とするフタバカゲロウにおける系統進化・系統分類、進化生態、進化発生学的研究を実施することとした。

3. 研究の方法

(1) 系統進化・系統分類学的研究

ちょうどタイミングよく、欧州の研究グループもフタバカゲロウの全世界的な種内系統関係に注目した分子系統解析を実施していたこともあり、このグループとも連携しながら、日本列島を中心とする東アジア地域のフタバカゲロウを可能な限り広域から採取し、遺伝子解析を実施した。主に、昆虫類の種識別(DNA バーコーディング)に利用されてきたミトコンドリアDNA(mtDNA) COI領域(658-bp)の解析を中心に、他のmtDNAの領域や核DNAの領域なども含めた分子系統解析を実施した。

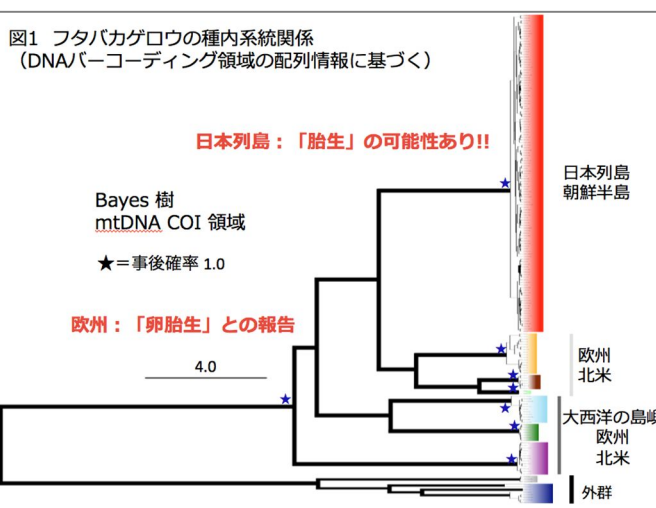
(2) 単為生殖能力の精査

欧州で実施されたフタバカゲロウの研究によると、本種は単為生殖能力を有するとされている。そこで、フタバカゲロウの末後尾メスでの胚発生の有無、人為交配させたメスにおける胚発生の有無を比較検討することとした。カゲロウ類における人為交配(ハンドペアリング)実験は、世界的にも前例のないものであったが、本研究の過程で、技術を確認させることができた(Takenaka et al., 2019)

(3) 発生様式の観察：卵胎生か？

ハンドペアリングにより得た受精卵をもつメスを対象に、産卵の有無や胚発生過程の観察を実施した。この他、組織化学的手法を用いることで、胚発生がどのように進行するのか？ 母体から胚への栄養供給があるのか？ について詳細に観察した。必要に応じ、透過型電子顕微鏡による胚や卵、卵巣の微細構造観察を実施した。

4. 研究成果



(1) 系統進化・系統分類学的研究

日本列島や朝鮮半島の広域で採取したフタバカゲロウの遺伝子解析を実施し、欧州の研究者らのデータセットに併合して系統解析した(図1)。東アジア(日本列島・朝鮮半島)集団は、他の地域系統からは遺伝的に大きく分化した系統であることが明らかとなった(Yano et al., 2019)。

(2) 単為生殖能力の精査

未後尾メスと人為交配メス、野外で採取した既交尾(と考えられる)メス間での比較を実施した結果、少なくとも日本列島の集団においては、単為生殖能力を全く有さないことが明らかとなった(Yano et al., 2021)。

(3) 発生様式の観察：卵胎生か？

日本列島集団を対象とした発生様式の観察からは、受精卵の胚発生は母体内で進行し、孵化も母体内で生じることが明らかとなった(図2)。加えて、胚発生中の卵の組織切片観察においては、卵内に(胚発生には不可欠であるはずの)卵黄タンパクが観察されないことが明らかとなった(図3)。初期発生では脂質の利用も確認されたものの、タンパク質性の栄養物質は母体から胚へと直接的に供給されている可能性が高まった。また、透過型電子顕微鏡による観察から、卵巣から卵膜を介して胚へと、電子密度の高い何らかの物質が供給されている様子も観察された。おそらく、タンパク質性の物質の供給であると考えられるが、この点については、今後、卵黄タンパクの前駆物質であるピテロジェニンの発現解析などを併用しながら検証していく予定である。

(4) 新規・胎生型の可能性

これまで、昆虫類における胎生様式には、図4に示すような3つのタイプが知られてきた。いずれも特殊な生態をもつ昆虫類において確認されてきた、ごくわずかな事例が知られている程度であるが、今回観察されたフタバカゲロウにおける胎生は、これらのいずれにも該当しない。すなわち、昆虫類の胎生に、新たなタイプが追加できたと考えている。

<引用文献>

Hagan (1951) Embryology of the Viviparous Insects. Ronald Press, Co. New York.
 Rethakaran and Percy (1985) Fertilization and special modes of reproduction. In Kerkut and Gilbert (eds.) Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. Pergamon Press, Oxford.
 Yano, Takenaka and Tojo (2019) Genealogical position of Japanese populations of the globally distributed mayfly *Cloeon dipterum* and related species (Ephemeroptera, Baetidae): A molecular phylogeographic analysis. Zool Sci 36: 479-489.
 Yano and Tojo (2020) Possibility of undeveloped egg absorption during embryogenesis: A unique phenomenon observed in the ovoviviparous mayfly *Cloeon dipterum*. Zool Sci 38: 20-25.

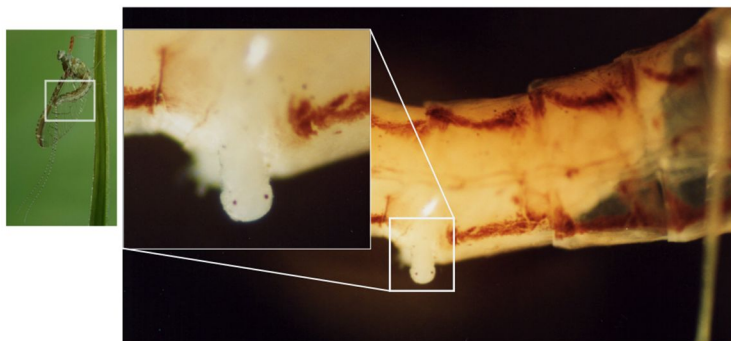


図2 日本列島のフタバカゲロウは母体内で孵化した幼虫を産む

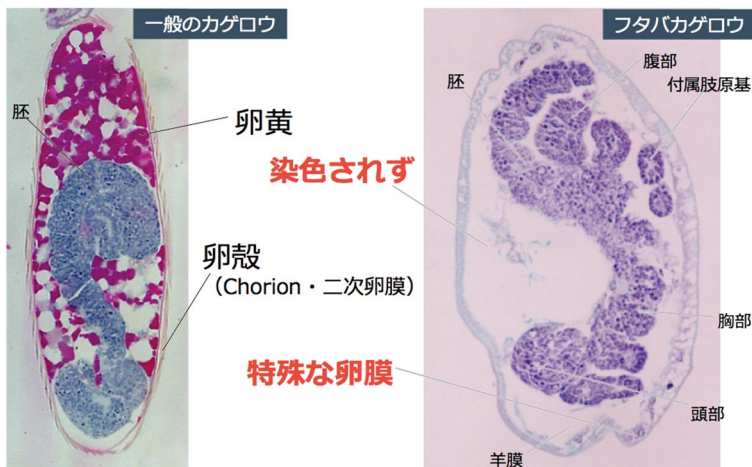
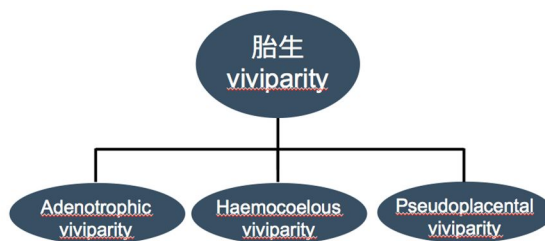


図3 日本列島のフタバカゲロウ(右)は一般的なカゲロウ類の胚発生(左)とは大きく異なり、卵内に卵黄顆粒が確認されない(胚の組織切片像：ヘマトキシリン-エオジン-ファストグリーン三重染色)



フタバカゲロウ
 (日本列島+朝鮮半島の系統)
 昆虫で知見のない
 新規「胎生」昆虫なのでは？

図4 胎生昆虫の既知の3型 (Hagan, 1951; Retnakaran and Percy, 1985) . これらの範疇には含まれないフタバカゲロウの胎生は、「新規・胎生」である可能性が高い

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yano K and Tojo K	4. 巻 38
2. 論文標題 Possibility of undeveloped egg absorption during embryogenesis: A unique phenomenon observed in the ovoviviparous mayfly Cloeon dipterum	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 20-25
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2108/zs200098	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takenaka M, Sekine K, Yano K and Tojo K	4. 巻 16
2. 論文標題 Evaluation of the effectiveness of a “hand-pairing” cross-breeding experiment in Ephemeroptera	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Zoosymposia	6. 最初と最後の頁 210-217
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11646/zoosymposia.16.1.16	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yano K, Takenaka M and Tojo K	4. 巻 36
2. 論文標題 Genealogical position of Japanese populations of the globally distributed mayfly Cloeon dipterum and related species (Ephemeroptera, Baetidae): A molecular phylogeographic analysis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 479-489
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2108/zs190049	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takenaka M, Sekine K and Tojo K	4. 巻 36
2. 論文標題 The first establishment of “hand-pairing” cross-breeding method for the most ancestral wing acquired insect group	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 136-140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2108/zs180169	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Koji Tojo
2. 発表標題 Molecular phylogeography of insects in the East Asian region: The deep phylogenetic relationship between the Korean Peninsula and the Japanese Islands
3. 学会等名 Korean Entomological Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷野宏樹・東城幸治
2. 発表標題 昆虫の発生システムにおける多様性: フタバカゲロウの特殊な発生システム
3. 学会等名 日本昆虫学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takenaka M and Tojo K
2. 発表標題 The reproductive experiment of the Japanese endemic mayfly family Dipteromimidae showing large genetic differentiation: Elucidation of their speciation mechanisms
3. 学会等名 International Joint Meeting 2018 of 15th International Conference on Ephemeroptera and 19th International Symposium on Plecoptera, Brazil (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yano K and Tojo K
2. 発表標題 Unique reproductive strategy on a worldwide distribution mayfly, Cloeon dipterum (Ephemeroptera: Baetidae): Proposal for a new type of insect viviparity
3. 学会等名 International Joint Meeting 2018 of 15th International Conference on Ephemeroptera and 19th International Symposium on Plecoptera, Brazil (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takenaka M and Tojo K
2. 発表標題 Extremely large genetic differentiation in the mayfly <i>Dipteromimus tipuliformis</i> : An ideal case in elucidation of the mechanisms of speciation (Ephemeroptera; Dipteromimidae)
3. 学会等名 4th International Symposium of the Benthological Society of Asia, Nanjin, China (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yano K and Tojo K
2. 発表標題 Genetic diversity of <i>Cloeon</i> species in East Asia: With special reference to the specific of <i>Cloeon</i> dipterum.
3. 学会等名 4th International Symposium of the Benthological Society of Asia, Nanjin, China (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 5章 生き物の内部情報から全体を見渡 (pp.293-327)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 講談社	5. 総ページ数 438
3. 書名 河川生態系の調査・分析方法	

1. 著者名 東城幸治・関根一希	4. 発行年 2018年
2. 出版社 一色出版	5. 総ページ数 304
3. 書名 第4章 交わりの義：交配相手をめぐる熾烈な争い (大場裕一編 「昆虫たちの不思議な性の世界 -進化するムシたちのラブストーリー」)	

1. 著者名 東城幸治	4. 発行年 2018年
2. 出版社 一色出版	5. 総ページ数 304
3. 書名 第6章 男の仕事・女の仕事：多様な繁殖様式と子育て、そして社会性の進化（大場裕一編 「昆虫たちの不思議な性の世界 -進化するムシたちのラブストーリー-」）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

学術オンラインシステム SOAR 東城幸治 http://soar-rd.shinshu-u.ac.jp/profile/ja.0CcebLh.html
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	竹中 將起 (Takenaka Masaki) (00854465)	筑波大学・生命環境系・特任助教 (12102)	
研究協力者	谷野 宏樹 (Yano Koki) (10915242)	基礎生物学研究所・進化発生研究部門・特別研究員	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------