

化学合成共生システムの大深度への適応

藤 原 義 弘*

Symbiotic Adaptation for Deeper Habitats in Chemosynthetic Environments

Yoshihiro FUJIWARA *

Abstract

The bacterial endosymbionts of the solemyid clam *Acharax johnsoni* and the thyasirid clam *Parathyasira kaireiae*, collected from the Japan Trench, were characterized. Transmission electron microscopic observations showed numerous bacteria in the epithelial cells of the gill tissues of *A. johnsoni*. Numerous bacteria were also visible in the gill tissues of *P. kaireiae*, but were not located within the epithelial cells. Phylogenetic analysis based on the 16S ribosomal RNA gene sequences from the gill tissues of both clams indicated that the bacteria were related to sulfur-oxidizing endosymbionts from deep-sea chemosynthetic environments. The symbiont of *A. johnsoni* formed a monophyletic group with the thioautotrophic symbiont of *Solemya reidi*, which lives relatively deeper than other solemyid clams. The symbiont of *P. kaireiae* formed a monophyletic group with symbiont II in *Maorithyas hadalis*, which lives in the hadal zone of the Japan Trench. In addition, four vesicomyid species living relatively deeper than other vesicomyid clams also have a specific clade of thioautotrophic symbionts. Bacterial chemotrophic endosymbionts as well as the mode of symbiosis might influence host distributions in deep-sea chemosynthetic ecosystems.

Key words : chemosynthetic symbiosis , solemyid clam , thyasirid clam , Japan Trench , host distribution

キーワード : 化学合成共生システム , キヌタレガイ類 , ハナシガイ類 , 日本海溝 , 宿主分布

I. はじめに

世界各地のプレート拡大域、沈み込み域には「化学合成生物群集」と呼ばれる独特の生物群集が出現する (Van Dover, 2000)。化学合成生物群集の最大の特徴は、その一次生産エネルギー源にある。陸域から海洋に至るまで、我々が目にする一般的な生物群集は一次生産エネルギーとして太陽光を利用している。緑色植物を中心とした光合成

生物は、光エネルギーを利用して二酸化炭素を同化し有機物を生産する。一方、化学合成生物群集では、化学合成細菌が海底下から湧き出す熱水 / 冷水中に含まれる硫化水素やメタンといった還元的な化学物質を酸化して一次生産エネルギーを得る (Fisher, 1990; Nelson and Fisher, 1995)。

化学合成生物群集を構成する生物のうち特に興味深いのは、シロウリガイ類、ハオリムシ類、シンカイヒバリガイ類といった体内に化学合成細菌

* 海洋科学技術センター・海洋生態・環境研究部

* Marine Ecosystems Research Department, Japan Marine Science and Technology Center

を共生させる動物群（ここでは「化学合成共生系動物」と呼ぶ）である（Fisher, 1990）。これら動物は自ら餌をほとんど摂ることなく、栄養の大部分（もしくは全て）を共生細菌に依存している。最も顕著な例はハオリムシ類で、成体では口や消化器官系を持たず、そのため自ら摂食する能力を欠く。代表的な共生細菌は硫黄細菌やメタン酸化細菌であり、宿主動物の多くはこれら共生者に硫化水素やメタンを効率的に伝達するための特別な機構・機能を備えている。

日本海溝は東北日本弧の下に太平洋プレートが沈み込む海域であり、陸側斜面には海底下からの湧水に依存した化学合成生物群集が存在する（口絵1-図1（Fujikura *et al.*, 2002; Kojima, 2002））。この海域における化学合成生物群集の歴史は、1985年に行われた仏・潜水調査船「ノチール」による潜航調査により始まった。この調査によって、「ノチール」は日本海溝の三陸海底崖上部（水深5,650–6,000メートル）および第一鹿島海山（水深5,640–5,700メートル）からナギナタシロウリガイ *Calyptogena phaseoliformis* を中心とする化学合成生物群集（ここでは「ナギナタシロウリガイ群集」と呼ぶ。口絵1-図2a参照）を発見した（Cadet *et al.*, 1987; Juniper and Sibuet, 1987; Ohta and Laubier, 1987; Pautot *et al.*, 1987; Sibuet *et al.*, 1988）。ナギナタシロウリガイは他のシロウリガイ類と同様に鰓内に硫黄細菌を共生させており、ほとんど全ての栄養を共生細菌に依存していると推定されている（Le Pennec and Fiala-Médioni, 1988）。

1991年には三陸海底崖下部（水深6,180–6,366メートル）から、潜水調査船「しんかい6500」の潜航調査により、当時世界最深の記録となる化学合成生物群集が発見された（Fujioka and Murayama, 1992）。この生物群集もナギナタシロウリガイを優占種とするものであり、その後の調査によって、同様の群集が日本海溝から千島海溝にかけての水深5,131–6,437メートルに分布することが明らかになっている（Fujikura *et al.*, 2000）。

1998年には無人探査機「かいこう」（最大潜航

水深11,000メートル）が本格的科学調査に投入されるようになり、日本海溝の更に深部から情報が得られるようになった。1998年の潜航調査では、日本海溝陸側斜面の海溝底付近、水深7,326メートル地点からナラクハナシガイ *Maorithyas hadalis* を優占種とする新たな化学合成生物群集（ここでは「ナラクハナシガイ群集」と呼ぶ。口絵1-図2b参照）が発見された（Fujikura *et al.*, 1999; Okutani *et al.*, 1999）。その後の調査によって、ナラクハナシガイ群集は7,400メートルを超える水深まで分布することが明らかになっており、現在のところ、世界最深の化学合成生物群集として知られている。ナラクハナシガイもナギナタシロウリガイと同様に化学合成共生細菌を有する（Fujiwara *et al.*, 2001）。

ナギナタシロウリガイ群集とナラクハナシガイ群集の間の水深となる6,800メートル付近では、ナラクシロウリガイ *Calyptogena fossajaponica* を優占種とする生物群集が発見されている（Fujikura *et al.*, 2000; Okutani *et al.*, 2000）。ナラクシロウリガイはこれまでに報告された世界最深のシロウリガイ類であり、他のシロウリガイ類と同様に鰓上皮細胞内に硫黄細菌を有する（Fujiwara *et al.*, 2000a）。

上記の優占種に加え、スエヒロキヌタレガイ *Acharax johnsoni*（口絵1-図3a）、カイレイハナシガイ *Parathyasira kaireiae*（口絵1-図3b）といった比較的小型の二枚貝がナギナタシロウリガイやナラクシロウリガイと同所的に出現することが報告されている（Fujikura *et al.*, 2002; Okutani and Fujikura, 2002）。

日本海溝の化学合成生態系より報告された二枚貝のうち、ナラクシロウリガイ（オトヒメハマグリ科）、スエヒロキヌタレガイ（キヌタレガイ科）、ナラクハナシガイ（ハナシガイ科）はそれぞれの科の中でこれまで報告された最も深い水深に生息する。特にスエヒロキヌタレガイとナラクハナシガイは他の海域に生息する近縁種に比べて数千メートルも深い地点に分布する。このように日本海溝は、化学合成生物群集を構成する生物がいかにして大深度に適応したかを考える上で非常に重

要な海域である。

これまで化学合成共生系動物の大深度への適応機構は明らかにされていないが、シロウリガイ類の場合、大深度に分布する種の多くはある特定の系統群に属する共生細菌を有することが示されている (Fujiwara *et al.*, 2000a)。またシンカイヒバリガイ類では、共生細菌の種別が宿主の分布に大きな影響を与えることが示唆されている (Fujiwara *et al.*, 2000b)。

そこで本研究では、大深度への適応と共生現象との関わりを明らかにするために、日本海溝産二枚貝のうち共生現象が明らかにされていないスエヒロキヌタレガイとカイレイハナシガイについて、その共生様式を形態学的、分子生物学的に検討した。また、他の日本海溝産二枚貝の共生現象に関する知見を踏まえて、大深度適応に関する共生細菌の役割について考察した。

II. 日本海溝産二枚貝の共生様式

1) スエヒロキヌタレガイ *Acharax johnsoni*

スエヒロキヌタレガイ鰓上皮細胞の透過型電子顕微鏡像を図1に示す。キヌタレガイ類は消化管を欠き、栄養の全てを共生細菌に依存していると考えられている。これまで報告された他のキヌタレガイ類と同様に、スエヒロキヌタレガイの鰓上皮細胞内にも多数の細菌が分布していた (図1a)。この細菌はグラム陰性菌の特徴を示し、細菌内部には明瞭な構造を持たないものであった (図1b)。以上の特徴は既知のキヌタレガイ類共生細菌と共通である。

次に、スエヒロキヌタレガイ鰓内の細菌相を明らかにするために、細菌特異的な 16S リボソーム RNA 遺伝子配列解析を実施した (図2)。その結果、スエヒロキヌタレガイの共生細菌は同じキヌタレガイ科に属する *Solemya reidi* の共生細菌と単系統群を形成した。

2) カイレイハナシガイ *Parathyasira kaireiae*

カイレイハナシガイ鰓上皮細胞の透過型電子顕微鏡像を図3に示す。これまで報告されているハナシガイ類は日本海溝産のナラクハナシガイを除

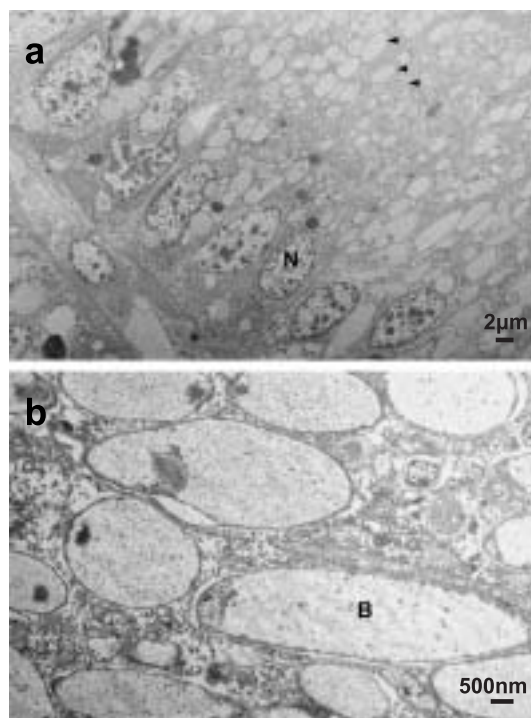


図 1 スエヒロキヌタレガイ鰓系横断面の透過型電子顕微鏡像。

- (a) 鰓上皮細胞内の共生グラム陰性菌 (矢じり). N: 核.
(b) 内膜構造を持たない細胞内共生グラム陰性菌. B: 細菌.

Fig. 1 Transmission electron micrographs of transverse sections of the gill filaments of *Acharax johnsoni*.

- (a) Intracellular gram-negative bacterial symbionts (arrowheads) contained within the host bacteriocytes. N: nucleus.
(b) Intracellular gram-negative bacterial symbionts without stacked internal membranes. B: bacterium.

き、いずれも共生細菌を鰓上皮細胞外に有することが知られている (Southward, 1986; Fujiwara *et al.*, 2001)。カイレイハナシガイ鰓の低倍観察像はシロウリガイ類やシンカイヒバリガイ類に見られる細胞内共生像に非常に類似した構造を示した (図3a)。しかし、鰓上皮細胞を高倍観察すると、その最表層には細胞膜とは異なる構造が存在した (図3b)。この構造は浅海産ハナシガイ類で「クチ

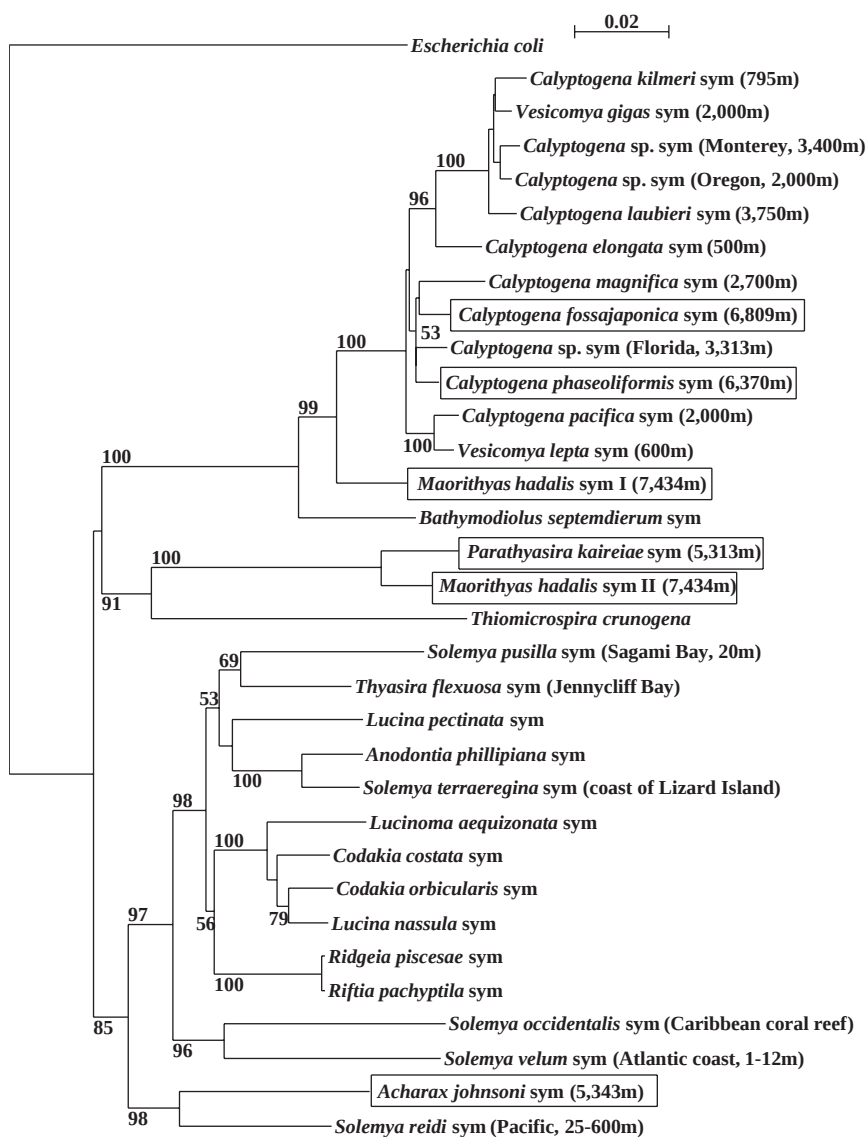


図 2 16S リボソーム RNA 遺伝子配列をもとにしたスエヒロキヌタレガイおよびカイレイハナシガイ共生細菌の系統学的位置。プロテオバクテリア γ 亜綱に属する細菌を用いて近隣結合法により作成した。1000 回試行により算出したブートストラップ値のうち、50%を超える値を各枝に記した。スケールバー：塩基置換率 0.02。日本海溝産二枚貝の共生細菌を四角で囲んだ。“sym” は共生細菌。

Fig. 2 Phylogenetic placement of bacterial symbionts from *Acharax johnsoni* and *Parathyasira kaireiae* based on 16S rRNA gene sequences.

Neighbor joining tree of members of the γ Proteobacteria is shown. Scale bar represents 0.02 nucleotide substitutions per sequence position. The percentage of 1000 bootstrap resamplings is indicated. Bootstrap values greater than 50% are shown. Symbionts of the bivalves collected from the Japan Trench are highlighted. sym : symbiont.

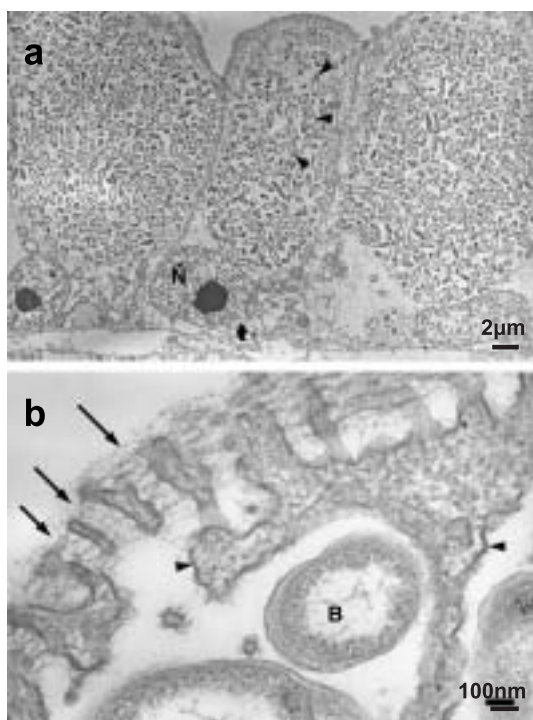


図 3 カイレイハナシガイ鰓糸横断面の透過型電子顕微鏡像。
(a) 鰓上皮細胞付近の共生グラム陰性菌 (矢じり)。N: 核。
(b) 内膜構造を持たない共生グラム陰性菌。矢印はクチクラ様構造、矢じりは細胞膜様構造を示す。B: 細菌。

Fig. 3 Transmission electron micrographs of a transverse section of the gill filaments of *Parathyasira kaireia*.

- (a) Gram-negative bacterial symbionts (arrowheads) adjacent to the host bacteriocytes. N: nucleus.
(b) Gram-negative bacterial symbionts without stacked internal membranes. Arrows and arrowheads indicate "cuticle-like" and "cell membrane" like structures, respectively. B: bacterium.

クラ層」として知られる構造 (Southward, 1986) に類似する。ただし、浅海産ハナシガイ類とは異なり、クチクラ様構造の内側には細胞膜に類する断片化した構造が存在した (図 3b)。細胞内共生では、細菌は細胞内の液胞に包まれる形で存在するが、カイレイハナシガイの場合、最表層のクチ

クラ様構造と細菌の間には明瞭な膜構造は存在しなかった。

次に、カイレイハナシガイ鰓内の細菌相を明らかにするため、鰓内より得た細菌特異的な 16S リボソーム RNA 遺伝子配列を用いた系統解析を実施した (図 2)。その結果、カイレイハナシガイの共生細菌はナラクハナシガイの共生細菌 II と単系統群を形成した。

III. 考 察

本研究によって、日本海溝深部より報告された全ての化合合成共生系二枚貝の共生様式を形態学的、分子生物学的に明らかにした。各分類群の共生様式の特徴と考察を以下に記す。

1) キヌタレガイ類

スエヒロキヌタレガイの共生細菌は *S. reidi* の共生細菌と近縁であった。これまでに共生細菌の分子系統学的解析が行われているのは *Solemya reidi* に加え、*S. occidentalis*, *S. velum*, *S. pusilla*, *S. terraeregina* であるが、この中で *S. reidi* 以外は全て浅海種である。スエヒロキヌタレガイと *S. reidi* のように、異なる属の宿主が近縁な共生細菌を有し、またそれら二枚貝が共に深海産であることを考慮すると、キヌタレガイ類が深海適応を果たすためには、ある特定の系統を示す細菌を共生者とする必要があるのかもしれない。

2) ハナシガイ類

ハナシガイ類は一般に共生細菌を細胞外に有する。一方、日本海溝の最深部近傍に分布するナラクハナシガイは細胞内に化学合成細菌を共生させている。一般に細胞外共生は細胞内共生よりも原始的な形質であると考えられており (Fisher, 1990)、カイレイハナシガイの共生様式はその中間的形質を示す。従って、ハナシガイ類の共生現象は浅海域において細胞外共生の形で始まり、カイレイハナシガイのような中間的形質を経由して、ナラクハナシガイのような細胞内共生様式を獲得したのではないだろうか。

また共生細菌の系統に目を向けると、浅海産で唯一、共生細菌の系統解析がなされている *Thyasira flexuosa* と 2 種類の日本海溝産ハナシ

ガイ類では共生細菌の系統が大きく異なる。また日本海溝産ハナシガイ類同士を比較すると、カイレイハナシガイの共生細菌とナラクハナシガイの共生細菌 II は非常に近縁であり、ナラクハナシガイの共生細菌 I は他のハナシガイ類共生細菌と全く異なる系統を示す。以上の結果から、ハナシガイ類が深海に適應するためには、まずカイレイハナシガイの共生細菌のような系統を示す共生者が必須であり、更に大深度に適應するためにはナラクハナシガイのように特別な共生システムを獲得する必要があったのかもしれない。

ナラクハナシガイは、化学合成共生系動物としては世界で最も深い、水深 7,400 メートルに生息する。物理化学平衡により、水深の増加に伴って炭酸塩の溶解圧が高まるため、ナラクハナシガイの貝殻は近縁種よりも高い炭酸塩溶解圧に暴露されている。実際、ナラクハナシガイの貝殻は著しく溶解されており、他の化学合成共生系動物よりも殻の維持に多くのエネルギーを必要とする可能性もある。従って、ナラクハナシガイがこのような過酷な条件に生息するためには、2 種類の共生細菌が鰓内部で住み分けを行うという特別な共生様式を発達させる必要があったのかもしれない。

3) シロウリガイ類

日本海溝深部に生息する 2 種類のシロウリガイ類、ナギナタシロウリガイとナラクシロウリガイは他のシロウリガイ類と同様に 1 種類の硫黄細菌を有する。これら 2 種の共生細菌はガラパゴスシロウリガイおよび未記載のフロリダ沖産シロウリガイ類の共生細菌と共に単系統群を形成しており、これら 4 種は他のシロウリガイ類よりも大深度に生息する傾向にあることが知られている (Fujiwara *et al.*, 2000a)。シロウリガイ類は種によって生息深度が異なることが報告されており (Olu *et al.*, 1996; Kojima and Ohta, 1997; Fujikura *et al.*, 2000), Olu *et al.* (1996) は圧力に対する生理耐性の違いが生息深度の違いを生むのではないかと推定している。これまでのところ、化学合成共生細菌の単離培養はなされていないため、シロウリガイ類の深度分布が宿主二枚貝の生理特性によるものなのか、共生細菌の生理特

性によるものなのかを区別することは困難である。しかし宿主のエネルギー獲得になくってはならない役割を担う共生細菌が宿主の分布を規定する可能性は十分にある。実際、化学合成生物群集の代表種の一つであるシンカイヒバリガイ類では、共生細菌のエネルギー要求の違いが宿主の分布を規定することが報告されている (Fujiwara *et al.*, 2000b)。

IV. ま と め

日本海溝深部に生息する二枚貝の共生様式を形態学的、分子生物学的手法を用いて検討した。その結果、キヌタレガイ類では深海種に特有の共生細菌群が存在することを明らかにした。一方、ハナシガイ類では、細胞外共生を営む浅海種と細胞内共生を営む超深海種との中間的形質を示す種が両種の間の水深に生息することを示した。また、キヌタレガイ類と同様にハナシガイ類にも深海種に特有の共生細菌群が存在することを明らかにした。既に報告されているナラクハナシガイの知見を考えあわせると、ハナシガイ類は細胞外共生を営む浅海種として生まれ、深海適応型の共生細菌を獲得したことで深海への進出を果たし、さらに細胞内 2 重共生系を手に入れたことで超深海へと分布を拡大したのではないだろうか。またシロウリガイ類においても、相対的に大深度に分布するグループに特有の共生細菌群が存在することから、深海化学合成生態系において、一次生産を担う共生細菌の種別や共生の様式は宿主の深度分布に大きく影響すると推定した。

今後は、未だ培養が困難な共生細菌の生理学的特性を明らかにするために、ゲノム解析を実施し、遺伝子レベルでの特性解明を試みる予定である。

謝 辞

生物試料の採集にあたり、ROV「かいこう」オペレーションチームの皆さま、調査船「かいいい」の船長および乗組員の皆さまには大変お世話になりました。また、海底地形図の作成については東京大学海洋研究所の佐々木智之氏に、電子顕微鏡試料の処理についてはマリンワークジャパンの植松勝之氏に、遺伝子解析については

河戸 勝氏に、英文校正については海洋科学技術センターの Dhugal J. Lindsay 博士にお手伝い頂きました。ここに記して感謝申し上げます。

文 献

- Cadet, J.P., Kobayashi, K., Lallemand, S., Jolivet, L., Aubouin, J., Boulegue, J., Dubois, J., Hotta, H., Ishii, T., Kinoshita, K., Niitsuma, N. and Shimamura, H. (1987) Deep scientific dives in the Japan and Kuril Trenches. *Earth Planet. Sci. Lett.*, **83**, 313–328.
- Fisher, C.R. (1990) Chemoautotrophic and methanotrophic symbioses in marine invertebrates. *Rev. Aquat. Sci.*, **2**, 399–436.
- Fujikura, K., Kojima, S., Tamaki, K., Maki, Y., Hunt, J. and Okutani, T. (1999) The deepest chemosynthesis-based community yet discovered from the hadal zone, 7326 m deep, in the Japan Trench. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **190**, 17–26.
- Fujikura, K., Kojima, S., Fujiwara, Y., Hashimoto, J. and Okutani, T. (2000) New distribution records of vesicomyid bivalves from deep-sea chemosynthesis-based communities in Japanese waters. *Venus*, **59**, 103–121.
- Fujikura, K., Fujiwara, Y., Kojima, S. and Okutani, T. (2002) Micro-scale distribution of mollusks occurring in deep-sea chemosynthesis-based communities in the Japan Trench. *Venus*, **60**, 225–236.
- Fujioka, K. and Murayama, M. (1992) *Calyptogena* community from landward slope of the Japan Trench and Mega shear. *JAMSTEC J. Deep Sea Res.*, **8**, 17–27.
- Fujiwara, Y., Kojima, S., Mizota, C., Maki, Y. and Fujikura, K. (2000a) Phylogenetic characterization of the endosymbionts of the deepest-living vesicomyid clam, *Calyptogena fossajaponica*, from the Japan Trench. *Venus*, **59**, 307–316.
- Fujiwara, Y., Takai, K., Uematsu, K., Tsuchida, S., Hunt, J.C. and Hashimoto, J. (2000b) Phylogenetic characterization of endosymbionts in three hydrothermal vent mussels: Influence on host distributions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **208**, 147–155.
- Fujiwara, Y., Kato, C., Masui, N., Fujikura, K. and Kojima, S. (2001) Dual symbiosis in a cold seep thyasirid clam *Maorithyas hadalis* from the hadal zone in the Japan Trench, western Pacific. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **214**, 151–159.
- Juniper, S.K. and Sibuet, M. (1987) Cold seep benthic communities in Japan subduction zones: Spatial organization, trophic strategies and evidence for temporal evolution. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **40**, 115–126.
- Kojima, S. and Ohta, S. (1997) Bathymetrical distribution of the species of the genus *Calyptogena* in the Nankai Trough, Japan. *Venus*, **56**, 293–297.
- Kojima, S. (2002) Deep-sea chemoautosynthesis-based communities in the northwestern Pacific. *J. Oceanogr.*, **58**, 343–363.
- Le Pennec, M. and Fiala-Médioni, A. (1988) The role of the digestive tract of *Calyptogena laubieri* and *Calyptogena phaseoliformis*, vesicomyid bivalves of the subduction zones of Japan. *Oceanol. Acta*, **11**, 193–199.
- Nelson, D.C. and Fisher, C.R. (1995) Chemoautotrophic and methanotrophic endosymbiotic bacteria at deep-sea vents and seeps. In Karl, D.M. ed.: *The Microbiology of Deep-sea Hydrothermal Vents*. CRC Press, Boca Raton, 125–167.
- Ohta, S. and Laubier, L. (1987) Deep biological communities in the subduction zone of Japan from bottom photographs taken during "Nautile" dives in the Kaiko Project. *Earth Planet. Sci. Lett.*, **83**, 329–342.
- Okutani, T. and Fujikura, K. (2002) Abyssal gastropods and bivalves collected by Shinkai 6500 on slope of the Japan Trench. *Venus*, **60**, 211–224.
- Okutani, T., Fujikura, K. and Kojima, S. (1999) Two new hadal bivalves of the family Thyasiridae from the plate convergent area of the Japan Trench. *Venus*, **58**, 49–54.
- Okutani, T., Fujikura, K. and Kojima, S. (2000) New taxa and review of vesicomyid bivalves collected from the northwest Pacific by deep sea research systems of Japan Marine Science & Technology Center. *Venus*, **59**, 83–101.
- Olu, K., Duperret, A., Sibuet, M., Foucher, J.-P. and Fiala-Médioni, A. (1996) Structure and distribution of cold seep communities along the Peruvian active margin: Relationship to geological and fluid patterns. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **132**, 109–125.
- Pautot, G., Nakamura, K., Huchon, P., Angelier, J., Bourgois, J., Fujioka, K., Kanazawa, T., Nakamura, Y., Ogawa, Y., Seguret, M. and Takeuchi, A. (1987) Deep-sea submersible survey in the Suruga, Sagami and Japan Trenches: Preliminary results of the 1985 Kaikobu cruise, Leg. 2. *Earth Planet. Sci. Lett.*, **83**, 300–312.
- Sibuet, M., Juniper, S.K. and Pautot, G. (1988) Cold-seep benthic communities in the Japan subduction zones: Geological control of community development. *J. Mar. Res.*, **46**, 333–348.
- Southward, E.C. (1986) Gill symbionts in thyasirids and other bivalve molluscs. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **66**, 889–914.
- Van Dover, C. (2000) *The Ecology of Deep-sea Hydrothermal Vents*. Princeton Univ Press.

(2003年2月3日受付, 2003年3月28受理)