

[特集] 海洋における光合成共生研究と深海の栄養共生研究のクロストーク

刺胞動物と褐虫藻のサイズ依存的な共生関係

高橋 俊一

多くの刺胞動物は褐虫藻を共生させ、生育に必要な栄養分の多くを褐虫藻の光合成代謝産物に依存している。褐虫藻にはDNA型の異なるタイプが多く存在し、その違いで生理的特徴が異なっている。そのため、生育環境に適した褐虫藻タイプを取り込むことは宿主動物の重要な生存戦略である。しかし、宿主動物はどの褐虫藻タイプとも共生関係を結べるわけではなく、潜在的に共生可能な褐虫藻タイプとそうでないものが存在する。本稿では、これを共生の特異性と呼ぶ。1970年頃に共生の特異性が発見されて以降、宿主細胞と共生体細胞の表面にある認識タンパク質がこれを決めると予想され、研究が続けられてきた。しかし、我々はこれとは別の特異性に関わる因子を発見した。それは、「共生体の細胞サイズ」と「宿主動物の許容共生体サイズ」である。本稿では、新たに明らかになった共生の特異性機構を解説する。

キーワード：共生, 特異性, 多様性, 細胞サイズ

刺胞動物は基本的に摂食で栄養を得るが、中には褐虫藻を共生させて栄養の少なくとも一部を褐虫藻が生産する光合成代謝産物に依存するものもある。褐虫藻を共生させる代表的な刺胞動物には、サンゴ、イソギンチャク、クラゲがいる。サンゴの場合、造礁サンゴ種は一般的に褐虫藻が共生する。そのため、サンゴ礁ではサンゴに共生する褐虫藻がその生態系の主な生産者となっている。褐虫藻は、刺胞動物に共生する藻類の総称で、*Symbiodinium* や *Amphidinium* や *Gymnodinium* が含まれる。その中でも、*Symbiodinium* が最も一般的で、研究も多い。*Symbiodinium* はDNA型の異なる多くのタイプが存在する (Pochon & Gates 2010)。褐虫藻のタイプの違いで、光合成活性 (Fitt 1985) や高温耐性 (Tchernov *et al.* 2004, Takahashi *et al.* 2008,

Takahashi *et al.* 2009) や強光耐性 (Karim *et al.* 2015) などの生理的特徴が異なる。そのため、宿主の動物は環境に適したタイプの褐虫藻を共生させることが、生育や生存に非常に重要である。自然界では、同じサンゴ群体にひとつもしくは複数の褐虫藻タイプが共生しており、その数や優占するタイプは、成長段階や季節や環境条件により異なることがある (Thornhill *et al.* 2005)。また、海水温の上昇によるサンゴの白化も、共生する褐虫藻タイプの違いでその感受性が異なることが知られている (Howells *et al.* 2012, Berkelmans & van Oppen 2006, Baker 2001)。ただ、それぞれの宿主動物種は特定のタイプの褐虫藻としか共生関係を結ぶことができない。そのため、刺胞動物が適した褐虫藻タイプを共生させて環境適応する際、この特異性という制限が常につきまとう。

自然界において、それぞれのサンゴ種に共生する褐虫藻タイプを調べると、それぞれある限られた褐虫藻タイプと共生していることがわかる (LaJeunesse 2002)。これもサンゴと褐虫藻の特異的な共生関係といえるが、本稿で扱う特異性とは若干意味が異なる。本稿で扱う共生の特異性は、

Takahashi Shunichi : Species specific symbiotic relationships between cnidarians and zooxanthellae.
〒444 - 8585 岡崎市明大寺町字西郷中38
基礎生物学研究所
E - mail : shun@nibb.ac.jp

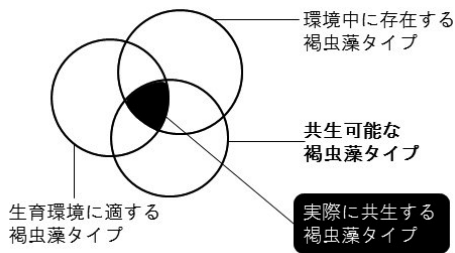


図1. ある宿主動物種に共生可能な褐虫藻タイプとその宿主動物種に実際に共生する褐虫藻タイプとの関係。ある宿主動物種に実際に共生する褐虫藻タイプ（黒塗り部分）は、その宿主動物のまわりの環境中に存在し、その宿主動物に共生可能で、さらにその宿主動物のおかれている生育環境に適するものに限られる。そのため、その宿主動物種に共生可能な褐虫藻タイプだからといって、その宿主動物種に実際に共生するとは限らない、たとえば、共生可能な褐虫藻タイプとしても、環境中に存在しない、もしくは生育環境に適さない場合は、実際に共生することはない。

共生関係を結べるかどうか（ポテンシャル）を意味し、自然界で実際に共生する褐虫藻タイプを決める要因のひとつに過ぎないことを理解していただきたい。これに関しては、「宿主に共生可能な褐虫藻タイプと宿主に実際に共生する褐虫藻タイプ」の項で詳しく述べる。

1. 褐虫藻の垂直伝播と水平伝播

サンゴに共生する褐虫藻は、親から引き継がれる場合と、環境から取り込まれる場合とがある。前者は垂直伝播、後者は水平伝播と呼ばれる。褐虫藻が垂直伝播するサンゴ種は限られており、造礁サンゴ種の30%にとどまる (Baird *et al.* 2009)。垂直伝播では、親の褐虫藻が宿主の卵あるいはプラヌラ幼生に伝わった後、次世代の宿主として放出される。一方、水平伝播では、親から放出された後、次世代の宿主は環境から褐虫藻を取り込む。褐虫藻の伝播様式とサンゴの産卵様式には大きな関係があり、プラヌラ放出するサンゴ種の9割が垂直伝播するのに対し、配偶子（卵）放出するサンゴ種の8割が水平伝播する (Baird *et al.* 2009)。水平伝播はプラヌラ幼生や幼ポリプの段階で主におこるが、成体になってからでもおこる (Boulotte *et al.* 2016)。垂直伝播の場合は、共生の種特異性の問題は心配ない。ただ、水平伝播の場合は、共

生できる褐虫藻タイプは特異性に合うものに限られる。

2. 褐虫藻の共生過程

刺胞動物と褐虫藻との共生は細胞内共生である（軟体動物のシャコ貝は細胞外共生とされている）。刺胞動物が水平伝播で褐虫藻を共生させる際、まず、海水中を遊泳する褐虫藻をポリプに取り込む。サンゴ礁は貧栄養で、褐虫藻を含む光合成生物の生育には適さず、海水中の褐虫藻密度は低い (Yamashita *et al.* 2013)。そのため、刺胞動物には、褐虫藻を誘引する機能が備わっていると考えられており、そのひとつに誘引物質がある (Fitt 1984, Takeuchi *et al.* 2017)。それ以外にも、サンゴの蛍光が褐虫藻を誘引するという仮説もある (Hollingsworth *et al.* 2005)。ポリプに取り込まれた褐虫藻は、ポリプ内腔を移動し、宿主細胞の中に食作用（ファゴサイトーシス）により取り込まれる。そのため、取り込まれた褐虫藻は宿主細胞由来の膜（シンバイオソーム膜）に包まれた状態で存在する。宿主細胞に取り込まれた褐虫藻は何らかの機構により認識されて、共生が成立すると考えられている。

3. 宿主に共生可能な褐虫藻タイプと宿主に実際に共生する褐虫藻タイプ

自然界に存在する褐虫藻タイプは多様であるのに対し、それぞれのサンゴ群体やポリプに共生する褐虫藻タイプは限定的である (LaJeunesse 2002)。これは、ある宿主動物種に実際に共生する褐虫藻タイプは、(1) 環境中に存在し、(2) 共生可能（共生の特異性が一致）で、(3) 宿主動物のおかれている生育環境（たとえば光や温度など）に適するという3つの条件を満たす必要があるからである (図1)。自然界において、共生する褐虫藻タイプを調べると、異なる多くの褐虫藻タイプを共生させているサンゴ種もあれば、そうでないサンゴ種もある。前者はジェネラリスト、後者はスペシャリストと呼ばれることがある (Baker 2003)。ただ、注意が必要なのが、ここでいうジェネラリストが共生の特異性が低い（共生可能な褐虫藻タイプの多い）サンゴ種で、スペシャリスト

が共生の特異性の高い（共生可能な褐虫藻タイプの少ない）サンゴ種であるとは限らないことである。なぜなら、実際に自然界で宿主に共生する褐虫藻タイプは、上記のように共生の特異性のみならず、その他の複数の要因で決まるからである（図1）。たとえば、共生の特異性が低くて多くの褐虫藻タイプを共生可能なサンゴ種でも、環境中の褐虫藻タイプの種類が少なければ、共生する褐虫藻タイプの種類も少なくなり、その結果としてスペシャリストと判断されることになる。そのため、共生の特異性やその強弱は、ラボでの共生実験で判断すべきである。たとえば以前に、幼ポリプから成体ポリプに移行する過程で、共生する褐虫藻タイプの数が減少することが示され（Little *et al.* 2004）、その結果から成長段階で共生の特異性が変化すると示唆されているが、それは正しいとは限らない。というのも、この結果からだけでは、共生の特異性（共生可能な褐虫藻タイプ）が成長段階で変化したのか、生育環境に適した褐虫藻タイプが他を淘汰したのか分からない。ちなみに、イソギンチャクを用いたラボ実験では、成長段階の違いで共生の特異性に違いはないことが示されている（Hambleton *et al.* 2014）。

4. 特異性を調べる共生実験

初期の共生実験では、ある宿主から褐虫藻を取り出し、共生の可否が確かめられていた。その後、同様の実験を単離培養された褐虫藻株で行うようになり、いまはクローン化された褐虫藻株が利用されるようになってきている。種特異性の合わない褐虫藻タイプの場合、過剰な褐虫藻密度にしても、共生は見られない。そのため、共生の特異性（共生可能かどうか）を調べる場合は、一般的に高い褐虫藻密度の条件で行われる。共生実験に用いる宿主動物は褐虫藻を持たない状態である必要があり、そのために人工的な白化（高温もしくは低温）処理を行うか、褐虫藻を垂直伝播しないサンゴ種の精子と卵を採集し、人工的にポリプに変態させたものを使う。刺胞動物と褐虫藻の共生生物のモデルとして利用されつつあるイソギンチャク（*Aiptasia*）では、白化処理により褐虫藻を完全に無くす系が確立しており、共生の特異性の研

究に適している（Belda-Baillie *et al.* 2002）。

5. これまでの特異性機構の考え

動物と藻類の共生関係は、ヒドラと緑藻（クロレラ）でも見られる。この共生では、動物細胞と緑藻細胞の表面にお互いの認識に関わる物質（認識物質）が存在していることが示されている（Meints *et al.* 1980）。この考えを基に、サンゴと褐虫藻の共生にも認識タンパク質が重要だと考えられており、褐虫藻細胞表面に存在するグリカン（糖）と宿主動物細胞表面に存在するレクチン（糖と特異的に結合するタンパク質）が認識に関わっていると考えられている（Davy *et al.* 2012, Koike *et al.* 2004）。これは、褐虫藻表面をトリプシンやN-グリコシダーゼで処理すると共生能力が低下することから支持されている（Wood-Charlson *et al.* 2006）。この考えの延長で、細胞表面の分子が共生の特異性に関与していると考えられるようになった。その理由として、褐虫藻細胞表面に存在するグリカンの種類が褐虫藻タイプで異なることが挙げられる（Wood-Charlson *et al.* 2006, Logan *et al.* 2010）。しかし、この仮説ははまだ証明には至っていない。

6. 褐虫藻の細胞サイズと特異性との関係

褐虫藻の細胞サイズはタイプ間で異なり、細胞分裂のおこらない昼間に球形細胞をオートセルカウンターを用いて測定した結果、小さいタイプが直径6 μm 程度、大きいタイプで11 μm 程度であった（ただし分裂過程の細胞はこれよりも大きかった）（Biquand *et al.* 2017）。細胞サイズが褐虫藻タイプで異なることは以前からよく知られており、共生の特異性が発見されてまもなく、褐虫藻の細胞サイズが特異性に関係するかも調べられている。その結果、両者に関係はないと報告されている（Schoenberg & Trench 1980）。しかし、結果を見直してみると、ひとつの例外を除いて、小さな細胞サイズの褐虫藻タイプは宿主に取り込まれ、大きな細胞サイズの褐虫藻タイプは宿主に取り込まれなかったとなり、両者に関係があるようにみえる。筆者らは、単離培養された褐虫藻タイプをクローン化した後、褐虫藻細胞サイズと宿主

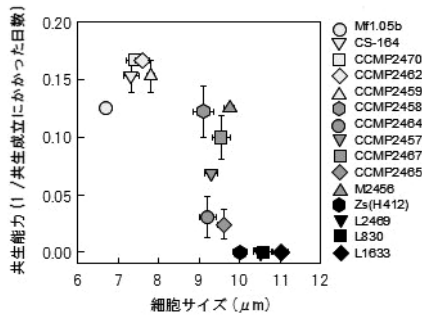


図 2. 共生能力と褐虫藻サイズとの関係。

イソギンチャク (*Aiptasia*) と異なる細胞サイズの褐虫藻 (6 つの DNA 型を含む 15 株) を用いた共生実験の結果。Biquand *et al.* 2017 より改訂。

への取り込みとの関係を再検証した (Biquand *et al.* 2017)。細胞サイズの異なるの褐虫藻 15 株を別々にイソギンチャク (人工的に褐虫藻を除いた状態) に加えると、11 株が宿主に取り込まれ、4 株が取り込まれなかった。細胞サイズと取り込みとの関係を見ると、取り込まれた 11 株は全て細胞サイズの平均が直径 10 μm 以下で、取り込まれなかった 4 株は全て 10 μm 以上であった (図 2)。これらの結果は、褐虫藻の細胞サイズが共生の特異性に関係があることを示唆する。この仮説は、異なるサイズの蛍光ビーズを用いた実験で支持されている (Biquand *et al.* 2017)。いまのところ、共生過程のどの段階で、褐虫藻の細胞サイズが認識されているかは不明である。ただ、一般的に食作用 (ファゴサイトーシス) は取り込む対象物のサイズの影響を受けやすいことが知られている。そのため、褐虫藻が宿主細胞内に取り込まれる過程で細胞サイズが影響している可能性が高い。

7. 宿主動物の許容褐虫藻サイズと種特異性との関係

イソギンチャクを用いた共生実験では、褐虫藻サイズが特異的な共生に関与することが示された (Biquand *et al.* 2017)。しかし、この実験では共生できなかったサイズの大きな褐虫藻を共生させる刺胞動物も存在するはずである。その場合、宿主の違いで許容褐虫藻サイズが異なると予想される。実際、サンゴの幼ポリプを用いた共生実験で、

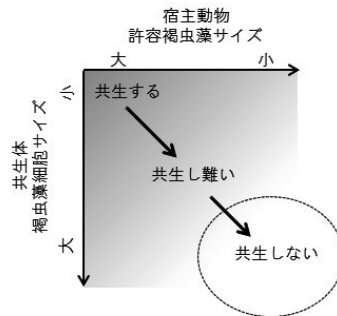


図 3. 共生体の褐虫藻細胞サイズと宿主動物の許容褐虫藻サイズとの関係。

細胞サイズの小さい褐虫藻種ほど種特異性が低く、多くの宿主動物種と共生可能。許容褐虫藻サイズの大きい宿主動物種ほど種特異性が低く、多くの褐虫藻種と共生可能。

Acropora tenuis では細胞サイズが直径 10 μm 以上の褐虫藻の共生は見られなかったが、*Cyphastrea serailia* では 10 μm 以上の褐虫藻の共生もみられている (Biquand *et al.* 2017)。この結果は、宿主動物の種間で許容褐虫藻サイズが異なることを示しており、許容褐虫藻サイズの広いサンゴ種ほどより共生可能な褐虫藻タイプが多様であることを示唆している (図 3)。今のところ、許容褐虫藻サイズが宿主動物の何によって決まっているかは不明である。

8. その他の種特異性に関わる因子

褐虫藻サイズと許容褐虫藻サイズが共生の特異性に関わるものが明らかになってきたが、特異性のすべてがこれで説明できるわけではない。たとえば、先の共生実験でも、宿主細胞に取り込まれた褐虫藻株の中には、時間が経つと宿主細胞から失われるものもいた (Biquand *et al.* 2017)。つまり、宿主細胞内に取り込まれた後にも、共生の特異性に関わる因子が存在する。蛍光ビーズは刺胞動物の細胞に取り込まれた後に、1 週間もすると全て排出される (Biquand *et al.* 2017)。そのため、刺胞動物は、褐虫藻を細胞内に取り込んだ後、共生に適さないものを認識して排出する機構が存在すると考えられる (Chen *et al.* 2004, Chen *et al.* 2003)。しかし、その因子の詳細ははまだ十分に明らかになっていない。従来は、褐虫藻細胞表面

の認識物質が細胞内への取り込みに重要であると考えられてきた。しかし、そのような認識物質を持たない蛍光ビーズでも宿主細胞内に取り込まれることから、認識物質は取り込まれた後の共生成立（もしくは共生維持）の過程に重要なかもしれない。これに関しては、今後の研究の進展が期待される。

9. 種特異性と環境適応

褐虫藻はタイプの違いで生理的特徴が異なり、高温 (Tchernov *et al.* 2004, Takahashi *et al.* 2008, Takahashi *et al.* 2009) や強光 (Karim *et al.* 2015) に対するストレス感受性も異なる。そのため、共生する褐虫藻タイプの違いにより、宿主動物の環境ストレス感受性も異なる。最もよく知られている例が、高温ストレス下の白化感受性が共生する褐虫藻タイプの違いで異なることである (Howells *et al.* 2012, Berkelmans & van Oppen 2006, Baker 2001)。環境の変化に適応するには、共生可能な褐虫藻タイプが多様である方が有利なはずである。そのため、特異性の低い（許容褐虫藻サイズの広い）宿主の方が環境適応しやすいと考えられる。しかし、前述したように、それぞれの宿主動物に共生する褐虫藻タイプは、共生の特異性でのみ決まるわけではない（図1）。たとえば、共生の特異性の高い宿主動物でも、生育する環境に共生の特異性の低い（細胞サイズの小さい）褐虫藻タイプが豊富であれば、共生可能な褐虫藻タイプは多様となる。そのため、小さな細胞サイズの褐虫藻タイプが豊富に存在する環境では、より多くの刺胞動物種が環境適応しやすくなると予想される。

本稿を書き上げるに当たり、大変お世話になった丸山正氏、神保充氏、大久保奈弥氏に深く感謝する。また、数々の有益なコメントを下さった査読者にも、この場をかりて深く感謝する。本稿で紹介させていただいた内容は、Discovery Project (DP110102364) と科研費 (15K14611) によって行われたものである。

引用文献

Baird, A. H. *et al.* 2009 *Annu Rev Ecol Evol S* **40** : 551-571.

- Baker, A. C. 2001 *Nature* **411** : 765-766.
Baker, A. C. 2003 *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **34** : 661-689.
Belda-Baillie, C. A. *et al.* 2002 *Biol. Bull.* **202** : 74-85.
Berkelmans, R. & van Oppen, M. J. H. 2006 *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.* **273** : 2305-2312.
Biquand, E. *et al.* 2017 *ISME J* **11** : 1702-1712.
Boulotte, N. M. *et al.* 2016 *Isme J* **10** : 2693-2701.
Chen, M. C. *et al.* 2004 *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **324** : 1024-1033.
Chen, M. C. *et al.* 2003 *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **308** : 586-595.
Davy, S. K. *et al.* 2012 *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **76** : 229-261.
Fitt, W. K. 1984 *Mar Biol* **81** : 9-17.
Fitt, W. K. 1985 *Proc. 5th Int. Coral Reef Congr.* **6** : 131-136.
Hambleton, E. A. *et al.* 2014 *J. Exp. Biol.* **217** : 1613-1619.
Hollingsworth, L. L. *et al.* 2005 *Coral Reefs* **24** : 523-523.
Howells, E. J. *et al.* 2012 *Nat. Clim. Chang.* **2** : 116-120.
Karim, W. *et al.* 2015 *Plant Cell Physiol.* **56** : 1162-1171.
Koike, K. *et al.* 2004 *Biol. Bull.* **207** : 80-86.
LaJeunesse, T. C. 2002 *Mar. Biol.* **141** : 387-400.
Little, A. F. *et al.* 2004 *Science* **304** : 1492-1494.
Logan, D. D. K. *et al.* 2010 *J. Phycol.* **46** : 525-533.
Meints, R. H. & Pardy, R. L. 1980 *J. Cell Sci.* **43** : 239-251.
Pochon, X. & Gates, R. D. 2010 *Mol. Phylogenet. Evol.* **56** : 492-497.
Schoenberg, D. A. & Trench, R. K. 1980 *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.* **207** : 445-460.
Takahashi, S. *et al.* 2008 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105** : 4203-4208.
Takahashi, S. *et al.* 2009 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106** : 3237-3242.
Takeuchi, R. *et al.* 2017 *Fisheries Sci.* **83** : 479-487.
Tchernov, D. *et al.* 2004 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101** : 13531-13535.
Thornhill, D. J. *et al.* 2005 *Mar. Biol.* **148** : 711-722.
Wood-Charlson, E. M. *et al.* 2006 *Cell Microbiol.* **8** : 1985-1993.
Yamashita, H. *et al.* 2013 *Coral Reefs* **32** : 355-366.