

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成30年 6月28日現在

機関番号：37601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07797

研究課題名(和文) 昆虫の過変態の分子機構の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms regulating hypermetamorphosis in insects

研究代表者

新谷 喜紀 (Shintani, Yoshinori)

南九州大学・環境園芸学部・教授(移行)

研究者番号：50389574

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：昆虫の幼虫は数回の脱皮をするが、脱皮をしても形はほとんど変わらないのが普通である。しかし、蛹を持つタイプの変態(完全変態)をする昆虫の中には、幼虫期に脱皮の前後で形態を劇的に変化させる「過変態」をする昆虫がいる。マメハンミョウも過変態をする昆虫の一種で、幼虫期に擬蛹(特異な形をした5齢幼虫)になることで知られている。通常の変態をする昆虫では、幼若ホルモンやその早期応答性転写因子のKr-h1によって、変態(蛹化)が抑制されていることが知られている。本研究では、擬蛹化の分子機構について調べた。その結果、擬蛹化は蛹化と同様にJH/Kr-h1系により抑制されることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Insects undergo metamorphosis in their life cycles. They undergo a few times of ecdysis but their general shapes do not change upon ecdysis. However, in holometabolous insects, which have the pupal stage, there are several insects that undergo hypermetamorphosis, in which the shapes change drastically upon ecdysis. The bean blister beetle, *Epicauta gorhami*, is one such insect and its larva becomes a pseudopupa (characteristic to the hypermetamorphosis in Meloidae) in the 5th instar. In holometabolous insects in general, juvenile hormone (JH) and Kr-h1, an early response gene, suppress the pupation. We have found in the present study that pseudopupation is also suppressed by a JH/Kr-h1 system.

研究分野：昆虫生理生態学

キーワード：昆虫 過変態 マメハンミョウ 転写因子 遺伝子発現 分子機構 マメハンミョウ 幼若ホルモン

1. 研究開始当初の背景

昆虫はその多様化した形態と生理・生態によって、最も繁栄した生物群を構成している。すべての昆虫がその発育過程の中で変態を組み込んでいるが、この変態こそが昆虫の現在の繁栄をもたらした主要因だと考えられている。昆虫の変態は蛹期のない不完全変態と蛹期のある完全変態の2タイプに分類されるが、完全変態昆虫の中にはさらに、幼虫期に形態を劇的に変化させる過変態と呼ばれる変態を行うグループがいる。過変態昆虫の代表はツチハンミョウ科の甲虫類であり、その一つにマメハンミョウ *Epicauta gorhami* がいる。

脱皮・変態を制御する内分泌機構や分子生物学的機構は、カイコなどのモデル昆虫を使って分担者らによって明らかにされつつある (Kayukawa et al., PNAS 2012 年など)。脱皮・変態の制御には脱皮ホルモンと幼若ホルモンという2種類のホルモンが関与しており、それらが受容体であるリガンド依存性の転写因子に結合し、ステージ特異的な遺伝子発現カスケードの引き金を引くことにより脱皮や変態が進行することがわかってきた。しかし、過変態の制御機構については、詳しいことはいまだに全くわかっていない。

図1にマメハンミョウの発育過程を示す。本種の幼虫は土中に産下されたバッタ類の卵のみを食べて育つ。夏から秋にふ化した幼虫は赤褐色の硬い皮膚を持つ擬蛹と呼ばれるステージになって休眠(冬眠)して冬を越す。擬蛹になるのは、本種を含むツチハンミョウ科の過変態の際立った特徴である。擬蛹は一定期間低温にさらされることによって成長を再開し、2~4齢と同形の6齢幼虫に脱皮した後に蛹化する (Terao et al., Journal of Insect Physiology 2012年)。一方、マメハンミョウの幼虫を高温や長日という夏季の環境条件で育てると、擬蛹をスキップして、4齢幼虫からいきなり蛹になる (Shintani et al., Physiological Entomology 2011年)。このように、本種が擬蛹になるかならないかは、幼虫の育つ温度と光周期により決まるが、さらに4齢1日目での絶食を組みあわせることにより、同じ温度(25℃)の下で光周期を変えることのみにより両者の振り分けができるようになってきている (Terao et al., Entomological Science 2015年)。

本研究では、マメハンミョウのこの系を用いて、擬蛹化の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。ツチハンミョウ科の昆虫は餌や生息場所などが特異で、興味深い生態を示すものがいたとしても、飼育が困難なため観察に留まることが多かった。マメハンミョウも成虫期は種々の植物を食害する植食性であるにもかかわらず、幼虫期はバッタの卵しか食べない肉食性という特徴がある。しかし、幼虫期の餌の入手が難しいため難飼育昆虫であった。しかしコンスタントにトノ

サマバッタの卵を入手できるシステムを作り上げたりしてマメハンミョウの飼育法に改良を重ね、実験的な研究ができるようになった。

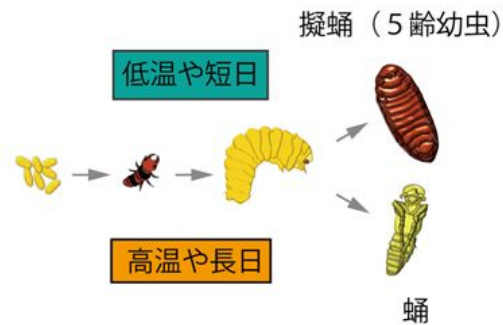


図1. マメハンミョウ幼虫の発育の環境条件による制御

2. 研究の目的

マメハンミョウでは蛹化条件と擬蛹化条件が確立している。したがって、両条件の幼虫を比較しながら、擬蛹化の分子メカニズムを明らかにすることが可能である。

昆虫では幼虫期の発生を制御するホルモンとして幼若ホルモン(JH)が知られており、蛹化するためには、血中のJH濃度が低下することが必須である。血中JH濃度が高い若齢幼虫ではJH早期応答性の転写因子であるKr-h1が高発現して蛹化を抑制している。そこで、マメハンミョウの擬蛹化に、このJH/Kr-h1系による抑制が働いているかどうかを調べた。

また、本種の蛹化と擬蛹化に温度、光周期、餌が関係していることが明らかになっているが、この発育の制御の適応的意義を野外で幼虫を飼育することによって調べた。

3. 研究の方法

(1) JH/Kr-h1系の関与

マメハンミョウの蛹化条件の4齢幼虫について、4齢脱皮からKr-h1の発現変動を調べた。また、4齢脱皮日にJHアナログ(JHA、本研究ではフェノキシカルブを用いた)を塗布して蛹化の抑制が起こらないかを調べた。このJHA処理個体についてもKr-h1の発現変動を調べた。前蛹になるまで通常6日、前蛹期間が5日間である。

同様に擬蛹化条件の4齢幼虫について、4齢脱皮からKr-h1の発現変動を調べた。また、4齢脱皮日にJHAを塗布して擬蛹化の抑制が起こらないかを調べた。このJHA処理個体についてもKr-h1の発現変動を調べた。擬蛹化前の静止状態(前擬蛹)まで通常7日で、前

擬蛹期間が2日である。

(2) 過変態の制御の適応的意義

マメハンミョウ幼虫の発育が温度や光周期、餌の条件によって制御されることに関して、その適応的意義の解明を野外飼育によって試みた。本種を7月下旬から10月上旬の間に約半月間隔の6つの異なる時期に野外に産卵直後の卵を置き、孵化した幼虫にトノサマバッタの卵を与えて飼育した。4齢の初期に餌を除去した区と飽食させた区を作り、発育（蛹化または擬蛹化）を観察した。

4. 研究成果

(1) JH/Kr-h1系の関与

マメハンミョウの蛹化条件の幼虫において前蛹になる直前にKr-h1の発現が急激に低下することが明らかとなった。これは、他の完全変態昆虫でも認められている現象であり、過変態をする本種においても、蛹化はKr-h1によって抑制されていることが示唆された（図2）。

マメハンミョウの蛹化条件の幼虫にJHAを処理すると、蛹化が遅れたり（濃度が低い時）または蛹化が起こらなかったり（濃度が濃い時）した。また、このような蛹化が抑制されている幼虫においてKr-h1発現量は無処理個体に比べてはるかに高かった（図3）。これらのことから、マメハンミョウにおいても他の昆虫と同様にJH/Kr-h1系が蛹化を抑制することが示唆された。

次にマメハンミョウの擬蛹化におけるJH/Kr-h1系の関与について調べた。擬蛹化条件の幼虫は、蛹化条件の前蛹化のときと同様に前擬蛹になる直前にKr-h1の発現が急激に低下していた。また、擬蛹化条件の幼虫にJHAを処理したところ、擬蛹化が抑制された。JHA処理した擬蛹化条件の幼虫はKr-h1の高発現が維持され続けていた。よって、擬蛹化は蛹化と同様にJH/Kr-h1系により抑制されることが示唆された（図4）。今後は擬蛹化を制御するカスケードの下流にある遺伝子の同定が待たれる。

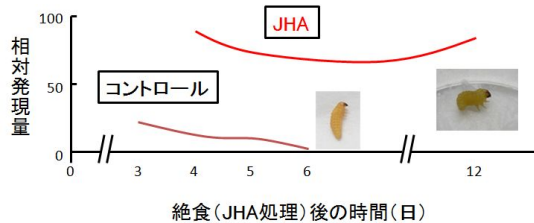


図2. 蛹化条件におけるJHA処理がKr-h1 mRNAの発現に及ぼす影響

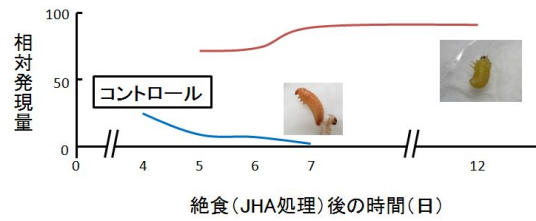


図3. 擬蛹化条件におけるJHA処理がKr-h1 mRNAの発現に及ぼす影響

- ・蛹化と同様にJHによって抑制
- ・蛹化と同様にKr-h1の発現が関与

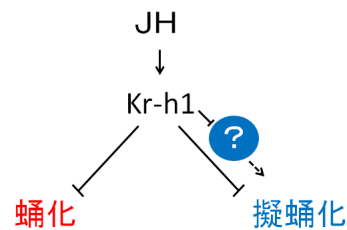


図4. マメハンミョウの擬蛹化におけるJH制御の模式図

(2) 過変態の制御の適応的意義

餌を十分に与えた場合は、夏でも蛹化する傾向が高く、逆に途中で餌を除去した場合は、秋でも蛹化する傾向が高かった。9月上旬以降の幼虫は、餌条件によらず全個体が擬蛹化した（図5）。早い時期の幼虫で餌が不足した個体が擬蛹となった場合、休眠して夏から翌春までの長期間を休眠して過ごすのに脂肪などが十分に蓄えられていないため、休眠を回避し蛹化してもう1世代を経過するのではないかと考えられた。したがって、本種は1化性と考えられてきたが、餌の資源が不足するかどうかは化性に影響すると考えられ部分的に2化性の個体もいると考えられる。餌条件に対する反応は、本種幼虫が1齢時に遭遇する餌資源のサイズの大きな変異に関連しており、本種の過変態と関係のある現象だと考えられる。

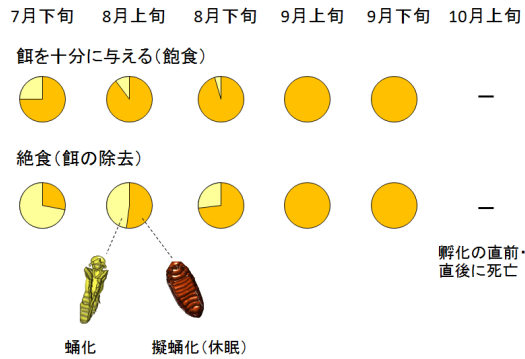


図 5 . 産卵された時期が異なる個体の野外での発育

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Shintani, Y., Terao, M. and Tanaka, S. (2017) Adaptive significance of precocious pupation in the bean blister beetle, *Epicauta gorhami* (Coleoptera: Meloidae), a hypermetamorphic insect. *Journal of Insect Physiology* 99: 107-112.

〔学会発表〕(計1件)新谷喜紀・長峯啓佑・神村学・篠田徹郎・大門高明・田中誠二・菅野善明・寺尾美里(2017)マメハンミョウの過変態における幼若ホルモン制御。日本昆虫学会第77回大会。

6 . 研究組織

(1)研究代表者

新谷 喜紀 (Yoshinori SHINTANI)
南九州大学・環境園芸学部・教授
研究者番号：50389574

(2)研究分担者

神村 学 (Manabu KAMIMURA)
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構，生物機能利用研究部門，上級研究員
研究者番号：60370649

(3)研究協力者

長峯 啓佑 (Keisuke NAGAMINE)
南九州大学・環境園芸学部
研究者番号：20817548

(4)研究協力者

寺尾 美里 (Misato TERAO)
南九州大学・フィールドセンター・大学技能職員
研究者番号：30796610