

令和 2 年 6 月 7 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K18605

研究課題名(和文) カマアシムシ目の分子発生学への挑戦～神経発生の解明から探る昆虫の祖先型と進化～

研究課題名(英文) Embryological study on proturan brain: groundplan and evolution of Hexapoda

研究代表者

福井 眞生子 (Fukui, Makiko)

愛媛大学・理工学研究科(理学系)・講師

研究者番号：90635872

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：カマアシムシ目は祖先に最も近い昆虫として注目されるが、どのようにして触角を退化させたのかや、脳構造の詳細についてはわかっていなかった。

本研究により、カマアシムシ目の前脳には8つのモジュール構造をそなえる扇状体が見られ、昆虫の祖先の脳も同様の特徴をもっていた可能性が示された。カマアシムシ目は昆虫で唯一触角を欠くが、触角体節の神経節である中大脳は観察されたことから、触角は付属肢の退化により失われたことが示された。一方触角の代替として用いられる前脚の神経は、味顎神経節で味覚を受容することが示された、この特徴は六脚類の祖先形質である可能性もあり、触角の欠失の前適応状態を示すものかも知れない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

あるグループの祖先がどのようなものであったを知ることは、進化の解明の第一歩といえる。本研究により、地球の覇者である昆虫の脳がその祖先においてどのようなものであったかを推測する手がかりが得られた。また、節足動物の大半にとって生存に極めて重要な器官である触角の欠失が、カマアシムシ目においてなぜ、どのように起こってきたかを理解できたことは、謎の多いカマアシムシ目の進化を理解する上でも重要な知見である。

研究成果の概要(英文)：Protura is known as the one of the most ancestral group in the Insect. They are totally lacking antenna and instead their fore legs are functioning as tactile organ. Due to minute size and craptic way of life, detailed brain structure and the scenario of their total degeneration of antenna is still unknown. Proturan brain and nervous system of their fore legs are determined and revealed as below.

1) Deutocerebrum is found to be the weak swelling both in the late embryonic stage and the adult. 2) 8 columns of the fan shaped body are observed in the central complex. 3) Proturan fore leg nerves are revealed to connect with gnathal ganglion which is known to be the center of an insect's sense of taste. Our data indicates that antennae were lost due to degeneration of the appendages and the taste sense with the fore leg can be understood as the preadaptive state. 8 columns in the fan shaped body thought to be the groundplan of the Insect which are known also in Collembola and Pterygota.

研究分野：昆虫比較発生学

キーワード：昆虫 祖先 脳 触角 触角体節 中大脳 扇状体

## 1. 研究開始当初の背景

昆虫類は全動物種の7割を占める、最も成功した生物の一群である。しかし、その初期進化については十分に理解されているとは言い難く、高次系統に関しても長年議論が続いてきた。2014年、申請者も材料提供や発生学的データの提供を行った国際研究プロジェクト「1000種昆虫トランスクリプトーム進化 (1 Kite)」プロジェクト (<http://www.1kite.org/>) の分子系統解析結果が *Science* 誌にて公表され、従来の内顎類(カマアシムシ目+トビムシ目+コムシ目)は支持されず、欠尾類(カマアシムシ目+トビムシ目)、尾毛類(コムシ目+外顎類)が支持され、新たな系統関係が提示された(Misof, 2014)。この体系は形態形質によっても支持され、昆虫の初期進化の系統学的問題は解決されたかに見えた。しかし同グループの最新レポートによると、カマアシムシ目を含む原始系統群においては従来の内顎類(Hennig, 1969)が再度支持されるなど、いまだに樹形が不安定であることが明らかとなっている。以上のように、昆虫の初期進化・高次系統の理解はいまだ不十分であり、更なる分子系統学的・形態学的検討が希求される。とりわけ、最原始系統群であるカマアシムシ目の形態学的理解は、昆虫類全体のグラウンドプランを探る上で非常に重要である。

カマアシムシ目は、その微小さや飼育の困難さにより多くの生物学的側面が解明されないままとなっており、最も謎の多い重要分類群のひとつとされてきた。多くの謎のひとつが「触角の欠失」である。カマアシムシ目が Silvestri により記載された直後の1909年、Schepotieff によりただ一度記載された“原始的昆虫類”は、本来触角のないカマアシムシ目の頭部に触角を生やした姿をしており、これは昆虫学史上最大の捏造の一つとされる(Beutel et al., 2014)。しかしこのような“捏造”が起きてしまうのは、昆虫類において触角の完全な欠失が極めて稀だからでもある。

触角を生じる「触角体節」は頭部前方領域に位置する。触角は触角体節の付属肢であり、脳の一部である中大脳は触角体節の神経節に由来する。触角体節の存在は昆虫のみならず、多足類・甲殻類も含めた大顎類のグラウンドプラン(祖先がもっていたと考えられる基本的形質)である。このグラウンドプランからカマアシムシ目は外見上逸脱していることとなり、六脚類全体を理解する上でもカマアシムシ目での形質状態を明らかとすることは非常に重要であるが、触角を欠くカマアシムシ目において触角体節が存在するかどうかは明らかとなっていない。

脳構造においても触角体節は重要な位置を占める。大顎類の脳は先節+前触角体節(前大脳)、触角体節(中大脳)、間挿体節(後大脳)の神経節が融合して形成される(図5)。昆虫の進化において、発達した微小脳の獲得は非常に重要であるが、最原始系統群であるカマアシムシ目は微小さや特殊化した頭部形態のため、成虫での形態学的検討が非常に困難であり、脳構造に関しては断片的な記載があるのみである。カマアシムシ目における脳の微細構造が明らかになっていないことは、昆虫の脳の祖先型が明らかになっていないことに等しい。

また、カマアシムシ目は触角を失った代わりに前方に振り上げた前脚により嗅覚受容を行うことが知られる。しかしここにおいて、どのような神経走行の変化が、触角の代替としての前脚の機能を実現させ、触角の退化または喪失に繋がったのかも明らかになっていない。

## 2. 研究の目的

本研究の第一の目的は、昆虫類の最原始系統群カマアシムシ目の最も大きな謎の一つである「触角の欠失」が、なぜ、どのように起こってきたかを明らかにすることにある。

そのために、触角とも深く関連する脳構造を詳細に検討する。検また、カマアシムシ目の前脚がどのように触角の代替として嗅覚刺激を受容するかを明らかとするために、前脚からの神経走行を解明する。また、検討にあたっては世界で初めて分子発生学的研究手法のカマアシムシ目への導入を試みる。さらに、明らかとなったカマアシムシ目の脳構造と、原始的昆虫類および甲殻類の脳構造を比較し、昆虫の脳の祖先型を推定するとともに、その初期進化の解明に貢献する。

## 3. 研究の方法

材料として、サイコクカマアシムシ *Baculentulus densus* を用いる。脳構造の詳細な討にあたっては、後期胚から所齡幼虫にかけての頭部の組織学的検討を行うことにより、各神経節の融合による脳形成過程の観察を行う。特に、触角体節の神経節である中大脳の有無を明らかとし、発生過程における挙動を把握する。また、頭部形態の特殊化が完了した幼虫および成虫の脳構造についても詳細に検討し、胚発生期と比較検討することにより、カマアシムシ目における脳の特異性についても理解する。検討にあたっては組織像からの三次元再構築も行う。

分子発生学的手法の導入に関しては、第一に神経ラベル法を試みる。サイコクカマアシムシ成虫の前脚を切断し、露出した前脚神経に蛍光デキストランの標識を施すことにより神経細胞

をトレースし、前脚への神経走行がどこから生じているかを確かめる。また、第二に RNA-Seq 法と *insitu* ハイブリダイゼーションによる脳領域の解析を計画していたものの、サイコクカマアシムシカルチャーの不調により実現には至らなかった。

以上の形態学的データと分子発生的データを統合することで、カマアシムシにおける脳の微細構造と神経走行を解明し、昆虫の脳における祖先型とその進化を推定し、前脚からの感覚神経走行と触角神経走行に起こった変化をとらえ、そこからカマアシムシ目の触角喪失に至ったシナリオについて議論する。

## 4. 研究成果

### 4 - 1. カマアシムシ目の脳構造と六脚類の脳の基本形

サイコクカマアシムシ成虫の中樞神経系は、以下のように特徴づけられることがわかった。

- 1) 前方から、後大脳、中大脳、前大脳の順に大脳神経節が分布
- 2) 咽食道縦連合は頭部後方において背側で後大脳、腹側で顎神経節に接続
- 3) 前胸の腹側前方に顎神経節、後方に前胸神経節が位置し、両者が境界なく接する
- 4) 大脳神経節・顎神経節ともに後方へシフトしており、特に前大脳は後方へ大きく反り返る
- 5) 正中領域に単一の扇状体・前大脳橋
- 6) 対構造をなす副側葉
- 7) 扇状体の 8 つのモジュール構造

脳の概形および各領域については、成虫を用いた先行研究ともよく一致する (François, 1969; François et al., 1992)。カマアシムシ目の脳は背腹に扁平であり、位置が大きく後方にシフトしているため、胸部の背側領域までを占める。これらは、頭部の特殊化によるものであると考えられる。脳領域に関しては、他の昆虫類と同様に前大脳・中大脳・後大脳が見出された。後期胚の組織学的検討からも同様の観察結果が得られたことから、カマアシムシ目は中大脳を保持しており、触角体節も同様に保持することが示された。すなわち、カマアシムシ目における触覚の欠失は触角体節の付随肢のみの欠失によるものであることが明らかとなった。

微細構造に関しては、扇状体に 8 つのモジュール構造が見出された。扇状体は有翅昆虫類において 8 または 16 のモジュール構造が知られる (Liu et al., 2006)。無翅昆虫類においては、トビムシ目において 8 つ、コムシ目で 9 つのモジュール構造が報告されている (Kollemann, 2011; Böhm, 2012)。一方で、イシノミ目およびシミ目では明瞭なモジュール構造が見られず、特にイシノミ目の扇状体は甲殻類との類似も指摘され、六脚類の基本プランをめぐり、議論が続いている (Strausfeld, 1998; Loesel et al., 2002)。カマアシムシ目では、先行研究においてイシノミ目と同様、扇状体に明瞭なモジュール構造が存在しない可能性が示されていたが、今回初めて明瞭な 8 つのモジュール構造が示された (Berlese, 1909)。六脚類の中でも、最原始系統群とされるカマアシムシ目とその姉妹群であるトビムシ目において明瞭な 8 つのモジュール構造がみられることは意義深く、六脚類の基部において 8 つのモジュール構造が獲得されていた可能性を示す。Böhm らが主張するように、コムシ目での 9 つのモジュール構造は二次的な変化であったとすると、基本数を 8 とする扇状体のモジュール構造は有尾類の基部でも保持され、イシノミ目やシミ目において二次的に失われた可能性が示唆される。

### 2) カマアシムシ目の前脚への神経走行と触角の欠失に至るシナリオ

前脚の神経標識の蛍光観察により、1) 前胸前方から前脚、2) 前胸後方から前脚に至る二つの神経走行ルートが見出された、また、組織学的検討の結果、これらの神経は顎神経節細胞体および前胸神経節からの軸索にそれぞれ由来することが明らかとなった。このうち、前胸神経からの投射については、同体節内で完結する通常感覚もしくは運動神経走行であることが考えられる。一方、顎神経節からの投射は、体節間をまたいだ神経走行であり、非常に興味深い。六脚類において顎神経節は大顎・小顎・下唇体節の神経節に由来し、一次味覚中枢として摂食行動に深い関連があることが知られる (Stocker and Schorderet, 1981; Singh, 1997; Wang et al., 2004)。すなわち、カマアシムシ目において前脚により受容された化学物質による刺激は、味覚の中枢である顎神経節に集約されている可能性があり、このような神経走行の存在が前脚の触角の代替機能を裏打ちしていると考えられる。それでは、どのような進化過程により触角の欠失および前脚での化学刺激受容が獲得されてきたのだろうか。

六脚類において、前脚での味覚刺激受容と、味覚神経の顎神経節への投射は直翅目、鱗翅目、双翅目など多くの分類群で広く報告され、これらの味覚刺激受容は摂食のみならず様々な行動

のトリガーとなることが知られている (Minnich, 1921; Wang et al., 2004; Bräunig, 2008)。ここにおいて、カマアシムシ目における前脚での化学刺激受容は、独自の獲得によるものと考えられることも可能である一方で、六脚類の共通祖先で獲得されていた祖先形質である可能性も否定できない。その場合、触角と前脚の両方で化学物質を受容する前適応状態から触角が退化・退縮することにより、カマアシムシ目が現在の形態を獲得してきたと考えることができる。現在、分子系統学などから想定される最も有力な六脚類の姉妹群候補は甲殻類のムカデエビ綱 Remipedia である (Fanenbruck et al., 2004; Misof et al., 2014)。ムカデエビ綱において、六脚類の前脚との相同器官は摂食と深い関わりをもつ頭部の「顎脚」であり、カマアシムシ目同様、付属肢からの化学物質受容を行っている可能性も考えられる。今後はムカデエビ綱を含め、トビムシ目・コムシ目など六脚類の原始系統群での更なる検討が希求される。

以上のように、本研究により、六脚類の脳構造の基本形、およびカマアシムシ目の触角欠失に至る進化シナリオが示された。これらの成果に関し、データをまとめ、論文を執筆中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 福井 眞生子, 町田 龍一郎	4. 巻 52
2. 論文標題 サイコクカマアシムシ <i>Baculentulus densus</i> (Imadate)の後胚発生 頭部内骨格の起源解明に向けて	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the Arthropodan Embryological Society of Japan	6. 最初と最後の頁 49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Tatsuya Itoyama; Makiko Fukui; Masahumi Kawaguchi; Saki Kaneko; Fumiaki Sugahara; Yasunori Murakami	4. 巻 ZLET-D-18-00089R1
2. 論文標題 FGF- and SHH-based molecular signals regulate barbel and craniofacial development in catfish	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Zoological Letters	6. 最初と最後の頁 inprint
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186	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 Takeuchi Yuichi, Hata Hiroki, Maruyama Atsushi, Yamada Takuto, Nishikawa Takuma, Fukui Makiko, Zatha Richard, Rusuwa Bosco, Oda Yoichi	4. 巻 222
2. 論文標題 Specialized movement and laterality of fin-biting behaviour in <i>Genyochoromis mento</i> in Lake Malawi	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Experimental Biology	6. 最初と最後の頁 jeb191676
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jeb.191676	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 該当する
1. 著者名 Makiko Fukui, Mari Fujita, Shigekazu Tomizuka, Yuta MashimoYang Lee, Yasunori Murakami, Ryuichiro Machida	4. 巻 47
2. 論文標題 Egg structure and outline of embryonic development of the basal mantodean, <i>Metallyticus splendidus</i> Westwood, 1835 (Insecta, Mantodea, Metallyticidae)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Arthropod Structure & Development	6. 最初と最後の頁 64-73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016	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 該当する

1. 著者名 Rolf G. BEUTEL, Margarita. YAVORSKAYA, Yuta MASHIMO, Makiko FUKUI and Karen MEUSEMANN	4. 巻 51
2. 論文標題 The Phylogeny of Hexapoda (Arthropoda) and the Evolution of Megadiversity	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 1341-1527	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 該当する

1. 著者名 Yuta Mashimo, Makiko Fukui, Ryuichiro Machida	4. 巻 45
2. 論文標題 Egg structure and ultrastructure of Paterdecolyus yanbarensis (Insecta, Orthoptera, Anostomatidae, Anabropsinae)	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 ARTHROPOD STRUCTURE & DEVELOPMENT	6. 最初と最後の頁 637 - 641
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016	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 Tatsuya Itoyama, Moe Kawara, Makiko Fukui, Yuki Sugahara, Daisuke Kurokawa, Masahumi Kawaguchi, Shin-Ichi Kitamura, Kei Nakayama, Yasunori Murakami	4. 巻 124
2. 論文標題 Nervous system disruption and swimming abnormality in early-hatched pufferfish (Takifugu niphobles) larvae caused by pyrene is independent of aryl hydrocarbon receptors	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 MARINE POLLUTION BULLETIN	6. 最初と最後の頁 792 - 797
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016	査読の有無 無
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 Noguchi K, Ishikawa R, Kawaguchi M, Miyoshi K, Kawasaki T, Hirata T, Fukui M, Kuratani S, Tanaka M, Murakami Y	4. 巻 59
2. 論文標題 Expression patterns of Sema3A in developing amniotelimbs: With reference to the diversification of peripheral nerve innervation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Development, growth & differentiation	6. 最初と最後の頁 270 - 285
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111	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 -

1. 著者名 Fukui M, Fujita M, Tomizuka S, Mashimo Y, Shimizu S, Lee CY, Murakami Y, Machida R	4. 巻 47
2. 論文標題 Egg structure and outline of embryonic development of the basal mantodean, <i>Metallyticus splendidus</i> Westwood, 1835 (Insecta, Mantodea, Metallyticidae).	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Arthropod structure & development	6. 最初と最後の頁 64 - 73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016	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 該当する

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 福井 眞生子・町田 龍一郎
2. 発表標題 カマアシムシ目の頭部内骨格に関する研究 (六脚類)
3. 学会等名 日本節足動物発生学会 第55 回大会 (東京・府中)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福井 眞生子・町田 龍一郎
2. 発表標題 カマアシムシ目の発生学的研究 (六脚類) 頭部内骨格の形態学的検討
3. 学会等名 第40回菅平動物学セミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福井 眞生子・町田 龍一郎
2. 発表標題 サイコクカマアシ ムサイコクカマアシ <i>Baculentuius densus densus</i> (Imadate) の発生学的研究 頭部内骨格の起源解明に向けて
3. 学会等名 第89回日本動物学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福井 眞生子・町田 龍一郎
2. 発表標題 サイコクカマアシムシ <i>Baculentulus densus</i> (Imadate) の後胚発生 - 頭部内骨格の起源解明に向けて -
3. 学会等名 第54回日本節足動物発生学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井垣就・福井眞生子
2. 発表標題 カマアシムシ目の中枢神経系に関する研究
3. 学会等名 第39回管平動物学セミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 澤 眞歩・福井 眞生子
2. 発表標題 バツタ垂目の卵門に関する研究 (昆虫綱・直翅目)
3. 学会等名 第53回節足動物発生学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井垣 就・福井 眞生子
2. 発表標題 環境刺激によるモンシロチョウ <i>Pieris rapae</i> (Linnaeus, 1758) の蛹色決定 - 前蛹期における蛹化基質の影響 - (昆虫綱・鱗翅目・シロチョウ科)
3. 学会等名 第53回節足動物発生学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井垣 就・福井 眞生子
2. 発表標題 サイコクカマアシムシ <i>Baculentulus densus</i> (Imadate, 1960) の中枢神経系に関する研究にむけて向けて (六脚類・カマアシムシ目・クシカマアシムシ科)
3. 学会等名 第38回 菅平動物学セミナー
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福井 眞生子、町田 龍一郎
2. 発表標題 サイコクカマアシムシ <i>Baculentulus densus</i> (Imadate) の発生学的研究 14年目の挑戦 (六脚類・カマアシムシ目)
3. 学会等名 第37回菅平動物学セミナー
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 福井 眞生子、町田 龍一郎
2. 発表標題 サイコクカマアシムシ <i>Baculentulus densus</i> (Imadate) の背閉鎖 (六脚類・カマアシムシ目・クシカマアシムシ科)
3. 学会等名 日本節足動物発生学会 第52回大会 (神奈川・横須賀)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Makiko FUKUI, Ryuichiro MACHIDA
2. 発表標題 Cephalic endoskeleton of <i>Baculentulus densus</i> (Imadate) (Hexapoda: Protura: Acerentomidae): a preliminary embryological study
3. 学会等名 The XIV International Colloquium on Apterygota (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 福井 眞生子, 小林 幸正, 町田 龍一郎	4. 発行年 2019年
2. 出版社 培風館	5. 総ページ数 9
3. 書名 昆虫発生学(下) カマアシムシ目(補遺) Protura	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----