

平成22年 5月 1日現在

研究種目：基盤研究(A)  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18208005  
 研究課題名(和文) 寄生バチの回避機構を利用した昆虫の生体防御システム  
 における多様性の解析  
 研究課題名(英文) Analysis of host immune system by availing of endoparasitoid  
 avoiding-mechanism  
 研究代表者  
 田中 利治 (Toshiharu Tanaka)  
 名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授  
 研究者番号：30227152

## 研究成果の概要：

内部寄生バチが寄生時に寄主体内に注入するポリドナウイルスと毒液の作用によりホストの血球及び脂肪体が特に影響を受ける。脂肪体は、ホストにダメージを与えずに養分を摂取するために使われるものと考えて研究をしてきたが、寄生初期から変化していることなどから、細胞性免疫との関連性を考えついた。特に脂肪体細胞の働きに着目し、細胞性免疫を担う血球細胞との関わりを解明した。脂肪体に含まれている細胞が包囲作用に加わるなどの可能性が今回の研究から示された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	11,100,000	3,330,000	14,430,000
2007年度	5,600,000	1,680,000	7,280,000
2008年度	12,900,000	3,870,000	16,770,000
総計	29,600,000	8,880,000	38,480,000

## 研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫学

キーワード：生体防御反応、ポリドナウイルス、脂肪体細胞、包囲作用、こぶ形成反応、表皮細胞

## 1. 研究開始当初の背景

昆虫類の免疫システムを解明することは、人における自然免疫の機構を明らかにする助けとなる。しかし昆虫の免疫系は抗菌物質やレクチンなどに関する研究がほとんどで細胞性免疫に関することはよくわかっていない。特に顆粒細胞に多くのクラスが存在する

と考えられているが、ほとんど調べられていない。顆粒細胞が異物の周りに集まり、その周りをプラズマ細胞が取り囲むといわれているが、どのように初期認識が起こりさらにプラズマなどの細胞が異物の周りに集まってくるかなど全くわかっていない。

## 2. 研究の目的

昆虫類の持つ生体防御システムは、ヒトなどが持つ自然免疫系と共通する部分が多くあることがわかってきているが、そのシステムはまだ解明されていないことが多い。昆虫類でも鱗翅目昆虫は幼虫期間が長く活発に活動し多くの種に分化した多様性に富むグループである。血球種も豊富なことから高度な免疫機構を備えていると考えられている。中でも顆粒細胞は全体に対しかなりの比率を占めプラズマ細胞と併せて異物認識に重要な役割を持つと考えられる。本研究では顆粒細胞とプラズマ細胞がもつ異物認識機構と血球間の相互作用を明らかにし細胞性免疫機構を解明する。特に本研究の特色として寄生バチに寄生された寄主は生理的に制御され異物認識能が狂わされている。寄生された寄主の血球と正常な血球を比較することで、細胞性防御反応のカスケードを明らかにしていく。

## 3. 研究の方法

蛍光顕微鏡や成立顕微鏡による血球の観察  
血球の細胞培養系の確立  
dsRNA による遺伝子の機能解析  
阻害剤を用いた血球の機能解析

## 4. 研究成果

(1) 包囲化が進んでいる塊からは脂肪体細胞を誘引する物質が出ている。現在この物質の同定中である。脂肪体細胞が細胞性防御反応に関与する可能性を示せた。  
(2) 顆粒細胞の中でもアポトーシス抑制因子 IAP をノックダウンするとカスペース活性が上昇し、チョウ目昆虫では重要な要因であることがわかった。寄生されたホストでどうなっているかは今後の課題となった  
(3) ニューログリアン遺伝子の一部配列を使って RNAi でつぶすと、ノジュール形成反応が抑えられると同時にメラニン形成反応の抑制が起こった  
(4) *Meteorus* に寄生された寄主では顆粒細胞が特異的にアポトーシスを起こすと報告したが、さらに調べるとアポトーシスの前にフィロポディアやラメロポディアの形成が阻害されていることがわかった。異物認識の最初のステップがどうやら明らかになってきたのでこの後どのように血球にアポトーシスを引き起こしていくのかを明らかにした IAP 機能を用いて明らかにしていく。  
(5) ウババチ類は特別な異物の排除機構を持っていることが明らかになった。寄生蜂の卵は包囲化できず体内から排除できないが、こぶを腹部第 13 体節に形成することで底に寄生蜂の卵を排除できることがわかった。その仕組みはクチクラ細胞の移動によることも明らかにした

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件) (全部査読あり)

1. Kanzaki, S., T. Tanaka (2010) Different responses of a solitary (*Meteorus pulchricornis*: Braconidae) and a gregarious (*Cotesia kariyai*: Braconidae) endoparasitoid to four insecticides in the host *Pseudaletia separata* (Noctuidae: Lepidoptera). J. Pestic. Sci. 35;
2. Bautista, M. A. M., T. Miyata, K. Miura, T. Tanaka (2009) RNA interference-mediated knockdown of a cytochrome P450, CYP6BG1, from the diamondback moth, *Plutella xylostella*, reduces larval resistance to permethrin. Insect Biochem. Mol. Biol. 39; 38-46
3. Namba, O., Y. Nakamatsu, K. Tateishi, K. Miura, T. Tanaka (2009) Cuticular encystment of *Autographa migrisigna* eggs by epidermal cell migration. J. Insect Physiol. 55; 629-636.
4. Suzuki, M., K. Miura, T. Tanaka (2008) The virus-like particles of a braconid endoparasitoid wasp, *Meteorus pulchricornis*, inhibit hemocyte spreading in its noctuid host, *Pseudaletia separata*. J. Insect Physiol. 54; 1015-1022
5. Namba, O. Y. Nakamatsu, K. Miura, T. Tanaka (2008) *Autographa nigrisigna* looper (Lepidoptera: Noctuidae) excludes parasitoid egg using cuticular encystment induced by parasitoid ovarian fluid.

- Appl. Entomol. Zool. 43; 359-367.
6. Takai, N. Y. Nakamatsu, J. A. Harvey, K. Miura, T. Tanaka (2008) Brood guarding by females of the hyperparasitoid *Trichomalopsis apanteloctena* on cocoon clusters of its host, *Cotesia kariyai* and its effects on reproduction, development and survival. E. J. Entomol. 105; 855-862
  7. Suzuki, M., K. Miura, T. Tanaka (2008) Effects of the virus-like particles of a braconid endoparasitoid, *Meteorus pulchricornis*, on hemocytes and hematopoietic organs of its noctuid host, *Pseudaletia separata*. Appl. Entomol. Zool. 44: 115-125
  8. Suzuki, M. T. Tanaka (2007) Development of *Meteorus pulchricornis* and regulation of its noctuid host, *Pseudaletia separata*. J. Insect Physiol. 53; 1072-1073.
  9. Nakamatsu, Y, T. Tanaka, J. A. Harvey (2007) *Cotesia kariyai* larvae need an anchor to emerge from the host *Pseudaletia separata*. Archiv. Insect Biochem. Physiol. 66; 1-8.
  10. Sato, E. M, T. Tanaka, T. Miyata (2007) A cytochrome P450 gene involved in methidathion resistance in *Amblyseius womersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae). Pestic. Biochem. Physiol. 88; 337-345.
  11. Nakamatsu, Y. M. Suzuki, J. A. Harvey, T. Tanaka (2007) Regulation of the host nutritional milieu by ecto- and endoparasitoid venom. IN Recent Advances in the Biochemistry, Toxicology, and Mode of Parasitic Wasp Venoms. (Eds, D. Rivers and J. Yoder). Research Signpost, Kerala, India
  12. Harvey, J. A., M. Kos, Y. Nakamatsu, T. Tanaka, M. Dicke, L. E. M. Vet, J. Brodeur, M. Bezemer (2007) Do parasitized caterpillars of protect their parasitoids from hyperparasitoids? A test of the 'usurpation hypothesis'. Anim. Behav. 76; 701-708
  13. Bautista, M. A. M., T. Tanaka, T. Miyata (2007) Identification of permethrin-inducible cytochrome P450s from the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) and the possibility of involvement in permethrin resistance. Pestic. Biochem. Physiol. 87; 85-93.
- [学会発表] (計 23 件)
1. 水口智江可、田中美帆、三浦健、田中利治 (2010) ミカンキイロアザミウマにおける転写因子 *broad-complex* の発現解析。第 54 回日本応用動物昆虫学会大会、2010 年 3 月 28 日、千葉大学西千葉キャンパス
  2. 佐野健志、横井翔、鈴木正洋、田中利治、三浦健 (2010) 寄生蜂の毒液腺で発現する因子のレパトリー。第 54 回日本応用動物昆虫学会大会、2010 年 3 月 26 日、千葉大学西千葉キャンパス
  3. 中松豊、田中利治 (2010) カリヤコマユバチの毒液とポリドナウイルスに調節された寄生後半のホストアワヨトウ幼虫の富栄養血漿について。第 54 回日本応用動物昆虫学会大会、2010 年 3 月 26 日、千葉大学西千葉キャンパス
  4. Minakuchi C, Tanaka M, Miura K, and Tanaka T (2009) Developmental expression profile of the transcription factor that regulates molting and

- metamorphosis of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. 9th International Symposium on Thysanoptera and Tospoviruses 2009/Sep. 1st, Goldcoast, Australia
5. Minakuchi C, Tanaka M, Miura K, and Tanaka T (2009) RNA interference-mediated gene knockdown in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. 9th International Symposium on Thysanoptera and Tospoviruses. 2009/Sep. 1st, Goldcoast, Australia
  6. 三浦健、亀崎将司、横井翔、鈴木正洋、中松豊、田中利治 (2009) アポトーシス抑制因子・ICAD と 14-3-3 タンパク質のアワヨトウからの cDNA クローニングと機能解析。第 53 回日本応用動物昆虫学会大会、2009 年 3 月 29 日、北海道大学
  7. 亀崎将司、横井翔、吉田龍博、鈴木正洋、中松豊、田中利治、三浦健 (2009) アワヨトウのアポトーシス抑制因子 IAP の cDNA クローニングと機能解析。第 53 回日本応用動物昆虫学会大会、2009 年 3 月 29 日、北海道大学
  8. 横井翔、鈴木正洋、中松豊、田中利治、三浦健 (2009) アワヨトウ血球で発現する 2 種の膜蛋白質の cDNA クローニングと機能解析。第 53 回日本応用動物昆虫学会大会、2009 年 3 月 29 日、北海道大学
  9. 吉田龍博、加藤良晃、横井翔、鈴木正洋、中松豊、田中利治、三浦健 (2009) アワヨトウの 2 種のフェノール酸化酵素前駆体の cDNA クローニングと発現機能解析。第 53 回日本応用動物昆虫学会大会、2009 年 3 月 29 日、北海道大学
  10. 加藤良晃、吉田龍博、横井翔、鈴木正洋、中松豊、田中利治、三浦健 (2009) アワヨトウ幼虫体液中の特異な形態と挙動を持つ血球について。第 53 回日本応用動物昆虫学会大会、2009 年 3 月 29 日、北海道大学
  11. Bautista Ma. Anita、三浦健、田中利治 (2009) 二本鎖 RNA の経口投与による RNA 干渉を用いたパーメスリン抵抗性コナガのチトクローム p450, CYP6BG1 の機能解析。第 53 回日本応用動物昆虫学会大会、2009 年 3 月 29 日、北海道大学
  12. 神崎真悟、田中利治 (2009) 各種殺虫剤が体内捕食寄生蜂の発育に与える影響について。第 34 回日本農薬学会大会、2009 年 3 月 18 日、東京大学農学部
  13. 難波修、中松豊、田中利治 (2008) ウワバ幼虫における Cuticular encystment: 内部寄生蜂 *Campoplex chloridae* による cuticular cyst の誘導。第 52 回日本応用動物昆虫学会大会、2008 年、3 月 28 日、宇都宮大学
  14. 鈴木正洋、石田正樹、三浦健、田中利治 (2008) 寄生蜂が持つ Virus-like particle による宿主血球の伸展阻害について。第 52 回日本応用動物昆虫学会大会、2008 年、3 月 27 日、宇都宮大学
  15. 神崎真悟、三浦健、田中利治 (2008) 各種殺虫剤が体内捕食寄生蜂幼虫の発育に与える影響。第 52 回日本応用動物昆虫学会大会、2008 年、3 月 26 日、宇都宮大学
  16. 横井翔、鈴木正洋、中松豊、石田正樹、田中利治、三浦健 (2008) 昆虫の恒常性維持システムの機能抑制による害虫防除の試み I: 血球で発現する接着因子のノックダウンと表現型解析。第 52 回日本応用動物昆虫学会大会、2008 年、3 月 26 日、宇都宮大学
  17. 三浦健、横井翔、鈴木正洋、中松豊、石田正樹、田中利治 (2008) 昆虫の恒常性維

持システムの機能抑制による害虫防除の  
試みⅡ：水チャンネルタンパク質のノック  
ダウンと表現型解析。第 52 回日本応用  
動物昆虫学会大会、2008 年、3 月 26 日、  
宇都宮大学

18. 田中利治、高井直人、中松豊、三浦健、  
JA Harvey (2007) アオムシコマユコバチ  
の宿主資源におけるメス間闘争。第 67  
回昆虫学会大会、2007 年 9 月 16 日、神戸  
大学
19. 難波修、中松豊、田中利治 (2007) ウワバ  
類における Cuticular encystment: 内部  
寄生蜂 *Campoletis chloridae* による  
cuticular cyst の誘導。第 51 回日本応用  
動物昆虫学会大会、2007 年 3 月 29 日、広  
島大学
20. 赤崎里史、中松豊、田中利治 (2007) カリ  
ヤコマユバチ幼虫の栄養摂取を補助する  
テラトサイトの機能について。第 51 回日  
本応用動物昆虫学会大会、2007 年 3 月 29  
日、広島大学
21. 中松豊、赤崎里史、田中利治 (2007) カリ  
ヤコマユバチのテラトサイトの機能につ  
いて。第 51 回日本応用動物昆虫学会大  
会、2007 年 3 月 28 日、広島大学
22. 鈴木正洋、田中利治 (2007) 寄生蜂が持つ  
Virus-like particle がホストの血球およ  
び造血機構に与える影響 第 51 回日本応  
用動物昆虫学会大会、2007 年 3 月 28 日、  
広島大学
23. Bautista Ma. Anita, Tanaka Toshiharu  
(2007) Induced-expression of *Plutella*  
*xylostella* cytochrome P450 genes upon  
exposure to permethrin. 第 51 回日本応用  
動物昆虫学会大会、2007 年 3 月 28 日、広  
島大学

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田中 利治 (Tanaka, Toshiharu)  
名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授  
研究者番号：30227152

### (2) 研究分担者

池田 素子 (Ikeda, Motoko)  
名古屋大学・大学院生命農学研究科・准教授  
研究者番号：20262892  
川北 一人 (Kawakita, Kazuhito)  
名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授  
研究者番号：90186065