

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：34504

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K14798

研究課題名(和文)社会性昆虫における社会性免疫機構の網羅的解明

研究課題名(英文) Investigation of social immune systems in eusocial insects

研究代表者

下地 博之 (SHIMOJI, Hiroyuki)

関西学院大学・生命環境学部・助教

研究者番号：50726388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：日本産トゲオオハリアリのワーカーに特異的な共生細菌が病原性微生物に対する防衛に寄与することを明らかにした。この効果は、巣内で働く内役ワーカーに比べて巣外で働く外役ワーカーで高かった。また、外役ワーカーに比べて内役ワーカーで複数も免疫関連遺伝子が高発現している事を明らかにした。これらの結果は、外役ワーカーの低い防衛能力が共生細菌によって補われている事を示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アリやミツバチなどの真社会性昆虫は個体間相互作用を基盤として高度な分業体制を築き、様々な環境に適応している。多くのアリは地中に巣を作り高密度環境下で生活しているため、巣の外から持ち込まれる病原性微生物に対する防衛機構が進化していると考えられている。本研究では、老齢になり免疫能力の下がった外役ワーカーが共生細菌を保持することによって、病原性微生物感染に対して生存力が向上することを明らかにした。これらの結果は、社会性昆虫の免疫機構に新しい視点をもたらすものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Using a queenless ant *Diacamma cf. indicum* from Japan, we revealed that worker-specific symbiont bacterium (Firmicute symbiont) increases the survival rate of workers infected by a pathogen. Interestingly, the protective effect was higher in the foragers than in the nurses. However, some immune-related gene expressions of nurses were upregulated compared with those of the foragers. Therefore, these results suggest that a specific symbiont would be a key to protecting the foragers with physiologically low-immune levels against pathogenetic bacteria.

研究分野：進化生態学

キーワード：分業 共生細菌 免疫 社会性昆虫 アリ

1. 研究開始当初の背景

真社会性ハチ目昆虫であるアリは、コロニーと呼ばれる単位で集団生活し、個体間の高度な分業体制を基盤として様々な環境で優占している。このような社会における分業は、個体間の相互作用によって維持されている。その一方で、個体間相互作用はコロニー内での病気の伝播を引き起こす可能性がある。それに対して、個体レベルに加えてコロニーレベル (社会性免疫: Cremer et al., 2007) の病原体に対する防御機構が進化していると考えられている。社会性免疫機構は、例えば、巣内での個体間の接触を制限することで女王や次世代を担う幼虫へ病原性微生物の感染を防ぐことや、ゴミや排泄物を一箇所に集めることで感染リスクを管理することである。また、一部の社会性昆虫では共生細菌が病原性微生物への抵抗性を高めることが知られている。このように個体からグループまで異なる階層で免疫機構が存在しているが、これらの繋がりを網羅的に調べた研究は希薄である。

2. 研究の目的

本研究では、アリの一種である日本産トゲオオハリアリ (*Diacamma cf. indicum* from Japan) を用いて、個体レベルから集団レベルの免疫機構を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では以下の 4 種類の実験をおこなった。(1)まず初めに、野外採集したコロニーの各カースト (女王・ワーカー・オス) の細菌叢を調べるために、Miseq を用いて網羅的な解析をおこなった。その結果、ワーカーでのみ優占的に存在する 1 種の細菌 (Firmicute symbiont) が発見された。この共生細菌が発生段階のどのステージで獲得されるか調べるために、次に野外から採集した幼虫、蛹、内役ワーカー (若齢ワーカー)、外役ワーカー (老齢ワーカー) から DNA 抽出をおこない、Firmicute symbiont 特異的プライマーを用いてリアルタイム qPCR によって保持量を定量した。さらに、解剖して取り出した消化器官及びワーカーの糞を対象に Firmicute symbiont 特異的プローブを用いて FISH 法で染色して顕微鏡観察をおこなった。(2)次に、Firmicute symbiont の機能を調べるために、4 種類の抗生物質のカクテルをワーカーに経口摂取させることで Firmicute symbiont 除去が可能かどうか調べた。次に抗生物質処理後に Firmicute symbiont が含まれる糞を経口摂取させることで Firmicute symbiont の再獲得が可能かどうか調べた。除去と再獲得の評価はリアルタイム qPCR と FISH 法を用いた顕微鏡観察から定量的・定性的におこなった。次に、抗生物質によって Firmicute symbiont を除去した内役ワーカーと外役ワーカーそれぞれに昆虫病原性細菌 *Pseudomonas entomophila* の生菌を経口摂取させた処理区と、通常状態 (抗生物質処理を施していない) の外役ワーカーと内役ワーカーに同様に摂取させてそれぞれの生存率を測定した。(3)次に、個体の免疫レベルを調べるために、免疫関連遺伝子である *Imd*, *Toll*, *Defensin*, *Hymenoptaecin* に焦点を当てて野外から採集した女王と内役ワーカーと外役ワーカー、室内飼育をおこない内役ワーカーと外役ワーカーのそれぞれから RNA を抽出し、上記遺伝子の相対発現量を調べた。さらに、*P. entomophila* を経口摂取してから 1, 3, 12 時間でのそれぞれの遺伝子の発現量を内役ワーカーと外役ワーカーのそれぞれで比較した。(4)次に複数の巣室を持つ実験巣でコロニーを飼育し、巣内の糞置き場として使用される巣室と女王の巣室滞在頻度の関係を調べるために行動観察をおこなった。同時に、それぞれの巣室から DNA 抽出をおこない、リアルタイム qPCR を用いて Firmicute symbiont の定量をおこなった。

4. 研究成果

(1)本研究の結果、トゲオオハリアリのワーカーに特異的な腸内共生細菌 Firmicute symbiont が発見された (Shimoji et al. 2021)。また、Firmicute symbiont は幼虫時には存在せず内役ワーカー時に獲得され、外役ワーカーでは十分な量の Firmicute symbiont が存在する事がわかった。これらの結果から、Firmicute symbiont は成虫時に獲得され、加齢と共にワーカーに定着し、ワーカー間の分業と保持量が関連している可能性が示唆された。(2)抗生物質カクテルをワーカーに摂取させた結果、1 週間の連続投与によって Firmicute symbiont を除去できることがわかった。さらに、Firmicute symbiont 除去個体とワーカーの糞を接触させることで、Firmicute symbiont がワーカーに再獲得されることが定量的・定性的に示された。Firmicute symbiont 除去個体とコントロール個体に *P. entomophila* を摂取させた結果、内役ワーカーと外役ワーカーの両カーストにおいて、Firmicute symbiont 保持個体で生存率が高くなることがわかった。さらに、この効果は内役ワーカーに比べて外役ワーカーで高いことが示された。これらの結果から、Firmicute symbiont は病原性微生物に対するワーカーの防衛能力を強化する機能を持つことが示唆された。(3)野外採集したワーカーでは内役ワーカーに比べて外役ワーカーで *Hymenoptaecin* の発現量が高いことがわかった。その一方で、室内飼育の個体では、外役ワーカーに比べて内役ワーカーで *Toll* 及び *Defensin* の発現量が高いことが示された。さらに、*P. entomophila* 摂取からの遺伝子発現量の経時変化のパターンが外役ワーカーと内役ワーカーで異なり、外役ワーカーは内役ワーカーに比べて早いタイミングで免疫関連遺伝子が高発現することがわかった。これらの結果から、野外での

抗菌ペプチドの高発現は何かしらの微生物感染を間接的に示すもので、外役ワーカーが病原性微生物を巣内へ持ち込む可能性を示唆する結果だと考えられる。その一方で、野外に比べて微生物感染がコントロールされた室内飼育では、内役ワーカーがデフォルトで免疫活性が高いことが示唆されたが、病原性微生物に対する応答は外役ワーカーの方が早いと考えられる。また、興味深いことに女王ではデフォルトで免疫活性が高く、これは繁殖と免疫活性のトレードオフを打破している可能性が考えられる。(4)複数の巣室を持つ実験巣でコロニーを飼育した結果、1または2つの巣室が糞置き場として形成されることがわかった。また、女王の滞在する巣室と糞置き場の関係を調べた結果、女王は糞置き場にはほとんど滞在しないことがわかった。さらに、それぞれの巣室の Firmicute symbiont の量を定量した結果、女王は相対的に Firmicute symbiont の量が少ない部屋に滞在していることが明らかになった。これらの結果は、巣内で糞を蓄積する部屋を設けてリスクをコントロールしていると共に、病気の感染源である糞の堆積された部屋に女王が近づかないことで、女王への感染がコントロールされていると考えられる。また、同時に、女王への Firmicute symbiont への感染も妨げられた結果、ワーカー特異的な共生が生じていることが示唆される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Shimoji Hiroyuki, Dobata Shigeto	4. 巻 377
2. 論文標題 The build-up of dominance hierarchies in eusocial insects	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1098/rstb.2020.0437	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 Shimoji Hiroyuki, Itoh Hideomi, Matsuura Yu, Yamashita Rio, Hori Tomoyuki, Hojo Masaru K., Kikuchi Yoshitomo	4. 巻 1
2. 論文標題 Worker-dependent gut symbiosis in an ant	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ISME Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s43705-021-00061-9	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 Sasaki Ken, Okada Yasukazu, Shimoji Hiroyuki, Aonuma Hitoshi, Miura Toru, Tsuji Kazuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Social Evolution With Decoupling of Multiple Roles of Biogenic Amines Into Different Phenotypes in Hymenoptera	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fevo.2021.659160	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 S. Miyazaki H. Shimoji R. Suzuki I. Chinushi H. Takayanagi H. Yaguchi T. Miura K. Maekawa	4. 巻 30
2. 論文標題 Expressions of conventional vitellogenin and vitellogenin like A in worker brains are associated with a nursing task in a ponerine ant	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Insect Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 113-121
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/imb.12682	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 Oguchi Kohei, Sugime Yasuhiro, Shimoji Hiroyuki, Hayashi Yoshinobu, Miura Toru	4. 巻 10
2. 論文標題 Male neotenic reproductives accelerate additional differentiation of female reproductives by lowering JH titer in termites	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-66403-0	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 H. Shimoji, N. Kasutani, S. Ogawa, M.K. Hojo	4. 巻 74
2. 論文標題 Worker propensity affects flexible task reversion in an ant.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Behavioral Ecology and Sociobiology	6. 最初と最後の頁 92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00265-020-02876-3	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 Shimoji H, Mizumoto N, Oguchi K, Dobata S	4. 巻 45
2. 論文標題 Caste biased locomotor activities in isolated termites.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Physiological Entomology	6. 最初と最後の頁 50-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/phen.12315	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 Uematsu J, Hayashi M, Shimoji H, Salazar MOL, Tsuji K	4. 巻 37
2. 論文標題 Context dependent aggression toward non nestmates in the ant <i>Diacamma</i> sp. from Japan.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Ethology	6. 最初と最後の頁 259-264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10164-019-00611-8	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 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 下地博之・稲垣辰哉
2. 発表標題 動物と微生物の複雑な共生関係を紐解く
3. 学会等名 日本生態学会第69回
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 下地博之
2. 発表標題 アリ社会の分業維持と自己組織化の関係
3. 学会等名 第 40 回日本動物行動学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 下地博之
2. 発表標題 共生微生物が切り開く行動生態学の新展開
3. 学会等名 第 40 回日本動物行動学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rio YAMASHITA, Yu MATSUURA, Hideomi ITO, Masaru K HOJO, Yoshitomo KIKUCHI, Hiroyuki SHIMOJI
2. 発表標題 A pseudo-vertical transmission of bacterial symbiont in an ant
3. 学会等名 日本生態学会第68回
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石塚優介, 松浦優, JANG Seonghan, 田中康就, 北條賢, 菊池義智, 下地博之
2. 発表標題 アリにおける個体間の分業と免疫活性の関係
3. 学会等名 日本生態学会第68回
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下 倫桜, 松浦 優, 伊藤 英臣, 北條 賢, 菊池 義智, 下地 博之
2. 発表標題 アリにおける腸内共生細菌の新規伝播様式
3. 学会等名 第65回日本応用動物昆虫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中 康就, 北條 賢, 下地 博之
2. 発表標題 アリの柔軟な分業の再構築における日齢とタスク経験の関係
3. 学会等名 第65回日本応用動物昆虫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 下地博之, 糟谷奈那, 北條賢
2. 発表標題 ワーカーの日齢が行動の可塑性へ与える影響
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下倫桜, 松浦優, 伊藤英臣, 北條賢, 菊池義智, 下地博之
2. 発表標題 日本産トゲオオハリにおける共生細菌の伝播様式の解明
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 下地 博之, 小川 真也, 矢口甫, 宮崎智史, 前川清人, 北條賢
2. 発表標題 日本産トゲオオハリアリにおけるワーカー間分業とVg-like 遺伝子の関係
3. 学会等名 応用動物昆虫学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 下地 博之(関西学院大学)、伊藤 英臣(産総研)、松浦 優(琉球大学)、菊池 義智(産総研)
2. 発表標題 Hidden diversity under ground: ant- and nest-associated bacterial communities revealed by meta-genomic analyses
3. 学会等名 International Union for the Study of Social Insects 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 下地 博之(関西学院大学)、伊藤 英臣(産総研)、松浦 優(琉球大学)、菊池 義智(産総研)
2. 発表標題 メタゲノムで解き明かすトゲオオハリアリの細菌叢 -社会に潜むその多様性と分布-
3. 学会等名 日本微生物生態学会第32回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 下地 博之(関西学院大学)、伊藤 英臣(産総研)、松浦 優(琉球大学)、菊池 義智(産総研)
2. 発表標題 メタゲノム解析によって明らかにされたアリのバクテリア叢の多様性
3. 学会等名 第66回日本生態学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔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
研究協力者	松浦 優 (MATSUURA Yu)		
研究協力者	伊藤 英臣 (ITOH Hideomi)		
研究協力者	菊池 義智 (KIKUCHI Yoshitomo)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------