

令和 5 年 4 月 6 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19H02970

研究課題名（和文）昆虫の局所的な変形を制御する発生機構とその進化

研究課題名（英文）Development and evolution of heteromorphosis in insects

研究代表者

大出 高弘（Ohde, Takahiro）

京都大学・農学研究科・助教

研究者番号：60742111

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,100,000円

研究成果の概要（和文）：コオロギのような不完全変態昆虫は、幼虫の間に体の特定の部位を変形させることによって、翅や産卵管といった成虫の機能に必要な部品を作り上げる。本研究は、このような独立した体の局所的な変形に共通して、Hippo、Wnt、Fat-Dachsousシグナリングという3つのシグナル伝達経路によって構成される進化的に保存された成長シグナルが働くことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

昆虫が地球上で大繁栄できた要因として、動力飛行を可能とした胸部の翅や、甲虫頭部の角、ハサミムシ尾部のハサミのような新奇形態の獲得による環境への適応が挙げられる。これらの新奇形態はいずれも体の局所的な変形により形成される。本研究の学術的意義は、このように多様な新奇形態進化の背景に共通した成長シグナルが関与する可能性を示したことにある。今後この発見を基盤として、同様の成長シグナルを特定の場所で活性化させる機構を解明することにより、多様な昆虫形態創出の仕組み、ひいては地球上で昆虫が繁栄できた要因と、変動する環境下における将来的な進化可能性の理解につながると期待される。

研究成果の概要（英文）：Hemimetabolous insects, such as crickets, transform specific body parts during larval development to create the parts necessary for adult function, such as wings and ovipositors. This study shows that evolutionarily conserved growth signals composed of three signaling pathways, namely Hippo, Wnt, and Fat-Dachsous signaling, act in common to local modifications of independent body parts.

研究分野：進化発生学

キーワード：形態進化 多様性 新奇形態 昆虫 翅

1. 研究開始当初の背景

昆虫は記載されている限りでも既に 100 万種以上を数える地球上最大の動物分類群である。この種数の多さに比例して、多様な形態を示すことは昆虫の大きな特徴である。驚くべきことに、多様な形態を示しながらも、ボディプラン（基本的な体の構築）には系統内で高い保存性が見られる。例えば、カブトムシの角は明らかに他の多くの昆虫が形成しない構造物であるが、その実体はあらゆる昆虫が形成する頭部の形態学的部品である *clypeolabrum* が変形したものである (Ohde *et al.*, 2018)。つまり、昆虫が示す多様な形態創出の鍵となるのは、基本的ボディプランを形成した後、あるいは形成しながら、局所的に体の一部を変形する能力にある。実際に、翅をはじめとして、例えばメスの産卵管や、ツノゼミのヘルメットなど、昆虫は胚発生の間にボディプランを形成した後、後胚発生において脱皮を繰り返す過程で、局所的に形態を改変し成虫形態を形成する。このような脱皮に伴う形態改変のタイミング、すなわち「いつ」については、昆虫種間で進化的に保存された内分泌因子群によって制御されることが明らかとなってきた (Belles & Santos, 2015)。その一方で、「どこ」を変形するかを規定する仕組み（発生学的問い）、そして、種ごとに異なる体の部位で変形が起こる仕組み（進化学的問い）、の二点については理解が進んでいない。その主な原因は、昆虫発生学、特に分子レベルでの解析は、ショウジョウバエやコクヌストモドキといった限られた種の完全変態昆虫類で集中的に進んできていることにある。完全変態昆虫は、幼虫、蛹、成虫と大幅な全身的形態改変を伴うため、変形する部位と変形しない部位の違いを見出すことが困難である。一方で、祖先的な発生様式を示す不完全変態昆虫や無変態昆虫では、脱皮に伴って顕著に変形する部位（変形部位）と変形しない部位（非変形部位）の違いが明確であるが、これまで技術的な制約や適切なモデルの不在から、研究が進んでこなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、局所変形によって形成される翅の発生をモデルとして、フタホシコオロギとマダラシミの二種を対象とした発生学的調査により、上に示した発生学的問いと進化学的問いの両方に答えることを目的とした。フタホシコオロギは変形/非変形部位の違いが明確な不完全変態昆虫であり、また、発生生物学のモデルとして RNAi やゲノム編集といった先端技術が確立されてきた種である。一方マダラシミは、翅を獲得する以前の体制を示す無翅昆虫であるため、胸部の局所変形により昆虫が翅を獲得した進化機構を理解する上で適したモデルである。

3. 研究の方法

(1) 翅マーカー遺伝子群を利用したフタホシコオロギにおける翅原基領域の推定

不完全変態昆虫において将来翅を形成する翅原基細胞群がいつ、どのように規定されるのか、という点は不明であった。そこで、キイロショウジョウバエの翅発生において中心的な役割を果たす 3 つの遺伝子をマーカーとして、フタホシコオロギにおける翅原基領域の探索を行った。さらに、CRISPR/Cas9 を利用してそれぞれの遺伝子のモザイクのノックアウト個体の作出、または翅原基候補領域の物理的切除を行ったのちに、翅発生への影響を調査することで、翅原基領域としての確からしさを検証した。

(2) トランスクリプトーム解析によるフタホシコオロギの翅成長機構の解明

不完全変態昆虫で翅原基領域が決定された後、変形を通して機能的な翅が形成される背景にあ

る分子機構は謎に包まれていた。(1)より特定された翅原基領域において発現変動する遺伝子群を RNA-seq 解析により網羅的に同定した。同定された候補遺伝子群にそれぞれについて RNAi を利用してノックダウンすることで翅形成における機能を調査した。

(3) マダラシミにおける翅マーカー遺伝子群の発現解析

新たな局所変形の変形による形態進化機構を明らかにするため、マダラシミにおいて(1)と同様の翅マーカー遺伝子発現パターンを調査した。

4. 研究成果

(1) フタホシコオロギの翅は側背板領域に由来する

フタホシコオロギ胚における翅マーカー遺伝子群の発現解析の結果、側背板と側板の2つの領域において局在した発現を示した。それぞれの領域で翅マーカー遺伝子を発現する細胞の発生運命をさらに調査するため、ゲノム編集技術を用いて遺伝子発現レポーター系統を作出した。その結果、側背板領域の細胞が翅の形成に寄与する一方で、側板領域の細胞は筋肉を形成することが示唆された。また、翅マーカー遺伝子群のモザイクノックアウトの結果、幼虫において側背板領域が欠損すること、さらに側背板領域が欠損した個体では成虫の翅形成が阻害されることが明らかとなった。さらに、幼虫期に背板の異なる領域を物理的に切除して成虫の翅形成への影響を調査した結果、側背板領域の特定の部位を切除した場合に翅形成がほぼ完全に阻害された。以上の結果は、フタホシコオロギ成虫の翅は、胚期に形成される側背板領域に由来することが明らかとなった (Ohde *et al.*, 2022)。

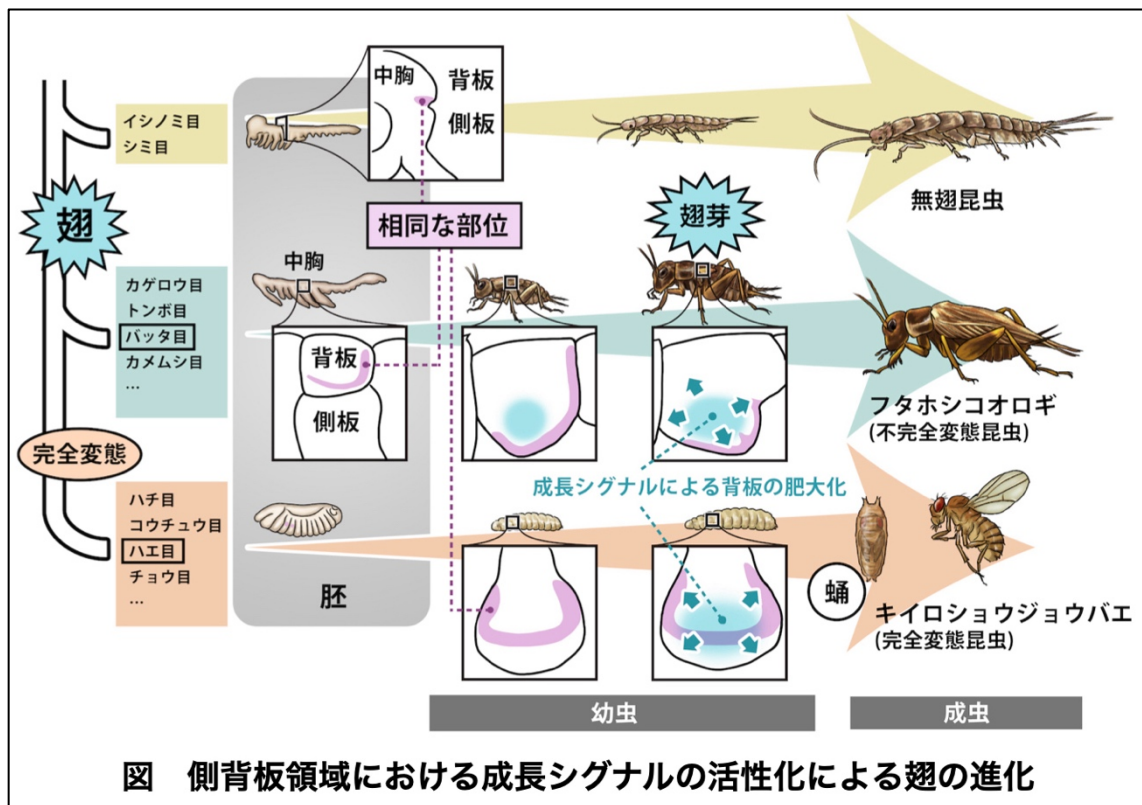
(2) フタホシコオロギ幼虫期の局所変形に Hippo/Wnt/Ft シグナリングが関与する

(1)の結果を受けて、フタホシコオロギ三齢幼虫の背板側方(側背板)領域と背板中央領域におけるトランスクリプトームを RNA-seq により比較した。その結果、側背板領域で複数のシグナル伝達経路を構成する遺伝子群が高発現することが明らかとなった。中でも、Hippo/Wnt/Ft の3つのシグナル伝達経路は、キイロショウジョウバエの翅原基において、互いの相互作用によりフィードフォワードサーキットを形成し、終齢幼虫における翅領域の爆発的な成長を促進することが知られている (Zecca & Struhl, 2010)。これらのシグナル経路構成遺伝子群を含む、側背板領域で高発現する遺伝子のフタホシコオロギの翅成長における機能を明らかにするため、RNAi を利用して33個の遺伝子ノックダウンを行い、翅形成への影響を調査した。その結果、Hippo/Wnt/Ft シグナルを構成する各遺伝子をノックダウンした個体では、成虫の翅サイズが減少した。また、翅のみならず、触角および雌成虫の産卵管についてもサイズが減少した。触角や産卵管は、翅と同様に幼虫発生期間に脱皮を通じてサイズが著しく増加する器官である。以上の結果から、幼虫期における局所変形には Hippo/Wnt/Ft の3つのシグナルによる組織の成長が重要であることが判明した (Ohde *et al.*, 2022)。

(3) 無翅昆虫と有翅昆虫の間で胚期の側背板における遺伝子発現に重大な違いがある

最初に翅を獲得した昆虫は不完全変態昆虫であり、上述の結果は Hippo/Wnt/Ft が構成する成長シグナルが祖先無翅昆虫の側背板領域において活性化したことが翅の獲得につながったことを示唆する(図)。しかしこれまで、無翅昆虫の側背板発生機構に関する情報がなく、具体的に側背板発生過程がどのように変化したことが翅の進化につながったのか、という点は謎に包まれている。そこで、現生の無翅昆虫であるマダラシミをモデルとして、フタホシコオロギと同様に翅マーカー遺伝子の発現パターンを調査した。その結果、翅原基領域を形成するフタホシコオロ

ギ胚期の発現と比較して、マダラシミ胚期における対応領域での相同遺伝子の発現パターンは、一部類似性が認められながらも、大きな違いがあることが明らかとなった。ここから、この遺伝子発現パターンの違いが、幼虫期における局所的な変形を介した翅形成の有無の決定要因となっている可能性が示唆された。



<引用文献>

- Belles, X., & Santos, C. G. (2014) The MEKRE93 (Methoprene tolerant-Krüppel homolog 1-E93) pathway in the regulation of insect metamorphosis, and the homology of the pupal stage. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 52, 60–68.
- Ohde, T., Morita, S., Shigenobu, S., Morita, J., Mizutani, T., Gotoh, H., ... Niimi, T. (2018) Rhinoceros beetle horn development reveals deep parallels with dung beetles. *PLoS Genet.*, 14, e1007651.
- Ohde, T., Mito, T., & Niimi, T. (2022) A hemimetabolous wing development suggests the wing origin from lateral tergum of a wingless ancestor. *Nat. Commun.* 13, 979.
- Zecca, M., & Struhl, G. (2010) A Feed-Forward Circuit Linking Wingless, Fat-Dachsous Signaling, and the Warts-Hippo Pathway to Drosophila Wing Growth. *PLoS Biol.* 8, e1000386.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takahiro Ohde, Taro Mito, Teruyuki Niimi	4. 巻 13
2. 論文標題 A hemimetabolous wing development suggests the wing origin from lateral tergum of a wingless ancestor	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 979
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-022-28624-x	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 Takahiro Ohde, Toshinori Minemura, Eiichi Hirose, Takaaki Daimon	4. 巻 164
2. 論文標題 Egg microinjection and efficient mating for genome editing in the firebrat <i>Thermobia domestica</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 e61885
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3791/61885	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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 3件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大出高弘
2. 発表標題 フタホシコオロギの翅の発生的起源が示す昆虫の翅進化機構
3. 学会等名 第57回日本節足動物発生学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大出高弘
2. 発表標題 エボデボから考える昆虫翅の進化シナリオ
3. 学会等名 第81回日本昆虫学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takahiro Ohde, Taro Mito, Teruyuki Niimi
2. 発表標題 A hemimetabolous wing development implicates an essential step for novel insect wing evolution
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大出高弘・大門高明
2. 発表標題 hyPBaseを用いた高効率での遺伝子組換えコオロギの作出
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 大出高弘・三戸太郎・新美輝幸
2. 発表標題 フタホシコオロギの翅発生から探る翅の進化的起源
3. 学会等名 日本動物学会第90回大阪大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松山涼・大出高弘
2. 発表標題 フタホシコオロギの触角場形成に関するホメオボックス遺伝子の発見
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 大出高弘
2. 発表標題 昆虫の翅：その由来と多様な形づくりへの貢献
3. 学会等名 日本古生物学会2022年年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松山涼・大門高明・大出高弘
2. 発表標題 フタホシコオロギにおける頭部付属肢の進化的起源
3. 学会等名 日本動物学会第93回早稲田大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大出高弘・三戸太郎・新美輝幸
2. 発表標題 昆虫の新奇な翅の進化をもたらした発生プロセスの変化
3. 学会等名 日本動物学会第93回早稲田大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 門嶋真奈・大門高明・大出高弘
2. 発表標題 フタホシコオロギにおけるBTBドメインタンパク質の変態制御における機能
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2023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 分担 者	三戸 太郎 (Mito Taro) (80322254)	徳島大学・バイオイノベーション研究所・教授 (16101)	

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