

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：82111

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19352

研究課題名（和文）液性免疫を司る経路の使い方は個体ごとにゆらぐ？

研究課題名（英文）Does the use of pathways controlling humoral immunity fluctuate?

研究代表者

西出 雄大（Nishide, Yudai）

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・主任研究員

研究者番号：50558096

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：昆虫における液性免疫の研究はショウジョウバエを用いて研究されてきた。しかし、遺伝的に均質化されたモデル昆虫が故に、系統間や個体間での差異は見逃されてきた可能性がある。研究代表者の西出は、これまでにチャバネアオカメムシを用いて、液性免疫の作用経路の制御が系統間で異なる可能性を見出した。また研究を進めることで、同じ場所で採集したメスをそれぞれ単独飼育し、系統化した場合でも液性免疫の使い方に違いがあることを発見した。今後はチャバネアオカメムシでの結果をRNAseqなどで確かめすこと、そして他の昆虫でも起こっているのかを確かめたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

昆虫においても免疫は体を守る重要な機構である。その機構は、ある種では代表的な系統を使って明らかにした気になっていた、しかし、系統間でも異なる可能性を示すことは、大いに意義があり、学術的な波及効果は大きいだろう。

免疫はこれまでにない害虫防除の方法を産み出す可能性のあるものである。本研究で用いたチャバネアオカメムシは害虫であるし、カメムシ目昆虫は多くの害虫を含む。また、昆虫で見つかったToll経路を司る遺伝子"Toll"はヒトのToll like receptor (TLR)と相同遺伝子であることから、脊椎動物の免疫研究に影響を与える可能性もある。

研究成果の概要（英文）：Humoral immunity in insects has generally been studied in *Drosophila*.

However, differences between strains may have been overlooked because of the genetically homogenised model insects such as *Drosophila*. We have previously presumed that the mechanisms regulating the activation of humoral immunity may differ between strains using stinkbug, *Plautia stali*. In this study, we discovered that the use of humoral immunity differs even when strains originated a few females that collected at the same location. In the future, we would like to confirm the results in the brown tree stink bug using RNAseq and other methods, and to see if this is also the case in other insects.

研究分野：昆虫免疫

キーワード：液性免疫 Imd経路 Toll経路 抗菌ペプチド

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

細菌やウイルスに対抗する免疫は血球による貪食作用などの細胞性免疫と、体液への抗菌性タンパク質の放出などによる液性免疫に大別される。本研究は、昆虫における液性免疫に関する研究である。昆虫における液性免疫の研究は1970年代からキイロショウジョウバエを用いて研究され、キイロショウジョウバエのTollがヒトのtoll like receptor (TLR)と相同であり、昆虫と脊椎動物で相同の経路が免疫を担っていることから注目され、大きな盛り上がりを見せた。しかし、キイロショウジョウバエの系統間での免疫の使い方に注目した研究は多くは無い。

2. 研究の目的

本研究課題は、遺伝的に均一なモデル昆虫であるショウジョウバエで見過ごされてきた、個体間の液性免疫経路の使い方の違いをチャバネアオカメムシの液性免疫で見つけ、液性免疫に関する新常識を作ることを目指す研究である。

まずはチャバネアオカメムシでの液性免疫に関する研究を進め、この仮説を確かなものにする。また、キイロショウジョウバエの様々な系統を用いた研究を行うことで、これまで見逃されてきた液性免疫に関する現象を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

チャバネアオカメムシにおいて、野外から採集したメスを単独飼育し、3世代以上近親交配させたものを複数作成して実験を行った。行った実験内容は、IMD経路またはToll経路の遺伝子をRNAiしたのちに、大腸菌のペプチドグリカンを経路内に注射した際、各抗菌性タンパク質の発現を定量PCRで見た。これにより、各抗菌性タンパク質の発現がIMD経路によって制御されているのか、それともToll経路によって制御されているのかを推定した。

4. 研究成果

これまでに得られていた、元々飼育系統として確立した系統間で違いが見られていた(図1)。ただし、これらは採集された場所も、飼育され始めた年度も、そして飼育方法も異なるものであり、これらの系統間の違いが本当に意味のあるものなのか、よく分からなかった。

そこで、本研究課題では、野外からメスを採集し、それを単独飼育することで系統化し、この野外採集から直近で作られた系統における抗菌性タンパク質の発現を見た。その結果、抗菌性タンパク質の発現に関わる経路に系統ごとの揺らぎがみられた(図2)。つまり、同じ抗菌ペプチドを発現させるために、ある系統ではIMD経路が、他の系統ではToll経路が主に関与することが見られた。特に、同じ場所から採集された個体由来の系統間でもある抗菌性タンパク質の発現が異なる経路による制御が見られた。例えば、Defensin2は揺らぎが大きく、「つくば1」系統ではDefensin2の発現はIMD経路とToll経路がそれぞれ約50%の寄与率を示した一方、

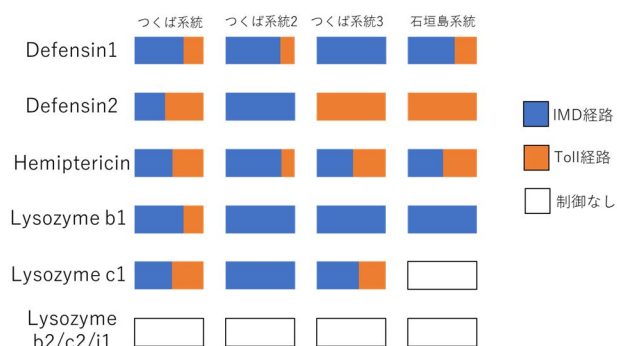


図1 飼育系統における各抗菌性タンパク質の発現に寄与する経路
青色がIMD経路によって制御されている割合、オレンジがToll経路によって制御されている割合。
例えば、Defensin2はつくば系統2ではIMD経路によってのみ制御されているが、つくば系統3ではToll経路によってのみ制御されている。

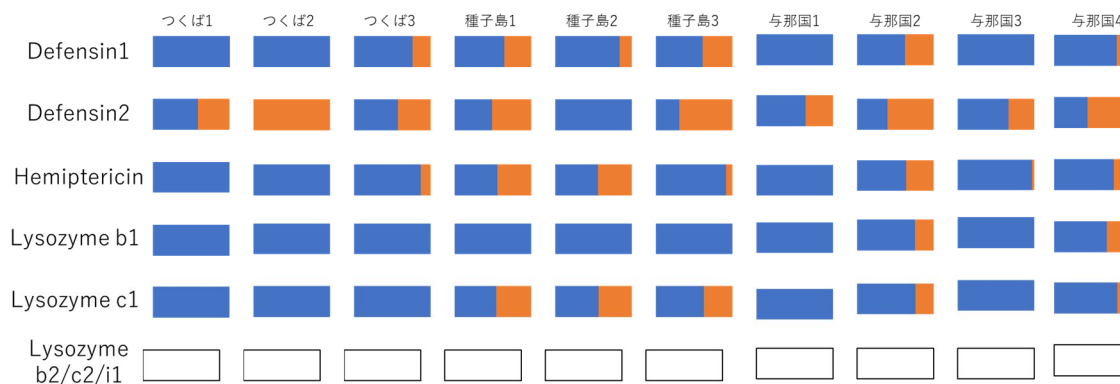


図2 新たに作成した系統における各抗菌性タンパク質の発現に寄与する経路

青色がIMD経路によって制御されている割合、オレンジがToll経路によって制御されている割合。
例えば、同じ場所で採集されたメスから作成した2系統、つくば1とつくば2ではDefensin2の発現経路が異なる。同様に、種子島で採集された個体由来の系統間や与那国島で採集された個体由来の系統でも異なる点が見られる。

「つくば2」系統では Toll 経路のみによって制御されていた。同じように、種子島で採集したメス由来の複数の系統でも Defensin2 の発現は IMD に制御されている系統とほとんど Toll 経路に制御されている系統が見られた。これらの結果は、同所的に住む個体でも個体ごとに抗菌性タンパク質の発現に関わる経路が揺れていることを意味する。ここで示した以外でも、野外で採集したメス由来の系統を 20 以上作成し、抗菌性タンパク質の発現に関わる経路の推定を行った。

また、これらの結果を受けてキイロショウジョウバエでの実験も行う予定であったが、研究代表者の西出がショウジョウバエを扱った経験が乏しいことなどによって、うまく実験を進めることが出来なかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	森山 実 (Moriyama Minoru) (30727251)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任 研究員 (82626)	
研究分担者	春本 敏之 (Harumoto Toshiyuki) (60727387)	京都大学・白眉センター・特定助教 (14301)	

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