

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：24302

研究種目：挑戦的研究(開拓)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H06260

研究課題名(和文) 虫こぶはなぜできる? : 昆虫が持つ植物発生プログラムハッキング能力の謎に迫る

研究課題名(英文) Understanding the mechanism of hacking plant development using gall inducing insects

研究代表者

大島 一正 (Ohshima, Issei)

京都府立大学・生命環境科学研究科・准教授

研究者番号：50466455

交付決定額(研究期間全体) : (直接経費) 19,800,000円

研究成果の概要(和文) : 植物を餌とする昆虫類の中には、単に植物を食べるだけでなく、自身の住処となり、かつ自らが欲しい栄養成分をふんだんに含んだ「虫こぶ insect gall」と呼ばれる構造を作らせる種が知られている。このような巧みな植物操作がどのように行われ、そしてどのような昆虫の遺伝子が関与しているのかに関しては、興味は持たれていたが、そもそも実験的に飼育できる虫こぶ誘導昆虫自体がほぼ無かったため、大部分は未解明のままであった。そこで本研究では、実験室内で飼育可能な実験系の立ち上げと、モデル植物を用いた虫こぶ誘導能の実験手法を確立することで、虫こぶ形成の謎を解明する突破口を開いた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

虫こぶの誘導とは、一種の「他種操作」の例と言える。そして、なぜ動物が植物を操作できるように進化できたのか、という点が本研究の究極的な問いと言える。よって、本研究で行った虫こぶ誘導時における昆虫側の詳細な行動観察や、昆虫と植物の両方で虫こぶ誘導に関与している可能性がある遺伝子の絞り込みは、他種操作という一見するととても起こりそうに無い精巧な種間の相互作用がどのように地球上で形成されてきたのか、という生物学の根源的な問いを解明していく上での大きな一歩と言える。また、昆虫による植物操作の仕組みを解明することで、将来的には虫こぶ誘導昆虫のように植物をカスタマイズする技術の開発につながると期待される。

研究成果の概要(英文) : Several insect taxa modify host-plant morphology as well as its nutritive characteristics, and such special structures induced on host plants are called as insect galls. We can see various insect galls in the wild and their enigmatic shapes often stimulate our question, why and how galls are created. However, we know very little about the evolution of gall inducing insects and the molecular mechanisms underlying the plant modification. In this project, we have established gall-inducing insect systems that are suitable for detailed genomic assays such as transcriptomes. Our results indicate that gall-inducing insects can alter the fate of plant cells and that unknown effector(s) play(s) a central role for initiating gall induction.

研究分野：昆虫学，進化生物学

キーワード：ホソガ科 アブラムシ科 潜葉性昆虫 Ab-GALFA法 植物延命効果 虫体抽出液 オオヨモギ MADS

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

圧倒的な多様性を誇る昆虫の世界は、人類がまねできない能力であふれている。本研究で着目する「虫こぶ」は、昆虫が自身の住処や餌のために宿主植物に形成させた「本来の植物発生プログラムでは形成されない」異常器官である。虫こぶの形は昆虫種ごとに決まっているため、昆虫が植物の発生機構をハッキングしかつ正確にコントロールしていると考えられる。この見事な生物間相互作用の進化機構を解明するには、虫こぶ誘導の分子メカニズムの理解が不可欠であり、またそれは未知の植物改変能の発見にもつながる可能性がある。しかし、飼育が容易な昆虫種の欠如や、モデル植物に虫こぶを誘導する昆虫がないことから、その分子機構は大部分が未解明である。

### 2. 研究の目的

そこで我々は、通年室内実験が可能な虫こぶ誘導昆虫の飼育系と、モデル植物で虫こぶ誘導能を評価できる画期的な手法を開発した。虫こぶ誘導昆虫が本来の宿主植物以外にも形態異常を誘発するという事は、「植物の形態形成プログラムを操作する普遍的機構」が存在することを示唆している。本研究では、昆虫が持つ植物操作能の分子基盤を解明するための基盤を固めることで、ダーウィン以来の謎である生物間相互作用の進化機構に突破口を開けることを目指す。

### 3. 研究の方法

まず、幼虫期の途中で「突如虫こぶ誘導を開始する」ホソガ科蛾類に注目し、発現比較解析による虫こぶ誘導関連遺伝子の特定へと進められるよう、実験室内で累代飼育が可能なヒサカキホソガとタマホソガの2種の生活史と、植物側組織がどのように改変されていくのかを調べるため、昆虫側の行動観察と植物側の組織学的観察を行った。

また、虫こぶ内で単為生殖によって増殖するため、エフェクター分子の特定や精製といった大量の昆虫サンプルが必要な研究に好適なアブラムシ科の昆虫に関して、虫こぶの大量採集が容易なヌルデシロアブラムシがどのように寄主植物を改変していくのかを調べるため、植物側で発現している転写産物を解析した。また、4つ異なる植物種に形成される虫こぶ(カンコノキハフクレフシ、ヒサカキハフクレフシ、ヨモギハエボシフシ、ヌルデミフシ)でも発現遺伝子の網羅的な比較を行い、植物側で虫こぶ形成に関わる遺伝子の絞り込みを行った。



### 4. 研究成果

まずヒサカキホソガでは、虫こぶ誘導は4齢幼虫から始まることが確認された。ヒサカキホソガが誘導する虫こぶ組織は、通常の虫こぶよりは扁平であり、潜葉性昆虫が作るマインとも似ているが、本研究により4齢幼虫は自身が誘導した虫こぶ組織を摂食しないと5齢幼虫になれないことが判明した。さらに驚くべきことに、虫こぶ誘導前の3齢幼虫は、必ず潜っている葉の主脈にまで潜り込んでおり、形成層の部分を食べ進むことで主脈を導管部と師管部に分離していた。傷つけられた形成層部で特に著しい細胞分裂と細胞の肥大化が生じ、虫こぶ誘導が開始される

が、幼虫を3齢幼虫の最終段階で殺した場合は虫こぶが誘導されなかったため、ヒサカキホソガの虫こぶ誘導には、3齢による傷つけ効果と4齢以降に分泌する虫こぶ誘導エフェクターが必須と考えられる。また、幼虫が4齢になってから14日後に虫こぶ内のカルス状組織の量を比較した場合、幼虫が虫こぶ内に長くいればいるほど、虫こぶ内のカルス状組織も増加したことから、ヒサカキホソガが作る虫こぶの生長には、4齢幼虫が虫こぶ誘導エフェクターを分泌し続けることが必要と言える (Guiguet et al. 2018)。

一方のタマホソガでは、虫こぶ誘導は3齢幼虫期に開始されることがわかった。これまで、タマホソガが虫こぶを誘導することは知られていたが、虫こぶを誘導する前にリーフマイナーとして過ごす時期があるのかどうかについては、知られていなかった。本研究により、1~2 齢幼虫期は確かにリーフマイナーであることが確認された。ただし、タマホソガは1 齢期と2 齢期をそれぞれ1 日程度で通過していくことが確認され (通常同属ホソガ科ではそれぞれ2~3 日程度)、この若齢期の短さゆえにこれまで野外ではリーフマイナーの時期が観察されなかったと考えられる。そしてこの若齢期の短さは、栄養摂取面等で劣るリーフマイナー期をいち早く抜け出し、より早く虫こぶ組織にアクセスするための適応と考えられ、事実、3 齢幼虫になるまでは、幼虫の体サイズはほぼ成長しない。3 齢幼虫は、それまでの2 齢幼虫時に潜っていたマインの表皮細胞を内側から綴って葉を湾曲させることで、葉の内部に空間を生じさせ、この部分が虫こぶへと誘導されることがわかった。葉に潜っている幼虫を3 齢幼虫になる前に殺した場合には、その後一切虫こぶ状の構造が現れないことから、虫こぶ誘導に関するエフェクターは3 齢幼虫期以降に分泌されることがわかった (Guiguet et al. 2019)。

ヌルデシロアブラムシが誘導する虫こぶでは、形成初期には、通常、葉で発現している光合成関連遺伝子の発現が抑制されており、その代わりに、花芽や花や果実を作るための遺伝子を制御するタンパク質の発現が上昇していた。更に、リグニンやスベリンと呼ばれる組織を木部化させて硬い組織にする遺伝子や、組織をカルス化させる遺伝子などの発現も上昇していた。これらの遺伝子は通常の葉ではほとんど発現しておらず、ヌルデシロアブラムシが何らかの形で植物での遺伝子発現パターンを改変したと考えられる。実際、花芽を作る働きのあるタンパク質の発現部位を調べると、虫こぶ内部のカルス化した組織で特異的に発現していることが明らかとなった。また、ヌルデシロアブラムシの虫体中の植物ホルモン量を調べると、ヌルデシロアブラムシには植物ホルモンであるオーキシシンとサイトカイニンが高濃度で蓄積していた。よって、オーキシシンやサイトカイニンなどを植物体に注入することでヌルデの葉にカルス状の組織を作り、その後、花芽や花や実を作るように改変することで虫こぶ構造を作り出すと考えられる。ただし、虫こぶにおける複雑な組織や器官の形成は、オーキシシンやサイトカイニンなどの植物ホルモンだけでは説明できず、ヌルデシロアブラムシが未知の虫こぶ誘導エフェクターを分泌することで、植物の発生プログラムを高度にカスタマイズしていることが強く示唆される (Hirano et al. 2020)。



4 つの異なる植物種上の虫こぶを比較した研究からは、共通して光合成関連遺伝子の発現低下が見られ、代わりに器官発生に関わる遺伝子や、細胞分裂、植物ホルモン応答、リグニン化などに関わる遺伝子が共通して高発現していることが明らかになった。よって、ヌルデシロアブラムシで見られるような虫こぶ誘導昆虫による遺伝子発現レベルでの植物の改変は、虫こぶを誘導する昆虫種で普遍的に行われていると予想される (Takeda et al. 2019)。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9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 Antoine Guiguet, Akihisa Hamatani, Taisuke Amano, Seiji Takeda, Carlos Lopez-Vaamonde, David Giron, Issei Ohshima	4. 巻 13
2. 論文標題 Inside the horn of plenty: Leaf-mining micromoth manipulates its host plant to obtain unending food provisioning	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0209485
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209485">https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209485</a>	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 Antoine Guiguet, Issei Ohshima, Seiji Takeda, Françoise Laurans, Carlos Lopez-Vaamonde, David Giron	4. 巻 9
2. 論文標題 origin of gall-inducing from leaf-mining in Caloptilia micromoths (Lepidoptera, Gracillariidae)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6794
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1038/s41598-019-43213-7">https://doi.org/10.1038/s41598-019-43213-7</a>	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 Hirano T, Munnik T, Sato MH.	4. 巻 58
2. 論文標題 Inhibition of phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate production has pleiotropic effects on various membrane trafficking routes in Arabidopsis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Plant Cell Physiol	6. 最初と最後の頁 120-129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: doi. 10.1093/pcp/pcx011	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 Hirano T, Stecker K, Munnik T, Xu H, Sato MH.	4. 巻 58
2. 論文標題 Visualization of phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate dynamics by tandem ML1N-based fluorescent protein probe in Arabidopsis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Plant Cell Physiol	6. 最初と最後の頁 1185-1195
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 1185-1195 doi. 10.1093/pcp/pcx011	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 Koguchi M, Yamasaki K, Hirano T, Sato MH.	4. 巻 12
2. 論文標題 Vascular plant one-zinc-finger protein 2 is localized both to the nucleus and stress granules under heat stress in Arabidopsis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Plant Signal Behav	6. 最初と最後の頁 e1295907
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: doi: 10.1080/15592324.2017.1295907	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 Takeda Seiji, Yoza Makiko, Amano Taisuke, Ohshima Issei, Hirano Tomoko, Sato Masa H., Sakamoto Tomoaki, Kimura Seisuke	4. 巻 14
2. 論文標題 Comparative transcriptome analysis of galls from four different host plants suggests the molecular mechanism of gall development	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0223686
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1371/journal.pone.0223686	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 Hirano Tomoko, Kimura Seisuke, Sakamoto Tomoaki, Okamoto Ayaka, Nakayama Takumi, Matsuura Takakazu, Ikeda Yoko, Takeda Seiji, Suzuki Yoshihito, Ohshima Issei, Sato Masa H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Reprogramming of the Developmental Program of Rhus javanica During Initial Stage of Gall Induction by Schlechtendalia chinensis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 471
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.3389/fpls.2020.00471	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 Aoyama Haruka, Ohshima Issei	4. 巻 36
2. 論文標題 Changing Leaf Geometry Provides a Refuge from a Parasitoid for a Leaf Miner	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 31 ~ 31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.2108/zs180062	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 Aoyama Haruka, Ohshima Issei	4. 巻 112
2. 論文標題 Observation of <i>Aneurobracon philippinensis</i> (Hymenoptera: Braconidae) Immatures Shows How Koinobiont Offspring Flexibly Adjust Their Development to Host Growth	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of the Entomological Society of America	6. 最初と最後の頁 490 ~ 496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1093/aesa/saz036	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 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 天野泰輔, 濱谷昭寿, 澤田有司, 平井優美, 大島一正
2. 発表標題 ゴール形成性ホソガ科を用いたメタボローム解析: ゴールと通常葉の比較
3. 学会等名 日本昆虫学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 天野泰輔, Antoine Guiguet, 濱谷昭寿, 木村成介, 大島一正
2. 発表標題 発現比較による虫こぶ形成因子の探索: ホソガ科 3 種間での比較
3. 学会等名 関西昆虫研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤雅彦, 岡本彩花, 大島一正, 木村成介, 平野朋子
2. 発表標題 Ab-GALFA法 ~ モデル植物シロイヌナズナを用いた虫こぶ形成メカニズムの解明
3. 学会等名 第35回日本植物細胞生物学会 (さいたま) 大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大坪憲弘, 佐藤雅彦, 武田征士, 木村成介, 大島一正
2. 発表標題 なぜ今, 虫こぶか: 植物の潜在能力を引き出す新たな技術開発に向けて
3. 学会等名 第35回日本植物細胞分子生物学会(さいたま)大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 平野朋子, 武田征士, 加藤真理子, 青山卓史, 桧垣匠, 今村寿子, 佐藤雅彦
2. 発表標題 イノシトールリン脂質が制御する根毛の形態形成
3. 学会等名 第35回日本植物細胞生物学会(さいたま)大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐藤雅彦
2. 発表標題 Development of Ab-GALFA method, a novel assay for analyzing molecular mechanisms underlying the gall formation process using a model plant, Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 第59回 日本植物生理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Antoine Guiguet, Issei Ohshima, Seisuke Kimura, Seiji Takeda, Françoise Laurans, Veronique Laine-Prade, Carlos Lopez-Vaamonde, David Giron
2. 発表標題 Identify candidate genes involved in gall induction in micromoth using transcriptomics
3. 学会等名 7th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CECIDODOLOGY (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大島一正
2. 発表標題 リーフマイナーのトンネル工事:その進化的起源と生態的意義
3. 学会等名 日本生態学会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 天野泰輔, Antoine Guiguet, 濱谷昭寿, 坂本智昭, 木村成介, 大島一正
2. 発表標題 RNA-seq を用いたゴール形成種-非形成種間での転写産物の比較
3. 学会等名 日本進化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Antoine Guiguet
2. 発表標題 Evolution of gall-induction and host-plant associations in Phyllanthaceae-feeding Caloptilia (Lepidoptera: Gracillariidae)
3. 学会等名 日本進化学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Carlos Lopez-Vaamonde, Natalia Kirichenko, Issei Ohshima (17章執筆)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 490
3. 書名 Measuring Arthropod Biodiversity: A Handbook of Sampling Methods	

〔産業財産権〕



〔その他〕

研究成果のプレスリリース  
<https://kpu-als.jp/w/news/achievement/1250/>  
<https://kpu-als.jp/w/date/2019/10/?cat=6>  
[https://www.kpu.ac.jp/contents\\_detail.php?co=new&frmId=7857](https://www.kpu.ac.jp/contents_detail.php?co=new&frmId=7857)  
<https://drive.google.com/open?id=1V3jswK5d2vyE1c2r-P1Ddbmz8cTbmGEH>

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	佐藤 雅彦  (Sato Masahiko)  (20283575)	京都府立大学・生命環境科学研究科・教授   (24302)	
研究分担者	大坪 憲弘  (Ohtsubo Norihiro)  (30270474)	京都府立大学・生命環境科学研究科・准教授   (24302)	
研究分担者	武田 征士  (Takeda Seiji)  (90508053)	京都府立大学・生命環境科学研究科・准教授   (24302)	