

平成21年 5月 25日現在

研究種目：基盤研究 (B)  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18370007  
 研究課題名 (和文) 環境要因がいかにして個体発生を制御するかに関する  
 分子生態発生学的研究  
 研究課題名 (英文) Molecular and ecological studies of developmental regulations  
 by environments  
 研究代表者  
 三浦 徹 (MIURA TORU)  
 北海道大学・大学院地球環境科学研究院・准教授  
 研究者番号：00332594

## 研究成果の概要：

生物の形質は遺伝子によってのみ一義的に決まるわけではなく、取り巻く環境条件に応じて状況依存的に形質を発現したり修飾したりする。しかしどのような生理発生機構によりそのようなしなやかな形質発現が行われているかは未解明であった。本研究課題では、表現型可塑性を発揮する節足動物のいくつかの種を用い、化学物質によるコミュニケーション、環境要因を介する生理機構、発生プログラムの改編機構と、段階的に焦点を当て、分子生物学や生化学的手法を用いて、研究を進めてきた。シロアリやアブラムシ、ミジンコなどで、フェロモン様物質の同定、幼若ホルモン濃度の変動パターン、発生制御因子の発現動態などの成果を得ることに成功した。結論として、既存の発生・生理機構に用いられている分子機構を上手く応用することにより、変動する環境に対応した適応的な可塑性を発揮するメカニズムが存在することが強く示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	7,800,000	0	7,800,000
2007年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
2008年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
年度			
年度			
総計	15,200,000	2,220,000	17,420,000

## 研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学，生態・環境

キーワード：表現型可塑性，環境要因，化学生態，個体間相互作用，後胚発生

## 1. 研究開始当初の背景

生物の性質はその生物の表現型として生じるものであり、近年明らかにされつつあるゲノム情報にはその表現型の特徴が記されている。表現型には、その生物の形態的特徴のみならず、様々な生活史特性が含まれる。一

方で、生物の形態つまりボディプランに関する進化発生学的理解も深まりつつある。しかしながら、生物の形質は、遺伝情報により一義的に決定づけられるものではなく、環境要因に応じて可塑的に変わり得るものであり、これは表現型可塑性と呼ばれている。生態学の中でも表現型可塑性はリアクションノー

ム(反応基準)として研究が進められてきた。しかし、環境要因がいかんして表現型のバリエーションを生むのかに関する理解は未だほぼ皆無に等しい。表現型のバリエーションは、発生過程の可塑性により生じるものであるが、21世紀に入りようやくこの点に関しても若干の研究者の興味をひき始め、「生態発生学(エコデボ)」として勃興しつつある。

## 2. 研究の目的

本研究では、環境要因がいかんして個体に受容され発生機構に反映されていくのかを解明することを目的とする。環境要因は化学物質や個体間相互作用などによる外界シグナルであるが、この外界シグナルがいかんして個体に受容され、その個体の生理条件に影響を与え、ひいては発生プログラムを改変していくのかを、システムティックに理解することを試みる。

本研究課題ではまず、**(1)フェロモン関連因子の同定**を試みる。対象とする現象は、「シロアリの兵隊分化における階級分化フェロモン」「アブラムシの兵隊・有翅虫を誘導する密度効果フェロモン」「ミジンコが捕食者のカイロモンにより誘導される防衛形態」である。これらいずれの現象は既に、研究代表者・分担者が扱っており、飼育実験系は確立している。この誘導実験系を用い、誘導活性のある分子を化学生態学的分析により同定および検定する。つぎに、**(2)外的要因の受容から生理シグナルへの変換機構**の解明に焦点を当てる。ここでは、内分泌機構が関与することにより外界シグナルが個体内部へと伝わると考えられる、つまり何らかの「フェロモン-ホルモン・トランスダクション」なる機構が存在するはずである。そして最後は、**(3)ボディプランの改変機構**である。捕食者の存在や密度条件により棘や翅などが発生するが、その際には必ず何らかの発生制御因子の発現が特異的に誘導されると考えられる。生理条件の変化の下流でこれらの改変パターンをモニターするために、発生制御因子の発現パターンの解析を詳細に行う。この3ステップの解析を総合的に推し進めることで、環境要因-生理要因-発生プログラム間の相互関係を解明することを目指す。こういった研究は、世界的に見てもきちんと行われた例はなく、生態学的にも社会進化・生態進化の理解にも極めて重要な示唆を与えるだろう。

## 3. 研究の方法

本研究課題では、対象とする動物種および表現型多型現象を複数取り扱う。その理由は、将来的に生態発生学におけるモデル生物を検索するためと、代表者・分担者間で材料・解析方法において分業を行うことで、効率的

に研究・解析を進め、種間に共通する機構を見いだすという意味も含まれている。対象とする動物および現象は、オオシロアリ *Hodotermopsis sjostedti*、ヤマトシロアリ *Reticulitermes speratus* における階級分化フェロモン、ヤマトシロアリにおける栄養交換と個体間相互作用、エンドウヒゲナガアブラムシ *Acyrtosiphon pisum* の密度効果、ハクウンボクハナフシアブラムシ *Tuberaphis styraci* の警報フェロモンと兵隊分化、ミジンコ *Daphnia pulex* の防衛形態である。それぞれの動物種は既に各研究室において、採集方法および飼育方法が確立しており、効率よく表現型の誘導実験が行える。この系を用いて、フェロモン因子の同定、外的要因の受容から生理シグナルへの変換機構、ボディプランの改変機構、の3ステップに大まかに分け、研究を遂行する。

## 4. 研究成果

### (1)フェロモン関連因子の同定

研究計画の前半では特に、環境要因としての化学生態学的解析を重点的に進めた。研究分担者の柴尾は、アブラムシ警報フェロモンの分析と兵隊分化への寄与に関する解析で成果を上げており、これをアブラムシの翅多型誘導やシロアリのカースト分化などにも適用した。いずれの現象においても、何らかの化学物質、つまりフェロモンやカイロモンが引き金となって表現型の切り替えが生じることが強く示唆される結果が、シロアリやミジンコなどで得られた。今回の計画では、フェロモン物質の同定にまで至ることはできなかったが、フェロモン伝達に関わることが期待されるキャリアータンパクなどの同定やその発現動態を詳細に明らかにした。

また、シロアリの場合は、兵隊が出す物質が兵隊分化を抑制するという推測が古くからなされているが、ヤマトシロアリでは兵隊カーストの存在が更なる兵隊産性を抑制するという効果が見いだされ、生理機構として幼若ホルモンを介した内分泌制御が重要な役割を示すことが示唆された。

### (2)外的要因の受容から生理シグナルへの変換機構

フェロモンなどの生物間相互作用を担う物質の同定作業が進むにつれ、これらのシグナルの生理状態への影響に関する解析も精力的に行う必要が生じてくる。本研究課題では、

環境の影響を媒介するホルモンの分析も精力的に行った。特に、昆虫の脳の近傍にあるアラタ体から分泌される幼若ホルモンは非常に重要な役割を果たすことが知られるが、本研究では血液（ヘモリンフ）中の幼若ホルモン濃度を定量することに成功した。それを用い、どのような幼若ホルモン濃度の変遷が、その後の発生運命を決定するかについて、非常に大きな成果を得ることができた。

ミジンコなどにおいても環境が悪化したときに雌雄の個体が生じ、耐久卵を産生するが、この過程でも幼若ホルモン様の物質が寄与することが明らかとなり、人為的に雄を産出させその過程で発現する遺伝子の解析も推し進めることに成功した。

### (3)生理シグナル→ボディプランの改変

環境要因は生理シグナルを通じて、発生機構の改変につながると考えられるが、そのメカニズムについてはほとんど分かっていない。本課題では近年注目されているインスリン経路による形態の改変機構に着目し、シロアリの兵隊分化の際のボディプラン再編成時における、インスリンシグナル関連因子の挙動を分子生物学的手法を用いて解析した。インスリン受容体であるInR遺伝子の発現動態を見ると、兵隊分化に先立って発現上昇が起こることがリアルタイム定量PCRにより確認され、*in situ*ハイブリダイゼーションにより形態の改変が顕著に表れる部分で発現していることも分かった。更に、RNAiによりこの遺伝子機能を阻害すると、兵隊分化時の大顎伸長の阻害が起こることが示された。これらのことから環境による形態改変には幼若ホルモンだけでなく、インスリン経路も重要な役割を担うことが明らかとなった。

その他、アブラムシやミジンコなどにおいても、環境条件による表現型改変に関わる候補遺伝子のクローニングおよび発現動態の解析を行った。様々な結果が得られたが、特に重要なのは、既存の発生・生理機構に用いられている分子機構を上手く応用することにより、変動する環境に対応した適応的な可塑性を発揮することが明らかとなった。

### 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 15 件)

- ① Kutsukake M, Shibao H, Uematsu K, Fukatsu T (2009) Scab formation and wound healing of plant tissue by soldier. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 276: 1555-1563. 査読有り.
- ② Toga K, Hojo M, Miura T, Maekawa K (2009) Presoldier induction by juvenile hormone analogue in the nasute termite *Nasutitermes takasagoensis* (Isoptera: Termitidae). *Zoological Science* (in press). 査読有り.
- ③ Maekawa K, Mizuno S, Koshikawa S, Miura T (2008) Compound eye development during caste differentiation of the termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Zoological Science*, 25: 699-705. 査読有り.
- ④ Tsuchiya M, Watanabe D, Maekawa K (2008) Effect on mandibular length of juvenile hormones and regulation of soldier differentiation in the termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Applied Entomology and Zoology*, 43: 307-314. 査読有り.
- ⑤ Kutsukake M, Nikoh N, Shibao H, Risper C, Simon JC, Fukatsu T (2008) Evolution of Soldier-Specific Venomous Protease in Social Aphids. *Molecular Biology and Evolution*, 25:2627-2641. 査読有り.
- ⑥ Cornette R, Koshikawa S, Miura T (2008) Histology of the hormone-producing glands in the damp-wood termite *Hodotermopsis sjostedti* (Isoptera, Termopsidae): A focus on soldier differentiation. *Insectes Sociaux* 55: 407-416. 査読有り.
- ⑦ Ishikawa Y, Aonuma H, Miura T (2008) Soldier-specific modification of the mandibular motor neurons in termites. *PLoS ONE* 3(7): e2617. doi:10.1371/journal.pone.0002617. 査読有り.
- ⑧ Koshikawa S, Miyazaki S, Cornette R, Matsumoto T, Miura T (2008) Genome size of termites (Insecta, Dictyoptera, Isoptera) and wood roaches (Insecta, Dictyoptera, Cryptocercidae). *Naturwissenschaften* 95: 859-867. 査読有り.
- ⑨ Cornette R, Gotoh H, Koshikawa S, Miura T (2008) Juvenile hormone titers and caste differentiation in the damp-wood termite *Hodotermopsis sjostedti* (Isoptera, Termopsidae). *J Insect Physiol*: 54: 922-930. 査読有り.
- ⑩ Ishikawa A, Hongo S, Miura T (2008) Morphological and histological examination of polyphenic wing formation in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera, Hexapoda). *Zoomorphology* 127: 121-133. 査読有り.
- ⑪ Fujita A, Miura T, Matsumoto T (2008) Differences in cellulose digestive systems among castes in two termite lineages. *Physiol Entomol* 33: 73-82. 査読有り.
- ⑫ Cornette R, Matsumoto T, Miura T (2007) Histological analysis on fat body development and molting events during soldier differentiation in the damp-wood termite *Hodotermopsis sjostedti*

(Isoptera, Termopsidae). Zool Sci 24: 1066-1074. 査読有り.

- ⑬ Katoh H, Matsumoto T, Miura T (2007) Alate differentiation and compound-eye development in the dry-wood termite *Neotermes koshunensis* (Isoptera, Kalotermitidae). *Insectes Sociaux* 54: 11-19. 査読有り.
- ⑭ Hojo M, Matsumoto T, Miura T (2007) Cloning and expression of a geranylgeranyl diphosphate synthase gene - Insights into the synthesis of termite defense secretion. *Insect Molecular Biology* 16: 121-131. 査読有り.
- ⑮ Cornette R, Koshikawa S, Hojo M, Matsumoto T, Miura T (2006) A caste-specific cytochrome P450 in the damp-wood termite *Hodotermopsis sjostedti* (Isoptera, Termopsidae). *Insect Molecular Biology* 15: 235-244. 査読有り.

[学会発表] (計5件)

- ① Miura T (2008) Social evolution by gene duplication – Soldier-specific lipocalin proteins and social communication in termites. *Evolution* 2008. Minneapolis.
- ② 三浦徹 (2008) 発生の可能性は進化可能性となりうるか? 第10回日本進化学会. 東京.
- ③ 三浦徹 (2008) 社会性昆虫の孕む Evo-Devo 的課題. 第24回個体群生態学会. 東京.
- ④ Miura T (2007) Molecular basis for social behavior and caste differentiation in termites. *Neuro* 2007. Yokohama.
- ⑤ Miura T, Cornette R (2008) Juvenile hormone action during soldier differentiation in the damp-wood termite. *JH9*. York.

[図書] (計2件)

- ① 三浦徹 (2008) エコデボ (生態発生学). 「ベーシックマスター発生物学」(東中川徹・八杉貞雄・西駕秀俊共編). オーム社.
- ② 三浦徹 (2007) 環境要因による節足動物の表現型改変機構—動物における生態発生学とソシオゲノミクスの課題. 「シリーズ21世紀の動物科学—11 生態と環境」(松本忠夫・長谷川眞理子共編). 培風館.

[その他]

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三浦 徹 (MKIURA TORU)  
北海道大学・大学院地球環境科学研究院・准教授  
研究者番号: 00332594

### (2) 研究分担者

前川 清人 (MAEKAWA KIYOTO)  
富山大学・理学部・准教授  
研究者番号: 20345557

柴尾 晴信 (SHIBAO HARUNOBU)  
東京大学・大学院総合文化研究科・助教  
研究者番号: 90401207

(3) 連携研究者  
なし