

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007 ～ 2008
 課題番号：19770012
 研究課題名 (和文) シロアリ類の親個体によるカースト分化の調節機構の解明
 研究課題名 (英文) Studies on the regulatory mechanisms of the caste differentiation induced by the imaginal individuals of termites.

研究代表者

前川 清人 (MAEKAWA KIYOTO)
 富山大学・大学院理工学研究部 (理学)・准教授
 研究者番号：20345557

研究成果の概要：

高度な社会性を獲得したシロアリ類には、巣の防衛を担うソルジャーが存在する。ソルジャーは、特殊な形態により自らは摂食できず、巣内の割合は一定に保たれる必要がある。ソルジャー分化の調節に関しては、幼若ホルモン (JH) が重要な役割を担うことが知られるが、初期 (王と女王による創設直後) 巣では、ソルジャーが長期間 1 個体しか存在しないことが知られ、親個体による分化調節の存在が示唆される。本研究では、親個体による兵隊の認識と分化調節の機構を明らかにすることを目的とし、系統的に重要な複数種を材料として初期コロニーを作製して解析を行った。まず、ヤマトシロアリとネバダオオシロアリの初期コロニーを作製し、ソルジャーが出現した後に、コロニー状態を変化させて、JH によるソルジャー分化誘導に如何なる影響が与えられるかを調べた。その結果、生殖虫の有無により、JH によるソルジャー誘導率には大きな違いが見られ、生殖虫の存在下では有意に分化率が低下することが明らかとなった。また、幼虫の JH 結合タンパク質 (ヘキサメリン) 遺伝子の発現量は、巣内のソルジャーを取り除いた後で大きく低下することも示された。続いて、コロニーの発達に伴うソルジャー数を調査すると同時に、親個体との接触で幼虫に如何なる生理的な変化が見られるのかを解析した。ヤマトシロアリの場合には、創巣後 7.5 ヶ月経過したコロニーでソルジャーが 2 匹存在する場合は観察され (約 30%)、飼育下で 2 匹目の兵隊が出現するタイミングをある程度把握することに成功した。ネバダオオシロアリの初期コロニーでは、親個体と物理的な接触がない限り新規のソルジャーは出現しないことを実験的に確かめた。その際の子虫の生理的な状態を、幼若ホルモン結合タンパク (ヘキサメリン) 遺伝子とインシュリン受容体遺伝子の発現量を経時的に比較することで推察した。その結果、親個体の接触下では両遺伝子とも発現量が大きく変動していることが示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	0	1,800,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	450,000	3,750,000

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：進化生態

1. 研究開始当初の背景

シロアリは社会性昆虫とよばれ、ハチやアリとは異なる不完全変態昆虫である。コロニー内の大多数の個体は発生学的には若虫期であり、生殖虫やソルジャーなどのカーストに分化できる可塑性をもつ。カースト分化の詳しい調節機構は未だ不明だが、脱皮成長に関係するホルモンの1つである幼若ホルモンが重要な役割を持つと考えられている。各カーストは、コロニー内ではほぼ一定の割合に保たれているが、特にソルジャーは防衛に特化した形態を持ち、その割合は厳密に調節されていると考えられる。メカニズムは不明だが、一部の分類群では、既存のソルジャーが他個体のソルジャー分化を抑制するという報告もある。ただし、シロアリの祖先分類群のモデルと考えられる食材性ゴキブリ類を用いた分子生態学的解析により、コロニー創設や若虫生産などに伴う遺伝構造の変化には、朽木内での家族性社会構造の特性（特に閉鎖空間での内交配による血縁度の上昇と血縁選択）が大きく影響することが明らかとなっている。つまり、家族構造を基盤としたシロアリ社会において、自らは繁殖に携わらず、防衛に特化したソルジャーを分化させる際に、親個体の存在が非常に大きな影響を持つことが強く示唆される。実際に一部の分類群では、王と女王による創設直後のコロニー（初期コロニー）において、ソルジャーが長期間1個体しか存在しないという古典的な記載がある。これは親個体による調節が働いていることを示唆するものである。近年、分子生物学の発展に伴い、ソルジャー分化調節の至近的な機構に関する研究例も見られるようになったが、分類群が限定している上に（ミゾガシラシロアリ科の分類群のみ）、全て成熟コロニーを対象としている。そのため、ソルジャー分化における親個体の影響が如何なるものなのか、様々な分類群で幅広く解析された例はない。シロアリ類が家族性かつ食材性ゴキブリ様の祖先分類群から進化した（業績23）ことは、もはや多くのデータから支持されており、シロアリ類の社会性進化や維持機構を探る上で、両親と子供が共存する創設直後の初期コロニーを用いた解析が最も重要であると言えるはずである。

2. 研究の目的

初期コロニーのカースト分化調節における親個体の影響と効果を明らかにすることを目的とし、形態や行動が大きく変化するソルジャー分化に注目して生態学的・形態学的・分子生物学のアプローチから解析することを試みる。ソルジャー分化は、ワーカーに

幼若ホルモンを投与することにより人工的に誘導することが可能であるので、分化調節機構を解析する場合に好適である。材料は、シロアリ類の系統関係を考慮し、最も祖先的な分類群の1つであるオオシロアリ科（ネバダオオシロアリ）、最も派生的な分類群であるシロアリ科（タカサゴシロアリ）、および系統的にはそれらの間に位置するミゾガシラシロアリ科（ヤマトシロアリ）の3種を使用する。まずはどの分類群でも、初期コロニーではソルジャーが1匹しか分化しないかを確かめた上で、親個体の存在・非存在や、既存のソルジャーの存在・非存在での、幼若ホルモンに対する感受性の変動や形態形成の差異を調べる。更にソルジャーが分化する前後において、親個体で発現量が異なる遺伝子を同定・解析し、分化調節を担う候補を探索する。以上により、親個体によるカースト分化調節の直接的かつ至近的な実体を明らかにするとともに、各分類群での解析結果を総合することで、シロアリ類で共通した機構なのか多様性があるのか（如何なる多様化なのか）について考察する。

3. 研究の方法

本研究は、シロアリ類の初期コロニーにおいて、親個体によるソルジャーの認識と分化調節の機構を明らかにすることが大きな目的である。通常、幼若ホルモンはアラタ体から分泌され、幼若ホルモン binding-protein（例えばヘモリンフタンパク質）と結合して標的器官に作用し、シロアリではワーカーからのソルジャー分化を引き起こす。もし初期コロニーにおいて、親個体がソルジャー分化を厳密にコントロールしているのであれば、ソルジャー分化の前後で、幼若ホルモンに対するワーカーの感受性は大きく変動させられている可能性がある。そこでソルジャー分化の前後や、分化したソルジャーを取り除いた初期コロニーを使用して、幼若ホルモン投与によるソルジャー誘導率や分化時期の変動に関する生態学的な解析、および分化個体の形態学的解析（大顎の形態形成の変化など）を行うことにより、実際に親個体がソルジャーを認識し、分化をコントロールしているのかどうかを考察する。更に、初期コロニーでソルジャーが分化する前後の親個体において、発現量が著しく異なる遺伝子をピックアップすることで、分化調節の至近的な要因を考察する。社会性昆虫のゲノムプロジェクトで先行するミツバチでは、カースト分化に関係する遺伝子の候補がいくつか特定されているが、それらとのホモロジー検索を行うことで、シロアリのカースト分化調節に関する重要な知見が得られる可能性は高い。また、このような網羅的な解析だけでなく、これまでシロアリ類でカースト分化に関係す

ることが示唆されている2つの遺伝子（どちらもソルジャー分化に関係；So11 遺伝子，ヘキサメリン遺伝子）の発現量の差異を，ソルジャー分化前後の親個体で比較することにより，親個体による調節機構の至近的要因に迫る。特に後者の遺伝子産物は，昆虫類では一般に幼若ホルモンbinding-proteinとして知られるため，親個体による調節機構がソルジャー分化のどのレベルに最も影響しているのかを考察することが可能になると考えられる。

4. 研究成果

ヤマトシロアリとネバダオオシロアリの初期コロニーを作製し，ソルジャーが出現した後に，コロニー状態を変化させて，JH によるソルジャー分化誘導に如何なる影響が与えられるかを調べた。その結果，生殖虫の有無により，JH によるソルジャー誘導率には大きな違いが見られ，生殖虫の存在下では有意に分化率が低下することが明らかとなった。また，幼虫の JH 結合タンパク質（ヘキサメリン）遺伝子の発現量は，巣内のソルジャーを取り除いた後で大きく低下することも示された。

続いて，コロニーの発達に伴うソルジャー数を調査すると同時に，親個体との接触で幼虫に如何なる生理的な変化が見られるのかを解析した。ヤマトシロアリの場合には，創巣後 7.5 ヶ月経過したコロニーでソルジャーが2匹存在する場合が観察され（約 30%），飼育下で2匹目の兵隊が出現するタイミングをある程度把握することに成功した。ネバダオオシロアリの初期コロニーでは，親個体と物理的な接触がない限り新規のソルジャーは出現しないことを実験的に確かめた。その際の子虫の生理的な状態を，幼若ホルモン結合タンパク（ヘキサメリン）遺伝子とインシュリン受容体遺伝子の発現量を経時的に比較することで推察した。その結果，親個体の接触下では両遺伝子とも発現量が大きく変動していることが示された。

最後に，JH によるタカサゴシロアリのソルジャー誘導解析を行い，分化に伴う特異的な形態形成を詳細に把握した。具体的には，雄の職蟻に対して様々な JH および JH 類似体を投与し，前兵隊への分化誘導効率を比較した。その結果，JH 類似体の一種であるハイドロプレンをを用いると，最も効率的に前兵隊の分化を誘導できることが明らかとなった。薬剤を投与後，約2週間で腹部が白色化した個体が観察され，その全てが1週間以内に前兵隊へと分化した。前兵隊への脱皮前には，nasus の原基が頭部の新しいクチクラに見られると同時に，内部では額腺の腺細胞が発達している様子が観察された。したがって，前兵隊への脱皮が決定して約1週間以内に，

兵隊を特徴づける劇的な形態変化が頭部の内外で同時に起こることが強く示唆された。本研究により，職蟻に JH 類似体を投与してから前兵隊への脱皮に至るタイムコースが示されたため，特異的な形態形成を経時的に観察できるようになることが期待される。

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 18 件）

(1) Toga K, Hojo M, Miura T and Maekawa K. (2009) Presoldier induction by juvenile hormone analogue in the nasute termite *Nasutitermes takasagoensis* (Isoptera: Termitidae). *Zoological Science* (in press).

(2) Akamine M, Maekawa K and Kon M. (2008) Spectrophotometric analysis of dorsal coloration in *Phelotrupes auratus* (Coleoptera: Geotrupidae): comparisons between populations, sexes and beetles with varying extents of wear. *Entomological Review of Japan*, 63: 129-134.

(3) Akamine M, Maekawa K and Kon M. (2008) A quantitative spectrophotometric analysis of geographic color variation of *Phelotrupes auratus* (Coleoptera, Geotrupidae) throughout its distribution range. *Japanese Journal of Systematic Entomology*, 14: 171-181.

(4) Nalepa C, Maekawa K, Shimada K, Saito Y, Arellano C and Matsumoto T. (2008) Altricial development in subsocial wood-feeding cockroaches. *Zoological Science*, 25: 1190-1198.

(5) Akamine M, Maekawa K and Kon M. (2008) Spectrophotometric analysis of dorsal coloration in *Phelotrupes auratus* (Coleoptera, Geotrupidae): a comparison of beetles collected in 2001 and 2005. *Elytra, Tokyo*, 36: 309-310.

(6) Akamine M, Maekawa K and Kon M. (2008) Geographic color variation of *Phelotrupes auratus* (Coleoptera, Geotrupidae) in the Kinki district, Central Japan: a quantitative spectrophotometric analysis. *Entomological Science*, 11: 401-407.

(7) Watanabe D and Maekawa K. (2008)

Frontal-pore formation during soldier differentiation induced by juvenile hormone III in the termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology*, 52: 437-447.

(8) Shimada K and Maekawa K. (2008) Correlation between social structure and nymphal wood-digestion ability in the xylophagous cockroaches *Salganea esakii* and *Panesthia angustipennis* (Blaberidae: Panesthiinae). *Sociobiology*, 52: 417-427.

(9) 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.

(10) Everaerts C, Maekawa K., Farine JP, Shimada K, Luykx P, Brossut R & Nalepa CA. (2008) The *Cryptocercus punctulatus* species complex (Dictyoptera: Cryptocercidae) in the eastern United States: comparison of cuticular hydrocarbons, chromosome number, and DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47: 950-959.

(11) Maekawa K., Matsumoto T & Nalepa CA. (2008) Social biology of the wood-feeding cockroach genus *Salganea* (Dictyoptera: Blaberidae: Panesthiinae): did ovoviviparity prevent the evolution of eusociality in the lineage? *Insectes Sociaux*, 55: 107-114.

(12) 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.

(13) Itano H & Maekawa K. (2008) Soldier differentiation and larval juvenile hormone sensitivity in an incipient colony of the damp-wood termite *Zootermopsis nevadensis* (Isoptera, Termopsidae). *Sociobiology*, 51: 151-162.

(14) 前川清人, 嶋田敬介 (2008) 食材性ゴキブリ類の家族性と若虫の発達. 昆虫と自然, 43 (13): 13-16.

(15) 前川清人 (2008) シロアリとゴキブリの系統関係に関する最近の知見. 昆虫と自然, 43 (5): 5-9.

(16) Brandl R, Hyodo F, von Korff-Schmising M, Maekawa K., Miura T, Takematsu Y, Matsumoto T, Abe T, Bagine R & Kaib M. (2007) Divergence times in the termite genus *Macrotermes* (Isoptera: Termitidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45: 239-250.

(17) Lo N, Engel MS, Cameron S, Nalepa CA, Tokuda G, Grimaldi D, Kitade O, Krishna K, Klass K-D, Maekawa K., Miura T & Thompson GJ. (2007) Save Isoptera. A comment on Inward et al. *Biology Letters*, 3: 562-563.

(18) Maekawa K., Kon M, Matsumoto T, Kitade O & Araya K. (2007) Phylogeography of the Asian wood-feeding cockroach *Salganea raggei* Roth (Blaberidae: Blattaria) based on the mitochondrial COII gene. *Oriental Insects*, 41: 317-325.

[学会発表] (計 19 件)

(1) 梅浩平, 北條優, 三浦徹, 前川清人 (2009年3月19日) タカサゴシロアリの前兵蟻分化に伴う防衛器官の形成とDistal-less遺伝子の発現パターン. 第56回日本生態学会(岩手大学).

(2) 渡邊大, 前川清人 (2009年3月19日) ヤマトシロアリの前兵蟻分化に影響を与える生態的要因. 第56回日本生態学会(岩手大学).

(3) 前川清人 (2009年3月16日) ヤマトシロアリのカースト分化と形態変化. 第56回日本生態学会(岩手大学).

(4) 前川清人 (2008年9月24日) シロアリのカースト分化に伴う形態の変化: アロメトリの改変と新奇形態の形成. 第27回日本動物行動学会(金沢大学).

(5) 梅浩平, 北條優, 三浦徹, 前川清人 (2008年9月15日) タカサゴシロアリにおける前兵蟻分化の誘導と額腺の突起構造(nasus)形成. 第68回日本昆虫学会(香川大学).

(6) 渡邊大, 前川清人 (2008年9月15日) ヤマトシロアリの前兵蟻分化に伴う額腺形成の観察. 第68回日本昆虫学会(香川大学).

(7) 嶋田敬介, 前川清人 (2008年9月6日) ネバダオオシロアリの繁殖カースト分化に伴うセルラーゼ遺伝子発現量の変化. 第79回日本動物学会 (福岡大学)

(8) 梅浩平, 北條優, 三浦徹, 前川清人 (2008年7月26日) タカサゴシロアリにおける兵蟻頭部の突起原基の構造と形態形成遺伝子の発現. 平成20年度日本動物学会中部支部会 (富山大学).

(9) 山本知代, 北條優, 前川清人 (2008年7月26日) ヤマトシロアリにおける成虫および兵蟻の額腺の発達と遺伝子発現解析. 平成20年度日本動物学会中部支部会 (富山大学).

(10) 渡邊大, 前川清人 (2008年7月26日) ヤマトシロアリにおける兵蟻特異的な器官形成の解析. 平成20年度日本動物学会中部支部会 (富山大学).

(11) 白崎一佳, 前川清人 (2008年7月26日) ヤマトシロアリの成虫器官の発達に対する幼若ホルモンの影響. 平成20年度日本動物学会中部支部会 (富山大学).

(12) 石谷恭子, 前川清人 (2008年7月26日) ヤマトシロアリの有性・単為生殖が卵巣成熟とコロニー発達へ与える影響. 平成20年度日本動物学会中部支部会 (富山大学).

(13) 嶋田敬介, C. A. Nalepa, 前川清人 (2008年7月26日) キゴキブリ科 (網翅目) における核型の進化に関する分子系統学的研究. 平成20年度日本動物学会中部支部会 (富山大学).

(14) Shimada K & Maekawa K. (2008年7月6-12日) Differences in gene expression level of endogenous cellulase in young xylophagous cockroaches and termites. 第23回国際昆虫学会 (南アフリカ・ダーバン).

(15) 嶋田敬介, 前川清人 (2008年3月15日) ゴキブリ類における社会性の発達とセルラーゼ遺伝子発現量の変化. 第55回日本生態学会 (福岡国際会議場).

(16) 渡邊大, 土屋真利子, 前川清人 (2008年3月15日) ヤマトシロアリの兵隊分化に伴う額腺形成と幼若ホルモン量との関係. 第55回日本生態学会 (福岡国際会議場).

(17) 白崎一佳, 前川清人 (2007年9月17日) ヤマトシロアリの成虫分化と器官発達に対する幼若ホルモンの影響. 第67回日本昆虫学会 (神戸大学).

(18) 渡邊大, 土屋真利子, 前川清人 (2007年9月17日) ヤマトシロアリの兵隊分化と兵隊特異的な器官形成に既存兵隊が与える影響. 第67回日本昆虫学会 (神戸大学).

(19) 嶋田敬介, 前川清人 (2007年9月17日) シロアリおよびゴキブリ類の社会性と個体発生に伴うセルロース分解能の変化. 第67回日本昆虫学会 (神戸大学).

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前川清人 (富山大学・大学院理工学研究部・准教授)

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし