

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成26年 5月28日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究（S）

研究期間：2009～2012

課題番号：21677001

研究課題名（和文） シロアリの社会組織化に関わるシグナル分子伝達機構の解明

研究課題名（英文） Study on the signal communication systems related to the social organization in termites

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所・准教授

研究者番号：00332594

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）57,700千円、（間接経費）1,731千円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、シロアリ類の社会組織化の調節メカニズムについて、フェロモンやホルモンなどのシグナル伝達分子に着目し多角的に解明を試みた。本研究により、内分泌因子が環境要因を媒介し、下流の発生制御因子の発現パターンを調節することにより、カースト特異的な形態へと発生することが明らかになった。また、様々な外分泌腺からのカースト特異的なフェロモンによるコロニー調節機構が示唆された。さらにトランスクリプトーム解析に基づいて遺伝子カタログを作成し、大規模かつ詳細な発現解析などが可能となった。

研究成果の概要（英文）：In this research project, the regulatory mechanisms of social organization in termites were extensively investigated, by focusing on signaling molecules such as hormones and pheromones. Endocrine factors were found to regulate the expression patterns of downstream developmental factors, leading to the development of caste-specific morphological characteristics. In addition, various exocrine glands were found to produce caste-specific pheromones, suggesting that the regulatory mechanisms of colonies based on chemical communications would exist in termites. Moreover, based on extensive transcriptomic analyses, the gene catalogs in three termite species were successfully constructed and it was revealed that there are some termite-specific features of gene repertoires. In future, further extensive analyses on the regulatory mechanism of genes underlying the elaborate social systems in termites.

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：社会性，ホルモン，フェロモン，自己組織化，ソシオゲノミクス

## 1. 研究開始当初の背景

生物の世界では、個が集まり秩序ある総体を作り出す現象が様々なレベルで見られ、ここには生命が織りなす基本原理が存在すると考えられる。社会性昆虫は、高度な社会性を発揮する動物のグループとして長きにわたり研究者の興味を惹き付けてきており、多くの生態学および行動学研究成果が蓄積されている。その一方で近年の分子生物学とゲノム科学の発達により徐々に社会性昆虫にもこれらの手法が適用され、ミツバチのゲノム解読を始めとする成果が上がっている。ミツバチやアリなどの社会性膜翅目においてはこのような成果があるが、もう一方の一

大社会性昆虫グループを形成するシロアリ類ではわずかな試みしかされていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究は、社会性昆虫のシグナル分子の分子機構と進化の仕組みを分子生物学的および分析化学的手法などを用いて解明することを目指す。オオシロアリの主要な材料として、環境要因を反映して分業を行うカーストの発生運命を決定するホルモンと、社会行動を制御するフェロモンを主要なシグナル分子として着目し、「個体→超個体」の組織化の仕組みを探る。さらに、シグナル分子の合

成・受容に関わる遺伝子群の獲得がいかにして社会進化に貢献したかを考察し、分業や分化機構の獲得と維持に関わるモデルの構築およびシミュレーションを行うことで、社会進化・自己組織化の共通原理に迫る。

### 3. 研究の方法

#### カースト分化に伴う発生プロセスの改変

シロアリのカースト分化では、幼若ホルモンが重要な役割を果たすため、関連遺伝子の発現解析と機能解析を推し進める。あわせて、分化過程でのホルモンの役割についても解析する。

#### カースト特異的外分泌腺因子の網羅的解析

シロアリの個体には、大顎腺や腹板腺などの外分泌腺が存在し、各カーストでの特殊化も見られるため、外分泌腺でカースト特異的に遺伝子発現を解析する。発現に差の認められた遺伝子の中から、フェロモン合成や分泌に関わる分子の候補を見だし、詳細な発現動態及び、機能解析を行う。

#### フェロモン分子の機能解析

個体間コミュニケーションにおける分子機能の解析を行うため、グルーミングや栄養交換行動などのアッセイ系を確立し、リポカリンなどのシグナル分子の機能を検証する。また、捕食者や競争者を導入したときのフェロモン分子の動態についても追跡する。さらに、これらの分泌フェロモンが他個体のカースト運命の決定に関与する可能性を吟味する。

#### カースト分化・社会進化のモデル構築

生物界の中でも最も効率的な自己組織化システムともいふべき社会性昆虫の分業行動には、様々な個体間相互作用により個体の内部状態が変化し、個体内で発生のゆらぎが生じることで、様々なカーストが分化するとされる。これら個体間相互作用から自己組織化が起こる原理を探るため、前述の計画で同定・分析された様々な因子を用い、社会行動モデルを構築することを試みる。

### 4. 研究成果

#### カースト分化に伴う発生プロセスの改変

幼若ホルモン類似体の1つであるピリプロキシフェンを投与して兵隊分化を誘導した上で、発生に重要な因子の発現動態を行ったところ、インスリンシグナル経路および、付属肢の発生制御因子の1つである *dachshund* の発現上昇が見られることが明らかとなった。

これらの遺伝子について RNAi 法を適用して機能解析を行ったところ、RNAi を施した個体では兵隊分化における大顎伸長が有意に抑制され、これらの因子が兵隊カースト分化に大きく寄与することが示唆された。

また新たな発見として、兵隊になる直前のステージである前兵隊は白くて柔らかいクチクラを持つが、このステージの間にも頭部が伸長することが明らかとなった。詳細な組織形態観察により、前兵隊の特殊なクチクラ構造がこの脱皮間の伸長に寄与することが示された。

#### カースト特異的外分泌腺因子の網羅的解析

我々の研究から既に、カースト特異的な外分泌腺がシロアリには多く存在することはわかっていたため、道しるべフェロモンを分泌する腹板腺や、消化酵素を分泌する唾液腺で発現するタンパク質を二次元電気泳動法により分析し、兵隊カースト特異的なタンパクを同定した。その結果、腹板腺では *odorant-binding protein* が、唾液腺からは *lipocalin* タンパクである *SOL1* が大量に合成分泌されることが明らかとなり、これらが個体間相互作用（コミュニケーション）に関与する可能性が示唆された。

また次世代シーケンサーによる cDNA の網羅的配列決定および EST データベースの構築にも着手し、オオシロアリの他にもヤマトシロアリおよびタカサゴシロアリの網羅的遺伝子カタログの作成に成功し、これにより多くのトランスクリプトーム解析が飛躍的に進展した。

#### フェロモン分子の機能解析

本研究課題により新たにガスクロマトグラフィによるフェロモン同定システムを立ち上げることに成功し、シロアリ複数種においてカースト特異的なニオイ物質（フェロモン）の同定に成功している。このうちヤマトシロアリの兵隊特異的なフェロモン分子については機能的な候補がほぼ特定され、今後の生物検定および機能解析の進展が期待されている。これらの中からカースト分化制御フェロモンを同定することが今後の大きな目標となっている。

#### カースト分化・社会進化のモデル構築

我々の研究によって得られた、幼若ホルモンの濃度に依存したカースト決定機構と、個体間相互作用によりコロニー内のカースト比率が決定するという事実に基づき、ホルモン濃度と個体間相互作用をパラメータとし

た、カースト分化の数理モデルを構築することに成功した。これらのパラメータを操作することにより、実際の研究結果と合致したシミュレーション結果も得られており、更にカースト分化における形態変化も考慮したモデルにも発展させることに成功している。

上記の研究成果のいくつかは現在までに既に学術論文として公表している他、現在論文作成中のトピック、更には発展的な研究へと展開しているトピックも数多く存在している。

#### 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 17 件)

- ① Watanabe D, Gotoh H, Miura T, Maekawa K (2014) Social interactions affecting caste development through physiological actions in termites. *Frontiers in Physiology* 5: 127.
- ② Hayashi Y, Shigenobu S, Watanabe D, Toga K, Saiki R, Shimada K, Bourguignon T, Lo N, Hojo M, Maekawa K, Miura T (2013) Construction and characterization of normalized cDNA libraries by 454 pyrosequencing and estimation of DNA methylation levels in three distantly related termite species. *PLoS One* 8: e76678.
- ③ Hattori A, Sugime Y, Sasa C, Miyakawa H, Ishikawa Y, Miyazaki S, Okada Y, Cornette R, Lavigne LC, Emlen DJ, Koshikawa S, Miura T (2013) Soldier morphogenesis in the damp-wood termite is regulated by the insulin signaling pathway. *J Exp Zool B* 320: 295-306.
- ④ Cornette R, Hayashi Y, Koshikawa S, Miura T (2013) Differential gene expression in response to juvenile hormone analog treatment in the damp-wood termite *Hodotermopsis sjostedti* (Isoptera, Archotermopsidae). *J Insect Physiol* 59: 509-518. □
- ⑤ Sillam-Dusses D, Krasulova J, Vrkoslav V, Pytelkova J, Cvacka J, Kutalova K, Bourguignon T, Miura T, Sobotonik J (2012) Comparative study of the labial gland secretion in termites (Isoptera). *PLoS One* 7: e46431.
- ⑥ Hojo M, Maekawa K, Saitoh S, Shigenobu S, Miura T, Hayashi Y, Tokuda G, Maekawa H (2012) Exploration and characterization of genes involved in the synthesis of diterpene defence secretion in nasute termite soldiers. *Insect Mol Biol* 21: 545-557.
- ⑦ Bourguignon T, Hayashi Y, Miura T (2012) Skewed soldier sex ratio in termites: testing the size-threshold hypothesis. *Insectes Sociaux* 59: 557-563.
- ⑧ Bourguignon T, Sobotonik J, Sillam-Dusses D, Jiros P, Hanus R, Roisin Y, Miura T (2012) Developmental pathways of *Psammotermes hybostoma* (Isoptera: Rhinotermitidae): Old pseudergates make up a new sterile caste. *PLoS One* 7: e44527.
- ⑨ Toga K, Hojo M, Miura T, Maekawa K (2012) Expression and function of a limb-patterning gene *Distal-less* in the soldier-specific morphogenesis in the nasute termite *Nasutitermes takasagoensis*. *Evol*

*Dev* 14: 286-295.

- ⑩ Ishikawa Y, Miura T (2012) Hidden aggression in termite workers: plastic defensive behaviour dependent upon social context. *Anim Behav* 83: 737-745. □
- ⑪ Watanabe D, Gotoh H, Miura T, Maekawa K (2011) Soldier presence suppresses differentiation through a rapid decrease of JH in the termite *Reticulitermes speratus*. *J Insect Physiol* 57: 791-795.
- ⑫ Ikemoto Y, Miura T, Asama H (2010) Adaptive division-of-labor control algorithm for multi-robot systems. *Journal of Robotics & Mechatronics* 22: 514-525.
- ⑬ Koshikawa S, Cornette R, Matsumoto T, Miura T (2010) The homolog of *Ciboulot* in the termite (*Hodotermopsis sjostedti*): A multimeric beta-thymosin involved in soldier-specific morphogenesis. *BMC Developmental Biology* 10: 63.
- ⑭ Ishikawa Y, Okada Y, Ishikawa A, Miyakawa H, Koshikawa S, Miura T (2010) Gene expression changes during caste-specific neuronal development in the damp-wood termite *Hodotermopsis sjostedti*. *BMC Genomics* 11: 314.
- ⑮ Maekawa K, Ishitani K, Gotoh H, Cornette R, Miura T (2010) Juvenile hormone titer and vitellogenin gene expression related to ovarian development in primary reproductives, as compared to nymphs and nymphoid reproductives of the termite *Reticulitermes speratus*. *Physiol Entomol* 35: 52-58. □
- ⑯ Ikemoto Y, Ishikawa Y, Miura T, Asama H (2009) A mathematical model for caste differentiation in termite colonies (Isoptera) by hormonal and pheromonal regulations. *Sociobiology* 54: 841-859.
- ⑰ 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* 26: 382-388.

[学会発表] (計 17 件)

- ① 渡邊大, 松波雅俊, 重信秀治, 三浦徹, 前川清人, シロアリのカースト分化における社会生理機構に関するトランスクリプトミクス, 日本生態学会, 2014
- ② 杉目康広, 越川滋行, 三浦徹, Dachshundによるシロアリ兵隊の大顎伸長制御, 日本応用動物昆虫学会, 2014
- ③ 箕浦るん, 渡邊大, 三浦徹, オオシロアリにおける兵隊特異的な唾液腺分化と発現タンパクの同定, 日本昆虫学会, 2013
- ④ 杉目康広, 小川浩太, 渡邊大, 三浦徹, オオシロアリの前兵隊特異的なクチクラ形質と頭部伸長現象, 日本昆虫学会, 2013
- ⑤ 半本秀太郎, 渡邊大, 三浦徹, 前川清人, タカサゴシロアリにおける性とリンクした兵隊分化: 雌雄職蟻の幼若ホルモン量の比, 日本昆虫学会, 2013
- ⑥ Ishikawa Y, Tanabe K, Aonuma H, Miura T, Plastic defensive behavior of termite workers depending on social context, XXIV International Congress of

Entomology, 2013

- ⑦Watanabe D, Miura T, Maekawa K, Social interactions and gene expressions involved in the soldier differentiation of a termite *Reticulitermes speratus*, XXIV International Congress of Entomology, 2013
- ⑧北條優, 重信秀治, 林良信, 前川清人, 三浦徹, 徳田岳, タカサゴシロアリにおけるトランスクリプトーム解析から見えてきた攻撃方法の進化, 日本昆虫学会, 2013
- ⑨渡邊大, 松波雅俊, 林良信, 重信秀治, 三浦徹, 前川清人, シロアリのカースト分化制御機構の解明に向けたソシオゲノミクス的アプローチ, 日本生態学会, 2013
- ⑩箕浦るん, 阿部太亮, 渡邊大, 三浦徹, オオシロアリにおいて兵隊特異的に分化する唾液腺のプロテオミクス, 日本生態学会, 2013
- ⑪淀井智也, 北條賢, コルネット・リシャー, 宮川一志, 後藤寛貴, 林良信, 三浦徹, オオシロアリの腹板腺におけるカースト間差違の解析, 日本応用動物昆虫学会, 2012
- ⑫石川由希, 青沼仁志, 佐々木謙, 三浦徹, 兵隊シロアリの攻撃性はチラミンによってもたらされる, 日本動物学会, 2011
- ⑬石川由希, 田部慧, 三浦徹, ワーカーの隠された攻撃性-カースト組成に依存した可塑的な防衛行動-, 日本生態学会, 2011
- ⑭三浦徹, 石川由希, 田部慧, 北條賢, オオシロアリの擬職蟻にみられる攻撃行動の可塑性, 日本応用動物昆虫学会, 2011
- ⑮北條賢, 石川由希, 三浦徹, オオシロアリにおける兵隊特異的の化学物質とその社会機能, 日本生態学会, 2010
- ⑯ Miura T, Hattori A, Koshikawa S, Miyazaki S, Miyakawa H, Cornette R, Insulin signaling pathway responsible for the soldier differentiation in a damp-wood termite *Hodotermopsis sjostedti*, *Evolution*, 2009
- ⑰林良信, 宮田仁, 三浦徹, 北出理, ヤマトシロアリにおける親によるワーカーカストへの分化誘導, 日本進化学会, 2009

[図書] (計3件)

- ①吉村 剛 他編, 海青社, シロアリの事典, 2012, 471 (分担執筆)
- ②東 正剛, 辻 和希 編, 海游舎, 社会性昆虫の進化生物学, 2011, 477 (分担執筆)
- ③Bignell et al. (eds.), Springer, *Biology of Termites: A Modern Synthesis*, 2011, 576 (分担執筆)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

<http://noah.ees.hokudai.ac.jp/~miu/>

日本動物学会奨励賞 (2011)「昆虫類における社会性と表現型可塑性に関する生態発生学」

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

( )

研究者番号:

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: