

機関番号：13201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21770019

研究課題名（和文） シロアリ類のカースト分化と成虫器官の発達制御メカニズムの解析

研究課題名（英文） Studies on the regulatory mechanisms of imaginal organ developments during a caste differentiation 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（和文）：シロアリの繁殖上の分業の維持メカニズム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補充生殖虫の分化に伴う個体変化に注目した。特にヤマトシロアリでは、母巢から個体を隔離することで補充生殖虫の分化を引き起こし、分化前後の成虫器官の発生過程を整理することが出来た。さらに、補充生殖虫の分化後にはビテロジェニン（卵黄前駆タンパク質）遺伝子発現量や幼若ホルモン量が急激に増加することを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：To clarify the regulatory mechanisms of the division of labor in termites, I paid attention to the developmental changes during the differentiation of the supplementary reproductives (neotenic) of some species. Especially, in *Reticulitermes speratus*, neotenic differentiation was induced from premature individuals by the isolation from their maternal nests, and imaginal organ developments could be observed during neotenic differentiation. Moreover, vitellogenin gene expression and juvenile hormone titer were shown to be extraordinarily high in neotenic.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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。特に防衛を担うソルジャーの分化は、個体内の幼若ホルモン量の上昇が引き金になることが知られており、幼若ホルモンを投与することで人為的にソルジャー分化を誘導できることが多くの種で確かめられている。しかし一部の種で、成虫分化前の翅芽をもつ個体（ニンフ）に対しては、複眼や翅などの成虫

器官の発生が幼若ホルモンにより抑制されることを示唆する結果も得られている。

シロアリのコロニーにおいて繁殖を担うのは、巣を創設した女王や王（一次生殖虫）であるが、それらが死亡したり繁殖力が低下した場合には、未成熟個体から精巣や卵巣だけを大きく発達させた個体（補充生殖虫）が分化することが多くの種で知られる。日本最普通種であるヤマトシロアリ *Reticulitermes speratus* では、補充生殖虫はニンフとワーカーのそれぞれから分化できる。どちらも分化の過程で生殖腺を大きく発達させるが、その他の成虫器官（複眼など）の発達は抑制されることが示されている。幼若ホルモンは、多面発現的な機能を持っており、成虫では一般に生殖腺発達に重要であることが知られる。しかし、シロアリでも成熟した女王の幼若ホルモン量は高いことがいくつかの種で示唆されるものの、卵巣発達に対する影響はよく分かっていないのが現状である。昆虫一般で成虫化を促すホルモンであるエクダイソンに関しては、カースト間での合成量の差異も不明であり、シロアリにおける働きは未知である。また近年、膜翅目や一部の完全変態昆虫において、ドーパミンなどの生体アミンが生殖腺の発達を促すことを示唆する結果が得られているが、シロアリにおけるそれらの働きはおろか、存在自体も確かめられた例がない。

2. 研究の目的

繁殖上の分業を維持することは、シロアリの社会性を維持する上で極めて重要であるので、補充生殖虫の分化は厳密に調整されているはずである。シロアリで見られるカースト分化のうち、特にソルジャー分化の調節には、親である一次生殖虫が個体間の接触を介して、子虫の幼若ホルモン量に直接影響している可能性が強く示唆されている。しかし、補充生殖虫の分化制御については、一次生殖虫の存在下では出現しないこと以外全く分かっていないのが現状である。そこで本研究は、シロアリにおける繁殖上の分業の維持メカニズム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補充生殖虫の分化に注目して、生態学的・形態学的・分子生物学的アプローチから解析することを試みる。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 *Zootermopsis nevadensis*）、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 *Nasutitermes takasagoensis*）、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、(1) 補充生殖虫の分化に伴う生理的・形態的な変化を整理し、(2) 人為的な補充生殖虫の分化誘導

の確立を試みる。次に、(3) 補充生殖虫が保有する成虫器官（生殖腺・複眼・翅）の発達に対するホルモンや生体アミンの影響と効果を器官ごとに詳細に調べた上で、(4) 他のカースト（特に一次生殖虫）の存在による補充生殖虫の分化に対する影響を解析し、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ことを試みる。各分類群での解析結果を総合することで、補充生殖虫の分化制御は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、シロアリ類において、補充生殖虫の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。昆虫の脱皮や成長に不可欠なホルモンとして、幼若ホルモンとエクダイソンが挙げられ、生殖腺の発達に影響する生体内の因子として、社会性膜翅目を中心として生体アミンが注目されている。シロアリにおいて、特に幼若ホルモンはソルジャー分化に対する影響が詳しく調べられているが、鱗翅目や双翅目で知られるような、生殖腺発達の機能については未知である。エクダイソンに関しては、前胸腺からの分泌の可能性以外ほとんど研究されておらず、生体アミンは存在すら確かめられていない。ただし、膨腹した女王のアラタ体（幼若ホルモンの分泌器官）は大きく発達していることが数種で調べられているので、少なくとも幼若ホルモンは卵巣発達に大きな影響を与えていると考えられる。しかし補充生殖虫は、生殖腺以外の成虫器官の発達は見られないので、成虫化とは異なる器官発達の制御があるはずである。そこで本研究は、まず(1) 補充生殖虫への分化時にどのような生理的・形態的な変化があるのかを解析する。具体的には、(1a) 分化前後における体内の幼若ホルモン量とエクダイソン量をLC-MSを用いて測定する。また、(1b) 生殖腺発達に影響を与える因子として知られるドーパミンやセロトニン（生体アミン）量の差異をHPLC-ECDにより測定する。次に、(1c) 各成虫器官（生殖腺・複眼・翅）の外部と内部形態を走査型電子顕微鏡および組織切片を作製して詳細に観察する。器官発達に違いが見られた場合には、(1d) 成虫器官の分化や細胞成長に影響するシグナル伝達経路（e.g. インシュリン経路）の発現に違いがあるかを遺伝子発現解析により比較する。これらの結果を踏まえ、(2) 幼若ホルモンやドーパミンなどの投与による人為的な補充生殖虫の分化誘導を確立し、(3) 分化に伴う各成虫器官の発達に対するホルモンや生体アミンの影響を解析する。最後に、(4) 他のカースト（一次生殖虫やソルジャー）の存在が補充生殖虫の分化に及ぼす影響を

分化誘導実験を行って解析する。材料は、補充生殖虫の分化経路が既知で、当研究室で飼育観察の方法が確立しているヤマトシロアリを最初に使用する。続いて、より派生的・祖先的な種を解析して比較することで、シロアリにおける補充生殖虫の分化制御について総合的に考察する。

4. 研究成果

ヤマトシロアリを材料として、(1) 補充生殖虫の分化に伴う形態的な変化を整理し、(2) 人為的な補充生殖虫の分化誘導の確立を試みた。さらに、(3) 野外で採集した最終齢のニンフと補充生殖虫、および飼育下のコロニーから回収した女王の脳を取り出し、生体アミン(ドーパミン、セロトニン)および代謝産物量を HPLC-ECD により測定して比較した。(1) および (2) では、5 ステージ目のニンフ(7 齢個体)を母巢から隔離することにより、補充生殖虫の分化を効果的に引き起こすことができること、および分化後に卵巣小官数が顕著に増大することを明らかにした。(3) では、本種 1 個体の脳でも生体アミン量の測定が可能であることが示され、セロトニン量やドーパミン代謝産物量に 3 者間で相違が見られた。

続いてヤマトシロアリを用い、確立された補充生殖虫の分化方法を利用して、(4) ビテロジェニン(卵黄前駆タンパク質)遺伝子発現量の変動、および(5) 後腸の退縮と共生原生動物量の変動を解析し、補充生殖虫の分化に伴う個体変化を整理した。さらに、ネバダオオシロアリとタカサゴシロアリを用いて、(6) 同様の方法による補充生殖虫の分化誘導を試みた。(4) および (5) では、脱皮直後にビテロジェニン遺伝子発現量が急激に増大し、後腸サイズの縮小と原生動物量の低下が起こること示された。その後の卵巣の顕著な発達を促す生理的变化が生じている可能性が示唆される。(6) では、特にネバダオオシロアリにおいて、母巢からの隔離だけでなく、幼若ホルモン(JH)の投与でも、生殖腺を発達させた個体を幼虫段階から人為的に誘導できることが明らかとなった。本種では、兵隊様の形態をもつ補充生殖虫の存在が知られるが、外部形態がそれに類似した個体の誘導も可能であることも示された。

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 12 件)

Toga K, Hojo M, Miura T & Maekawa K. Presoldier induction by juvenile hormone analogue in the nasute termite

Nasutitermes takasagoensis (Isoptera: Termitidae). *Zoological Science*, 26: 382-388. 2009.

Hojo M, Toga K, Itai I & Maekawa K. Reference genes for real-time quantitative reverse transcriptase-PCR in the higher termite *Nasutitermes takasagoensis* (Isoptera: Termitidae) comparing soldiers with minor workers. *Sociobiology*, 54: 509-520. 2009.

Maekawa K, Ishitani K, Gotoh H, Cornette R & Miura T. Juvenile Hormone titre and vitellogenin gene expression related to ovarian development in primary reproductives compared with nymphs and nymphoid reproductives of the termite *Reticulitermes speratus*. *Physiological Entomology*, 35: 52-58. 2010.

Shimada K & Maekawa K. Changes in endogenous cellulase gene expression levels and reproductive characteristics of primary and secondary reproductives with colony development of the termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Insect Physiology*, 56: 1118-1124. 2010.

Watanabe D, Shirasaki I & Maekawa K. Effects of juvenile hormone III on morphogenetic changes during a molt from each nymphal instar in the termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Applied Entomology and Zoology*, 45: 377-386. 2010.

Ishitani K & Maekawa K. Ovarian development of female-female pairs in the termite *Reticulitermes speratus*. *Journal of Insect Science*, 10: 194. 2010. available online: insectscience.org/10.194

Okada Y, Miyazaki S, Koshikawa S, Cornette R, Maekawa K, Tsuji K & Miura T. Identification of a reproductive-specific, putative lipid transport protein gene in a queenless ponerine ant *Diacamma* sp. *Naturwissenschaften*, 97: 971-979. 2010.

Shimada K & Maekawa K. Description of the basic features of parent-offspring stomodeal trophallaxis in the subsocial wood-feeding cockroach *Salganea esakii*

(Dictyoptera, Blaberidae, Panesthiinae). *Entomological Science*, 14: 9-12. 2011.

Hojo M, Toga K, Watanabe D, Yamamoto T & Maekawa K. High-level expression of the *geranylgeranyl diphosphate synthase* gene in the frontal gland of soldiers in *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Archives of Insect Biochemistry & Physiology*, 77: 17-31. 2011.

Watanabe D, Gotoh H, Miura T & Maekawa K. Soldier presence suppresses presoldier differentiation through a rapid decrease of JH in the termite *Reticulitermes speratus*. *Journal of Insect Physiology* (in press). 2011.

Akamine M, Ishikawa K, Maekawa K & Kon M. The physical mechanism of cuticular color in *Phelotrupes auratus* (Coleoptera, Geotrupidae). *Entomological Science*, 14 (in press). 2011.

Akamine M, Maekawa K & Kon M. Phylogeography of Japanese population of *Phelotrupes auratus* (Coleoptera, Geotrupidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Zoological Science* (in press). 2011.

[学会発表] (計23件)

嶋田敬介, 前川清人 (2009年9月3日) シロアリ類とゴキブリ類における栄養交換行動の発達と社会性の進化. 第11回日本進化学会 (北海道大学).

嶋田敬介, 北條優, 前川清人 (2009年10月10日) エサキクチキゴキブリにおける親子間の栄養交換行動では何が受け渡されているのか? 第69回日本昆虫学会 (三重大学).

渡邊大, 白崎一佳, 前川清人 (2009年10月11日) ヤマトシロアリの成虫形質と兵蟻形質の発達に対する幼若ホルモンの影響. 第69回日本昆虫学会 (三重大学).

赤嶺真由美, 石川謙, 前川清人, 近雅博 (2009年10月12日) オオセンチコガネの鞘翅の構造色. 第69回日本昆虫学会 (三重大学).

北條優, 山本知代, 梅浩平, 前川清人 (2009年10月12日) ヤマトシロアリの兵隊にお

ける防衛物質合成に関わる遺伝子の発現解析. 第69回日本昆虫学会 (三重大学).

前川清人 (2010年3月15日) ヤマトシロアリのカースト分化に影響する生理的な変化. 第57回日本生態学会 (東京大学).

嶋田敬介, 前川清人 (2010年3月17日) シロアリ類におけるコロニーの発達に伴う給餌システムの変化と繁殖上の分業. 第57回日本生態学会 (東京大学).

渡邊大, 後藤寛貴, 三浦徹, 前川清人 (2010年3月17日) ヤマトシロアリにおける幼若ホルモンを介した兵隊カースト分化の調節. 第57回日本生態学会 (東京大学).

赤坂真也, 佐々木謙, 原野健一, 前川清人, 嶋田敬介, 長尾隆司 (2010年7月17日) ミツバチ雄における幼若ホルモンとドーパミン関連物質との関係. 第32回比較生理生化学会 (九州産業大学).

嶋田敬介, 前川清人 (2010年7月25日) シロアリ類と腸内微生物の共生関係に関する新たな知見-生殖虫はコロニーが発達すると共生原生生物を失う-. 平成22年度日本動物学会中部支部会 (岐阜大学).

北條優, 前川清人, 徳田岳 (2010年8月2日) シロアリにおけるゲラニルゲラニルニリン酸合成酵素のジテルペン合成への機能進化. 第12回日本進化学会 (東京大学).

Maekawa K, Yoshimura M, Shimada K, Watanabe D & Saiki R (2010年8月10日) Caste differentiation in female-female colonies of the termite *Reticulitermes speratus* (Rhinotermitidae). 第16回国際社会性昆虫学会議 (デンマーク・コペンハーゲン).

Toga K, Hojo M, Miura T, Maekawa K (2010年8月10日) Expression and functional analyses of Distal-less responsible for soldier-specific morphogenesis in nasute termites. 第16回国際社会性昆虫学会議 (デンマーク・コペンハーゲン).

Shimada K & Maekawa K (2010年8月12日) New perspective on the relationship between termites and symbionts: reproductives lose symbionts after colony maturation. 第16回国際社会性昆虫学会議 (デンマーク・コペンハーゲン).

Watanabe D & Maekawa K (2010年8月12日) Termite soldiers are responsible for the regulation of presoldier molt by rapid JH-decreasing effects in the colony. 第16回国際社会性昆虫学会議 (デンマーク・コペンハーゲン).

中村早寿, 板野紘宜, 菊池理, 前川清人 (2010年9月18日) ネバダオオシロアリの初期巣における兵蟻分化調節への生殖虫の影響. 第70回日本昆虫学会 (山形大学).

梶浩平, 北條優, 前川清人 (2010年9月20日) タカサゴシロアリの兵蟻特異的な器官形成における形態形成遺伝子の機能解析. 第70回日本昆虫学会 (山形大学).

北條優, 前川清人, 徳田岳 (2010年9月25日) 弾き飛ばし型の大顎を持つシロアリ兵隊における顎腺の機能. 第81回日本動物学会 (東京大学).

嶋田敬介, 前川清人 (2011年3月8日) シロアリ類とゴキブリ類における栄養交換行動の発達と社会性の進化. 第58回日本生態学会 (札幌コンベンションセンター).

嶋田敬介, 北出理, 前川清人 (2011年3月10日) シロアリ類における繁殖形質の発達と腸内に共生する原生生物の個体数との関係. 第58回日本生態学会 (札幌コンベンションセンター).

渡邊 大, 前川清人 (2011年3月11日) ヤマトシロアリにおける個体間相互作用による兵隊分化を調節する因子の伝達. 第58回日本生態学会 (札幌コンベンションセンター).

中村早寿, 前川清人 (2011年3月11日) ネバダオオシロアリの生殖虫は栄養交換によってソルジャー分化を調節する. 第58回日本生態学会 (札幌コンベンションセンター).

吉村美穂, 齊木亮太, 前川清人 (2011年3月11日) ヤマトシロアリの2雌による創設コロニーでの女王数とカースト分化との関係. 第58回日本生態学会 (札幌コンベンションセンター).

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.sci.u-toyama.ac.jp/bio/maekawa-lab/maekawa-index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前川 清人 (MAEKAWA KIYOTO)

富山大学大学院理工学研究部・准教授

研究者番号: 20345557

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

無し