

学 位 論 文 題 名

Defensive mechanisms against acorn tannins
in the Japanese wood mouse *Apodemus spicuosus*

（アカネズミにおける堅果中のタンニンに対する防御メカニズムの解明）

学位論文内容の要旨

1. 堅果（コナラ属樹木の種子）は、森林に生息する動物にとって秋から冬にかけての貴重な資源である。中でも、アカネズミ等の森林性野ネズミは種子を消費するだけでなく種子散布者でもあり、堅果との相互作用は特に密接である。即ち、コナラ属樹木は野ネズミに依存した更新様式を持ち、逆に野ネズミの個体数は堅果の豊凶に同調して変動することが報告されている。これらのことから、堅果は野ネズミにとって「良い餌」であると信じられてきた。ところが、ミズナラ等の堅果には被食防御物質タンニンが約10%という高濃度で含まれており、堅果の摂取は何らかの生理的なコストを伴うことが予測される。

そこで、本研究では、アカネズミと堅果とのタンニンを介した相互作用について化学生態学的な観点から研究を行った。具体的な研究項目は、以下の3点である。1) 堅果の栄養と防御物質の観点から野ネズミの個体群動態に与える堅果生産量の影響を再評価する。2) 堅果の摂食がアカネズミの生存、体重、及び消化機能に及ぼす影響を解明する。3) アカネズミがタンニンによる負の効果を軽減するために有している生理的・行動的なメカニズムを解明する。

2. ある種の堅果の豊作は野ネズミの個体群動態にプラスの効果を持たらす。一方で、堅果の栄養成分構成は種間で著しく異なっている。そこで、先行研究の解析を通じて、この反応の一般性を検証した。

堅果のタンニン及び脂質含有率には顕著な種間変異が認められ、クラスター分析によって3つのタイプに分類された。タイプ1は代謝可能エネルギーとタンニンに富み、タイプ2はタンニンを多く含むがエネルギーは少なく、タイプ3はタンニンが少なくエネルギーは中間的である。タイプ1と3に属する堅果では、堅果の豊作が野ネズミの個体群動態にプラスの効果を持つ事例が多数認められたが、タイプ2に属する堅果ではこのような反応は全く報告されていないことが判明した。タイプ3のようにタンニンを余り含まない堅果、あるいはタイプ1のようにタンニンを含んでいても高い代謝可能エネルギーによって補償が行われる堅果の場合には、豊作による資源の増加が野ネズミの個体数増加に結びつくものと考えられた。一方、ミズナラのような栄養的な価値の低いタイプ2の堅果の場合には、豊作による資源の増加は個体数の増加に必ずしも結びつかないことが示唆された。

3. 堅果の摂食がアカネズミに及ぼす影響を解明するために、タンニンを含まない人工飼料、コナラ及びミズナラ堅果を用いて供餌試験を行った。実験に用いたコナラとミズナラ堅果のタンニン含有率は、それぞれ2.7%及び8.6%であった。アカネズミは約3週間人工飼料で飼育した後、実験に供した。

実験期間中の死亡個体数は、各群8頭あたり人工飼料群では0、コナラ群では1であったのに対し、ミズナラ群では6頭であった。実験開始から5日間の体重変化は、人工飼料群で-1%、コナラ群で-17%、ミズナラ群では-24%に至った。また、窒素消化率はコナラ群が12%なのに対しミズナラ群では-17.5%と著しく低下していた。

以上の結果から、ミズナラのようなタンニンを多く含む堅果は、堅果を常食しているアカネズミにとっても潜在的に有害であることが明らかになった。

4. 野外ではアカネズミは堅果に強く依存して生活しているため、アカネズミは何らかのメカニズムによってタンニンが無害化して堅果を利用しているものと考えられる。想定される仮説のうち、有力であると考えられた貯食によるタンニン流失仮説と馴化仮説について検討した。

貯食によるタンニン流失仮説とは、貯食中に堅果内のタンニンが流失しアカネズミはタンニン含有量が少なくなった堅果を利用するという仮説である。この仮説を検証するために、ミズナラ及びコナラ堅果を1ないし3ヶ月間地中に保存しタンニン含有量の変化を調べたが、タンニン含有量に有意な変化は生じなかった。

馴化仮説は、徐々にタンニンを摂取することによってアカネズミはタンニンに対して生理的に馴化し、堅果を利用することが可能になるという仮説である。コナラ堅果をアカネズミ7頭に供餌し、体重変化及び消化機能について経時的な解析を行った。堅果供餌期間が長くなるにしたがい、アカネズミの摂食量及び窒素消化率には向上が認められた。また、体重が増加に転じる個体も認められた。このことは、タンニンの摂取に伴い、アカネズミがタンニンに対する馴化を獲得したことを示唆している。また、アカネズミはタンニンに対する防御物質であると考えられるタンニン結合性唾液タンパク質を産生し、分泌量は堅果摂食前後で5.5倍に増加した。以上の結果から、アカネズミがタンニンを多量に含む堅果を利用する上で馴化が重要であること、そして馴化にはタンニン結合性唾液タンパク質の分泌増加が関連している可能性が示唆された。

5. 馴化の効果を検証するために、アカネズミ2群（タンニン馴化群と非馴化群）にミズナラ堅果の供餌実験を行った。非馴化群では14頭中8頭が死亡したのに対し、馴化群では12頭中1頭のみが死亡した。体重減少は、非馴化群で-17.9%、馴化群で-2.5%であった。また、消化機能も馴化によって著しい改善が認められた。

体重変化を馴化の指標としてパス解析を行い、馴化をもたらすメカニズムについて解析した。その結果、体重変化は、消化率及び摂食量を介して、タンニン結合性唾液タンパク質とタンナーゼ産生腸内細菌（乳酸菌タイプ）の影響を受けることが明らかになった。即ち、唾液タンパク質を多く産生し、乳酸菌タイプのタンナーゼ産生細菌を多く持つアカネズミほど、体重減少が小さいことが判明した。なお、タンナーゼ産生腸内細菌は、タンニンとタンパク質の複合体を分解する作用を有しており、アカネズミにおいては2種類（連鎖球菌タイプと乳酸菌タイプ）の存在を確認した。

以上の結果から、タンニンが無害化する上で馴化が効果を持つこと、そして馴化の確立にはタンニン結合性唾液タンパク質とタンナーゼ産生細菌（乳酸菌タイプ）が関与していることが明らかになった。

6. 本研究の結果を総括し、アカネズミが有する堅果中のタンニンに対する防御メカニズムに関して議論を行い、野ネズミと堅果との相互作用を従来の「堅果＝良い餌」という枠組みから「動物は潜在的に有害な堅果を工夫して利用している」という新しい枠組みで考察することが必要であることを提示した。

さらに、今後の課題と研究の方向性として、1) 操作実験によるタンニン結合性唾液タンパク質とタンナーゼ産生細菌のタンニン防御メカニズムとしての効果の検証、2) タンニン結合性唾液タンパク質とタンナーゼ産生細菌の地理的変異の解析、3) タンニンに対する耐性の個体群間及び種間比較、を挙げた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 前 川 光 司
副 査 教 授 齋 藤 裕
副 査 教 授 高 橋 邦 秀
副 査 助 教 授 齋 藤 隆

学 位 論 文 題 名

Defensive mechanisms against acorn tannins in the Japanese wood mouse *Apodemus spicius*

(アカネズミにおける堅果中のタンニンに対する防御メカニズムの解明)

本研究は115ページの英文論文で、引用文献153を含み、6章で構成されている。他に参考論文6編が添えられている。

堅果（コナラ属樹木の種子）は、森林に生息する動物にとって秋から冬にかけての貴重な資源である。中でも、アカネズミ等の森林性野ネズミは種子を消費するだけでなく種子散布者でもあり、堅果との相互作用は特に密接である。これらのことから、堅果は野ネズミにとって「良い餌」であると信じられてきた。ところが、ミズナラ等の堅果には被食防御物質タンニンが約10%という高濃度で含まれており、堅果の摂取は何らかの生理的なコストを伴うことが予測される。

本研究では、1) 堅果の栄養と防御物質の観点から野ネズミの個体群動態に与える堅果生産量の影響を再評価し、2) 堅果の摂食がアカネズミの生存、体重、及び消化機能に及ぼす影響、および3) アカネズミがタンニンによる負の効果を軽減するために有している生理的・行動的なメカニズムを解明した。

先行研究の解析を通じて、堅果のタンニン及び脂質含有率には顕著な種間変異が認められ、クラスター分析によって3つのタイプに分類された。タイプ1は代謝可能エネルギーとタンニンに富み、タイプ2はタンニンを多く含むがエネルギーは少なく、タイプ3はタンニンが少なくエネルギーは中間的である。タイプ1と3に属する堅果では、堅果の豊作が野ネズミの個体群動態にプラスの効果を持つ事例が多数認められたが、タイプ2に属する堅果ではこのような反応は全く報告されておらず、このタイプに属するミズナラの場合には、豊作による資源の増加は個体数の増加に結びつかないことが示唆された。

堅果の摂食がアカネズミに及ぼす影響を解明するために、タンニンを含まない人工飼料、コナラ及びミズナラ堅果（タンニン含有率は、それぞれ2.7%及び8.6%）を用いて供餌試験を行った。

実験期間中の死亡個体数は、各群8頭あたり人工飼料群では0、コナラ群では1であったのに対し、ミズナラ群では6頭であった。実験開始から5日間の体重変化は、人工飼料群で-1%、コナラ群で-17%、ミズナラ群では-24%に至った。また、窒素消化率はコナラ群が12%なの

に対しミズナラ群では-17.5%と著しく低下していた。

以上の結果から、ミズナラのようなタンニンを多く含む堅果は、堅果を常食しているアカネズミにとっても潜在的に有害であることが明らかになった。

野外ではアカネズミは堅果に強く依存して生活しているため、アカネズミにおけるタンニンの無害化に関する仮説（タンニン流失仮説と馴化仮説）について検討した。

ミズナラ及びコナラ堅果を1ないし3ヶ月間地中に保存しタンニン含有量の変化を調べた結果、タンニン含有量に有意な変化は生じなかった。

コナラ堅果をアカネズミ7頭に供餌し、体重変化及び消化機能について経時的な解析を行った。堅果供餌期間が長くなるにしたがい、アカネズミの摂食量及び窒素消化率には向上が認められた。また、体重が増加に転じる個体も認められた。アカネズミはタンニンに対する防御物質であると考えられるタンニン結合性唾液タンパク質を産生し、分泌量は堅果摂食前後で5.5倍に増加した。以上の結果から、アカネズミがタンニンを多量に含む堅果を利用する上で馴化が重要であること、馴化にはタンニン結合性唾液タンパク質の分泌増加が関連している可能性が示唆された。

馴化の効果を検証するために、アカネズミ2群（タンニン馴化群と非馴化群）にミズナラ堅果の供餌実験を行った。非馴化群では14頭中8頭が死亡したのに対し、馴化群では12頭中1頭のみが死亡した。体重減少は、非馴化群で-17.9%、馴化群で-2.5%であった。また、消化機能も馴化によって著しい改善が認められた。

体重変化を馴化の指標としてパス解析を行った結果、体重変化は、消化率及び摂食量を介して、タンニン結合性唾液タンパク質とタンナーゼ産生腸内細菌（乳酸菌タイプ）の影響を受け、唾液タンパク質を多く産生し、乳酸菌タイプのタンナーゼ産生細菌を多く持つアカネズミほど、体重減少が小さいことが判明した。

本研究の結果を総括し、アカネズミが有する堅果中のタンニンに対する防御メカニズムに関して議論を行い、野ネズミと堅果との相互作用を従来の「堅果＝良い餌」という枠組みから「動物は潜在的に有害な堅果を工夫して利用している」という新しい枠組みで考察することが必要であることおよび本研究の問題点と今後の方向性を提示した。

以上のように本研究は、森林に生息する野ネズミと堅果との関係を明らかにし、その相互作用を明らかにしようとしたものであり、得られた成果は学術的に貴重なものであり、その応用のための基礎資料としても高く評価される。よって審査員一同は、島田卓哉が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。