

学位論文題名

Regulatory Mechanisms of the Alternative Developmental Pathway in ants: Caste and Sexual Differentiation

（アリ類における選択的な発生経路の調節機構：カースト分化と性分化）

学位論文内容の要旨

地球上の生物が示す表現型は極めて多様である。多くの生物学的研究がなされてはいるものの、表現型の多様化をもたらす発生及び進化機構は未だ解明されていない部分が多い。これらの生物の中では、同種であっても複数の表現型を生じる例が多くあり、それらの事例は表現型の進化に関する研究対象として非常に興味深い。中でも同種内で非常に多様な表現型（雌雄及びカースト間の多型）を示すアリ類は特筆に値する。多くのアリ種では核相（遺伝的要因）により性が決定され、さらに雌は環境要因によりカースト運命が決定される。従って、同一のゲノム情報を有していても異なる発生経路をたどることが可能である。そこで私は、この発生経路切替の機構を明らかにすることで、生物の表現型進化の機構について新たな知見をもたらすことができると考えた。本博士論文ではアリ類にみられる選択的な表現型発現の機構のうち2つについて調べた。

第一部では特殊なカーストを有するカドフシアリ *Myrmecina nipponica* のカースト分化について組織形態学的研究を、第二部では顕著な性差を示すトゲオオハリアリ *Diacamma* sp. の性分化について分子生物学的及び生理学的な研究を行った。

第一部：中間型繁殖カーストを有するカドフシアリにおけるカースト間の形態分化

カドフシアリは日本に広く分布し、その多くは有翅女王とワーカーからなる一般的な社会形態をとる。しかしながら北海道など一部の地域では2タイプのコロニーが存在し、それぞれ繁殖カーストが異なる。一方では一般的な有翅女王が、もう一方では無翅の中間型繁殖カースト（中間型）が繁殖を担う。有翅女王からも中間型が産出されうることから、全ての個体が3カーストのいずれにもなりうる潜在的な能力を有すると示唆される。第一部ではこれらの個体の発生過程の観察によりカースト分化における発生制御の機構について考察した。第一章ではそれらの3カーストの間で成虫形態を比較し、その結果、中間型は単純に女王とワーカーの中間的な形態を示すのではなく、女王と同程度に発達した形態とワーカーに類似した形態とを併せもつことが明らかとなった。第二章では、カースト特異的形態を示した器官（複眼、翅、生殖腺）においてその発生過程を比較し、各器官の間でカースト分化のタイミングが異なることを示した。この結果は

各器官の発生がモジュールとして独立に制御されること、そしてそれらの発生はカースト特異的にも制御されることを示唆した。従って第一部では、モジュール特異的及びカースト特異的な発生制御の両方が働くことにより本種に表現型の多型がもたらされること、また、本種の間接型のような表現型の進化には既存の形質の発生を改変することが重要であり、新規形質の獲得は必ずしも必要ではないと示唆された。

第二部：トゲオオハリアリにおける顕著な性差の発生機構

アリ類を含む膜翅目は性差の大きな分類群として知られるが、なかでもトゲオオハリアリの体色における性差は顕著である。また、ショウジョウバエなどを用いた研究により、昆虫の体色は単純な分子基盤により決定されることが知られる。従って本種の体色性差は膜翅目における性分化の発生機構研究のモデルケースとして適切である。そこで第三章では体色性差の発現過程を調べるとともにその分子基盤を明らかにした。体色の発現は、蛹期に蛹クチクラの下で形成される成虫クチクラに色素が沈着することで起こる。そこで蛹期に起こる体色発現の過程を観察し、雌では黒色、雄では赤褐色を示す体色性差が黒色メラニンの有無により生じることを示した。メラニンには黒色メラニン (DOPA melanin) と褐色メラニン (dopamine melanin) があり, *yellow*, *ebony*, *tan*, *dopa decarboxylase*, *pale* などの体色遺伝子群で構成される遺伝子経路の働きによって生成される。そこでそれらの体色遺伝子群の発現様式を雌雄で比較し、黒色メラニンの生成に関わるとされる *yellow* の発現量が雌で高いことを示した。さらに二本鎖 RNA 干渉 (dsRNAi) 法により *yellow* の発現抑制を行ったところ、雌において黒色化が抑制された。従って体色遺伝子経路の一要素である *yellow* が、モジュールとして性特異的な発現制御を受けることで体色性差が実現されることが示唆された。

昆虫の体色や性差形質の発生は、昆虫の脱皮を主に制御する幼若ホルモン (JH) に制御されるとの報告があり、本種の体色性差にも同様のホルモン制御の存在が示唆される。第四章では JH による体色性差の制御機構を調べた。JH 類似体の塗布処理により色素生成異常が誘導されたことから、JH は本種の体色に対して抑制的な効果を持つことが示唆された。さらに JH 処理個体では *yellow* 発現の低下など一部の体色遺伝子の発現に変化が認められた。また通常個体について、JH 感受期における JH 濃度の測定及び JH 受容体候補の 1 つ *Methoprene-tolerant* (*Met*) の発現量の定量を行い、雄の JH 濃度が高いこと、*Met* 発現には性差がみられないことを示した。これらの結果は JH 濃度の性差が体色遺伝子の発現制御を介して体色性差を制御することを示唆した。従って第二部では、JH の性特異的な働きにより、雌雄で共有する遺伝子経路の一部がモジュールとしてその発現様式を変更されることで、体色性差が実現されることを示唆した。

本博士論文では、アリ類における選択的な表現型発現において、モジュールごとの発生過程の改変が極めて重要な役割を果たすことが示唆された。つまり器官単位で発生過程が異なるモジ

ジュール性，もしくは遺伝子単位で発現パターンが異なるモジュール性が，単一ゲノムからの多様な表現型の創出に重要であると示唆された．また，既存の発生経路が別の発生学的局面においても関与するようになり（co-option），さらに結果として生じた表現型が適応的意義を獲得することで新たな表現型の進化が起こりうると推測された．表現型の発現や進化におけるモジュール性及び発生モジュールの co-option の重要性を示唆した本研究が，生物に表現型の多様化をもたらす発生及び進化機構を解明する端緒となることを期待する．

学位論文審査の要旨

主 査 准教授 三 浦 徹
副 査 教 授 木 村 正 人
副 査 教 授 東 正 剛

学 位 論 文 題 名

Regulatory Mechanisms of the Alternative Developmental Pathway in ants: Caste and Sexual Differentiation

(アリ類における選択的な発生経路の調節機構：カースト分化と性分化)

地球上の生物が示す表現型は極めて多様で、その多様化をもたらした進化発生学的メカニズムの解明は生物学上の重要なテーマの1つである。表現型が多様化した過程において、同じゲノムを共有する個体間で環境条件に応じて表現型を変える能力：表現型可塑性の担う役割は大きかったと考えられている。膜翅目は同じゲノムを共有するコロニーメンバー間で多様な表現型を示すことで知られるが、本学位論文では、その膜翅目の中でも表現型分化の顕著なアリ類に注目し、それらの発生分化過程に対して多面的な解析を行った点がユニークである。第一部ではカドフシアリ *Myrmecina nipponica* にみられる特殊なカースト分化について組織形態学的な研究を、第二部では顕著な性的二型を示すトゲオオハリアリ *Diacamma* sp. の性分化について分子生物学的および生理学的な研究を行った。そして特定のモジュール(器官や細胞、遺伝子経路など、形態形成の単位)に対する発生制御の改変が両方の現象に共通する発生機構であると示唆することができた。また、それぞれの現象に対して適切な材料を選択したことで、前者ではカーストの進化について進化発生学的に重要な示唆をもたらし、後者では性的二型形質の発現に関わる分子基盤を確立するとともに、それがホルモン制御を受けることを明確に示すことができた。

カドフシアリには2タイプのコロニーが存在し、それぞれ繁殖カーストが異なる。一方は一般的な有翅女王が、もう一方は無翅の中間型繁殖カースト(中間型)が繁殖を担う。有翅女王からも中間型が産出されうることから、全ての個体が潜在的には3カーストのいずれにもなりうると示唆される。第一部ではこれらの個体の発生過程の観察によりカースト分化における発生制御の機構について考察した。第一章ではそれらの繁殖カーストとワーカーの間で

成虫形態を比較し、中間型は女王と同程度に発達した形態とワーカーに類似した形態とを併せ持つことを示した。第二章では、カースト特異的形態を示した器官においてその発生過程を比較し、各器官の間でカースト分化のタイミングが異なることを示した。従って第一部では、本種の発生分化がモジュール（器官）特異的およびカースト特異的な発生制御の組み合わせによって調節されること、また、本種の中間型のような表現型の進化には既存の形質の発生を改変することが重要であり、新規形質の獲得は必ずしも必要ではないことが示唆された。

アリ類を含む膜翅目は性差の大きな分類群として知られるが、なかでもトゲオオハリアリの体色における性差は顕著だ。また、昆虫の体色は単純な分子基盤により決定されることが知られる。従って本種の体色性差は膜翅目における性分化の発生機構研究のモデルケースとして適切だ。そこで第三章では体色性差の発現過程を調べるとともにその分子基盤を明らかにした。体色発現過程を観察し、雌では黒色、雄では赤褐色を示す体色性差が黒色メラニンの有無により生じることが示唆された。続いてメラニン生成に関わる体色遺伝子群の発現様式を雌雄で比較し、黒色メラニンの生成に関わる *yellow* の発現量が雌で高いことを示した。さらに RNAi 法による遺伝子機能解析により、*yellow* は雌の黒色化に強く関与することが示唆された。

昆虫の体色や性差形質の発生は、昆虫の脱皮を主に制御する幼若ホルモン（JH）に制御されたとの報告があり、本種の体色性差にも同様のホルモン制御の存在が示唆される。第四章では JH による体色性差の制御機構を調べた。JH 類似体の塗布処理により色素生成異常が誘導されたことから、JH は本種の体色に対して抑制的な効果を持つと示唆された。また JH 感受期における JH 濃度は雄の方が高いことが示された。さらに JH 処理個体では *yellow* など一部の体色遺伝子の発現に変化が認められた。これらの結果は JH 濃度の性差が体色遺伝子の発現制御を介して体色性差を制御することを示唆した。従って第二部では、JH の性特異的な働きにより、雌雄で共有する遺伝子経路の一部がモジュールとしてその発現様式を変更され、それを介して体色性差が実現されることを示唆した。

本学位論文では非モデル生物であるアリ類を材料に、幼虫期間におけるカースト分化過程に注目した組織形態学的解析や RNAi 法を用いた遺伝子機能解析を行った点、またホルモン制御に対する遺伝子発現の応答を明確に示した点は特筆すべきであり、世界でも類を見ない研究と言える。本研究を参考として、膜翅目の表現型分化に関する研究は今後大きく発展することが期待できるだろう。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、また、未開拓の材料や現象に挑戦する研究者としての姿勢、大学院過程における研鑽をあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと判定した。