

学 位 論 文 題 名

The neurological and molecular mechanisms of soldier defensive behavior in termites

（兵隊シロアリの防衛行動に関する神経分子基盤）

学位論文内容の要旨

社会性昆虫のコロニーは血縁者で構成されており、コロニーメンバーは遺伝的な違いがほぼ無いにも関わらず、あるタスクに特化した形態や行動を示す「カースト」に分化し、分業することでコロニーの生産性を上昇させている。シロアリの兵隊は防衛に特化したカーストで、発達した大顎や顎腺分泌物で外敵に対し積極的に攻撃する。この兵隊特異的な高い攻撃性には、特異的な神経回路や遺伝子発現が関与していると考えられるが、その詳細は全く分かっていない。本論文は、兵隊の攻撃性や防衛行動を司るしくみを明らかにし、そこから、シロアリにおける兵隊の進化プロセスに関して考察したものである。

主な材料としては、大型で神経系が扱いやすいオオシロアリ *Hodotermopsis sjostedti* を用いた。

Chapter 1. 防衛行動の定量とカースト差

まず初めに、クロヤマアリを外敵とした人工コロニーを用い、シロアリの単独時の攻撃性を定量した。その結果、シロアリの攻撃性は、兵隊＞擬職蟻（ワーカー）＞生殖虫の順に高かった。さらに、攻撃性に対する他個体の影響を調べると、兵隊の存在下での擬職蟻の攻撃性は生殖虫と同じレベルまで低下するが、生殖虫の存在下での擬職蟻の攻撃性は、兵隊と同レベルにまで上昇することがわかった。つまり擬職蟻は社会的な文脈（カーストの構成）によって攻撃性を可塑的に変化させていたのである。このような行動の可塑性は兵隊や生殖虫には観察されなかった。擬職蟻が状況に応じて攻撃性を変化させることで、コロニーの繁殖能力を効果的に守ることができると考えられる。

Chapter 2. 兵隊の防衛行動におけるチラミン・オクトパミンの役割

攻撃性は動物に広く見られ、その変動には生体アミンが関連していることが多い。本論文では、様々な昆虫において攻撃性との関連が知られるオクトパミン（OA）とその前駆体であるチラミン（TA）に注目した。高速液体クロマトグラフィによる計測の結果、脳、食道下神経節内のTA量が兵隊で有意に高いことがわかった。一方、OA量には差がなかった。兵隊と擬職蟻の脳と食道下神経節を免疫染色すると、兵隊のTA免疫反応性ニューロンの一部がワ

ーカーよりも肥大していた。これらのニューロンは、中大脳を中心体付近、後大脳、食道下神経節、胸部神経節などの中枢、また大顎筋や触角などに投射していることがわかった。TAはOAの前駆体であると同時に、それ自体も神経調節機能を持つ。このため、兵隊におけるTAレベルの増加やTA免疫反応性ニューロンの肥大化の解釈として、(1) OAが兵隊の高い攻撃性をもたらしており、TAはその前駆体として増加している、もしくは(2) TAそのものが高い攻撃性をもたらしている、というふたつが考えられた。これらを検証するため、OAとTAの投与が擬職蟻の攻撃性に与える影響を調べた。その結果、TAの投与により、擬職蟻の攻撃性が有意に上昇することが分かった。一方、OAの投与ではそのような効果は見られなかった。このことから、シロアリにおいてはTAが攻撃性を調節しており、兵隊特異的な高い攻撃性の実現に寄与していることが示唆された。

Chapter 3. 咬みつき型兵隊とスプレー型兵隊の運動制御システムの比較

兵隊は種によって多様な防衛行動を進化させている。これらの防衛行動は大顎で咬みつく「物理的防衛」と忌避性の分泌液を噴射する「化学的防衛」に大きく分けられ、化学的防衛は進化的に派生的である。これらの異なる防衛行動は、それぞれ異なる神経機構で支配されているのだろうか？本論文では咬みつき型兵隊を持つオオシロアリと、額腺から毒液をスプレーする兵隊を持つタカサゴシロアリを用いて、その防衛行動を支配する運動系を比較した。

オオシロアリのカースト間で顎運動ニューロンを比較すると、兵隊の細胞体はワーカーより大きく発達していることがわかった。一方、タカサゴシロアリの兵隊の顎運動ニューロンは、顎運動ニューロンの一部のみ肥大化していた。肥大化したニューロンは毒液噴射を司る筋肉を支配し、残りのニューロンは退縮した大顎を支配していると考えられる。このことから、一見多様に見える兵隊の防衛行動も、背景には共通した神経メカニズムが存在しており、僅かな改変が新しい行動の獲得をもたらしていることが分かる。

Chapter 4. 兵隊分化特異的な神経発生に關与する遺伝子発現変化

兵隊特異的な神経構造がどのような遺伝子によってもたらされるのかを調べるために、Differential display法と定量PCRによる遺伝子発現スクリーニングを行った。その結果、兵隊分化過程の神経系で発現が上昇している遺伝子群は、*14-3-3e*, *Ciboulot*, *β -tubulin*などニューロンの形態を変化させる機能を持つものだった。これらの遺伝子が、顎運動ニューロンやTA免疫反応性ニューロンの肥大化などの、兵隊特異的な神経回路の形成に關与していると考えられる。

以上のような一連の研究において、兵隊シロアリにおいて高い攻撃性や防衛行動をもたらす分子・神経メカニズムが明らかにされた。これらの兵隊特異的な神経機構の獲得が、兵隊の進化プロセスに重要な役割を担っていたと考えられる。

学位論文審査の要旨

主査	准教授	三浦	徹
副査	教授	東	正剛
副査	教授	木村	正人
副査	准教授	青沼	仁志（電子科学研究所）

学位論文題名

The neurological and molecular mechanisms of soldier defensive behavior in termites

（兵隊シロアリの防衛行動に関する神経分子基盤）

生物に見られる複雑な形質の進化プロセスを理解することは現代科学の主要な命題の一つである。なかでもアリやハチなどをはじめとする真社会性昆虫にみられる高度に発達した社会性は、進化によってもたらされた最も精巧な性質の一つとして古くから学術的興味を惹きつけてきた。本学位論文は同じく真社会性昆虫であるシロアリの社会行動、特に兵隊カースト特異的な防衛行動や高い攻撃性に注目し、これらの神経分子基盤を探ることが主題となっている。社会生態学という文脈でしか取り上げられることのなかったシロアリの行動学に、分子生物学や生理学的な解析を導入した申請者の研究は非常に独創的であり、社会生物学に新たな知見をもたらす研究となっている。

第一章で申請者は、オオシロアリ *Hodotermopsis sjostedti* を用いて攻撃性を人工環境下で定量し、防衛行動のカースト特異性をもたらすメカニズムを探る基盤を確立した。またその実験過程で、擬職蟻の攻撃性が他個体の存在によって変化することを新たに発見した。兵隊の存在下での擬職蟻の攻撃性は生殖虫と同じレベルまで低下したが、生殖虫の存在下での擬職蟻の攻撃性は、兵隊と同レベルにまで上昇した。一方、兵隊や生殖虫はこのような変化を見せなかった。古くから擬職蟻は兵隊にも生殖虫にも分化できる全能性を持つことが知られていた。本研究によって、擬職蟻はこの発生学的な可塑性に加え、行動学的にも高い可塑性を持ち、社会的な文脈（カースト組成）に応じて攻撃性を柔軟に変化させていることが示唆された。このような擬職蟻の可塑的な攻撃性はコロニーの効果的な防衛に大きく寄与していると考えられる。

第二章では、兵隊特異的な攻撃性をもたらす生理活性物質の候補として生体アミンに焦点が当てられた。申請者は第一章に引き続きオオシロアリを材料に様々なアプローチでシロアリの社会行動と生体アミンの関連について解析している。高速液体クロマトグラフィによる脳内アミン量の計測の結果、脳、食道下神経節内ではチラミン量が兵隊で有意に高いこと

がわかった。また、兵隊と擬職蟻の脳と食道下神経節を抗チラミン抗体で免疫染色すると、兵隊のチラミン免疫反応性ニューロンの一部がワーカーよりも肥大していた。これらのニューロンは、中大脳を中心体付近、後大脳、食道下神経節、胸部神経節などの中枢、また大顎筋や触角などに投射していることがわかった。チラミンはオクトパミンの前駆体であると同時に、それ自体も生理活性物質としての性質を持つ。このため、兵隊におけるチラミンレベルの増加やチラミン免疫反応性ニューロンの肥大化の解釈として、(1) オクトパミンが兵隊の高い攻撃性をもたらしており、チラミンはその前駆体として増加している、もしくは(2) チラミンそのものが高い攻撃性をもたらしている、というふたつが考えられた。これらを検証するため、オクトパミンとチラミンの投与が擬職蟻の攻撃性に与える影響を調べた。その結果、チラミン投与により擬職蟻の攻撃性が有意に上昇したが、オクトパミンの投与ではそのような効果は見られなかった。このことから、シロアリにおいてはチラミンが攻撃性を調節しており、兵隊特異的な高い攻撃性の実現に寄与していることが示唆された。

第三章ではシロアリ目の多様な防衛行動に関して、その運動制御メカニズムの種間比較を行っている。兵隊は種によって多様な防衛行動を進化させており、大顎で咬みつく「物理的防衛」と忌避性の分泌液を噴射する「化学的防衛」に大きく分けられる。これまでの系統的解析から、化学的防衛は進化的に派生的であるとされている。本論文では物理学的防衛を行うオオシロアリと、化学的防衛を行うタカサゴシロアリ *Nasutitermes takasagoensis* を用いて、その防衛行動を支配する運動系を比較している。オオシロアリのカースト間で大顎運動ニューロンを比較すると、兵隊の細胞体はワーカーより大きく発達していることがわかった。一方、タカサゴシロアリの兵隊の大顎運動ニューロンは、大顎運動ニューロンの一部のみ肥大化していた。肥大化したニューロンは毒液噴射を司る筋肉を支配し、残りのニューロンは退縮した大顎を支配していると考えられる。このことから、一見多様に見える兵隊の防衛行動も、背景には共通した神経メカニズムが存在しており、僅かな改変が新しい行動の獲得をもたらしていることが示唆される。

第四章では、ここまでの研究で発見された兵隊特異的な神経構造がどのような遺伝子によってもたらされるのかを調べるために、Differential display法と定量qRT-PCRによる遺伝子発現スクリーニングを行っている。その結果、兵隊分化過程の神経系で発現が上昇している遺伝子群は、*14-3-3e*, *Ciboulot*, *β -tubulin* などニューロンの形態を変化させる機能を持つものだった。これらの遺伝子が、大顎運動ニューロンやTA免疫反応性ニューロンの肥大化などの、兵隊特異的な神経回路の形成に関与していることが示唆される。

申請者のこれらの研究において、兵隊シロアリにおいて高い攻撃性や防衛行動をもたらす分子・神経メカニズムが明らかにされた。本学位論文においては特に、非モデル生物であるシロアリを材料に、様々な異なるレベル（行動、ニューロンの形態、遺伝子発現、生理活性物質）から社会行動に対してアプローチし、明確な結果を示した点は高く評価できる。本研究を参考として、シロアリ目の社会行動や分業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、大学院博士課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。