



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                                      |
|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | Molecular developmental mechanisms of soldier-specific morphogenesis in a termite [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s)           | 杉目, 康広                                                                                                                                               |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                                |
| Degree Name         | 博士(環境科学)                                                                                                                                             |
| Dissertation Number | 甲第12669号                                                                                                                                             |
| Issue Date          | 2017-03-23                                                                                                                                           |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/65292">https://hdl.handle.net/2115/65292</a>                                                                    |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/</a>                            |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                      |
| File Information    | Yasuhiro_Sugime_review.pdf, 審査の要旨                                                                                                                    |



# 学位論文審査の要旨

博士 (環境科学)

氏名 杉 目 康 広

|      |    |     |       |
|------|----|-----|-------|
| 審査委員 | 主査 | 准教授 | 三 浦 徹 |
|      | 副査 | 教 授 | 大 原 雅 |
|      | 副査 | 教 授 | 鈴 木 仁 |

## 学位論文題名

Molecular developmental mechanisms of soldier-specific morphogenesis in a termite  
(シロアリにおける兵隊特異的な形態形成の分子発生機構)

社会性昆虫であるシロアリのカースト分化は後胚発生の過程で起こり、各役割に適したカースト特異的な形態変化が生じる。そのため、カースト特異的な形態形成の発生機構もまた、シロアリ社会の維持にとって重要な要素と言える。特に、巣の防衛を専門に行う兵隊カーストはシロアリ社会の中で最も特徴的な発生段階であり、兵隊形質の獲得はシロアリ社会の進化において重要なイベントの1つだったと言える。兵隊分化は昆虫一般に脱皮や変態、生殖にとって重要な幼若ホルモン (JH) により引き起こされることが明らかになっており、JH 及び JH により活性化される因子が兵隊特異的な形態形成に関与することが推測される。本学位論文では、どのような発生機構の獲得が兵隊特異的な形態の進化にとって重要だったかを明らかにするために、ワーカーへと JH 類似体を投与することで人為的に兵隊分化を誘導することができるオオシロアリ *Hodotermopsis sjostedti* を用いて、組織や時期に特徴的な発生現象に対する組織形態学および分子生物学的解析を行った。本種では、ワーカーから前兵隊、そして兵隊へと分化する過程で、外敵に噛み付くための大顎を含む頭部が著しく発達する。第一章では前兵隊脱皮時の大顎伸長における形態形成因子の発現および機能解析、第二章では前兵隊脱皮後の発生過程における組織形態学的な観察、第三章では第二章で発見した発生現象に対する分子生物学的解析をそれぞれ行った。

形態形成因子は生物の身体に位置情報を与える遺伝子群である。兵隊分化の過程では、大顎が顕著に伸長するため、この伸長には形態形成因子が与える位置情報の関与が予想された。第一章では、大顎特異的な伸長に寄与する形態形成因子を特定するため、他の昆虫種で付属肢形成の主要な機能を果たすことが報告されている17個の形態形成因子に対して、兵隊分化過程における遺伝子の発現および機能を解析した。その結果、付属肢中間部の形成に寄与する *dachshund (dac)* という遺伝子が前兵隊分化前の大顎で顕著に発現していた。この遺伝子を RNAi 法によってノックダウンすると、大顎が比較的伸張していない前兵隊が出現した。本種では、細胞増殖制御に関わるインスリン伝達経路 (IIS) が JH 投与後から活性化して大顎が伸長することを報告しており、高レベルの JH は大顎での IIS 活性化に寄与すると考えられる。さらに、大顎特異的な伸長には「大顎」の位置情報も必要だと考えられるため、Hox 遺伝子 *Deformed (Dfd)* にも着目した。そこで、これらホルモン経路と形態形成因子の上流下流の関係を明らかにするため、ホルモン受容体と形態形成因子をそれぞ

れ RNAi 処理した時のこれら遺伝子の発現への影響を調べたところ、JH と IIS はいずれも上流で形態形成因子の発現を制御し、さらに *Dfd* は *dac* の発現を制御することが明らかとなった。第一章では、兵隊の進化過程において *dac* の機能的な変化と *Dfd* のホルモンに対する応答性の獲得が起こったことが示唆された。特に *Hox* 遺伝子の発現をホルモンが制御することは昆虫で初の報告例となった。

兵隊は必ず前兵隊という特殊な発生段階を経て分化するにも関わらず、前兵隊の期間で起こる発生現象の知見は乏しい。前兵隊のクチクラは他のカーストと異なり色が白く硬化していないことから、前兵隊のクチクラは伸長しやすい性質を持つことが予想された。第二章では、この予測の下、前兵隊の期間で頭や大顎を含む各部位のサイズを経時的に計測した。その結果、体の前後軸に沿った頭長だけが前兵隊脱皮後14日の間に有意に増大した。詳細な組織形態観察によって、脱皮直後の前兵隊には頭部前側の領域を構成する *frons* に存在する皺構造が2週間かけて伸展することや、*frons* のクチクラは脱皮後7日の間に急激に肥厚し、その後薄くなることが示された。以上の結果から、兵隊の頭部形成には前兵隊期間での緩やかな成長も必要であり、前兵隊クチクラのゴムが伸びるような柔軟性がそれを可能にしていることを示唆した。さらに、前兵隊においては他カーストと異なる特殊なクチクラタンパクが用いられていることも示唆した。

昆虫のクチクラはキチンとタンパク質のポリマーで構成されており、物理的な性質は様々な種類のクチクラタンパク (CP) の組成や硬化の程度に依存する。JH や エクダイソンといったホルモンは CP 遺伝子やクチクラの硬化に関与する遺伝子の時空間的な発現を制御する。第三章では、前兵隊の柔軟なクチクラ形成に関与する遺伝子の特定を目的とし、兵隊分化過程における頭部の CP 遺伝子の発現および機能解析を行い、さらにホルモン関連遺伝子やクチクラ硬化時に活性化する *Laccase2* (*Lac2*) の発現との相関を調べた。その結果、*CP4* という遺伝子が前兵隊ステージに限定して発現しており、*CP4* のノックダウンによって前兵隊の頭部伸長とクチクラの肥厚が抑制された。また、ホルモン関連遺伝子の発現パターンとの比較では、エクダイソンの受容体 (*EcR*) のアイソフォーム特異的な発現が *CP4* の発現と相関することを示唆した。さらに、*Lac2* は脱皮直後のワーカーで高発現する一方で、前兵隊の脱皮直後はほぼ発現しなかった。以上の結果から、前兵隊に限定的な *CP4* の発現と脱皮直後における硬化の抑制が前兵隊ステージの頭部伸長を可能にするクチクラの柔軟性にとって重要であることが示唆された。また、これら遺伝子の発現時期をホルモン受容体のアイソフォームが制御していることが考察された。

本学位論文は前兵隊の脱皮前後の期間それぞれに着目し、分子生物学的および組織形態学的研究を行うことで、兵隊分化に際する新たな知見を提供した。第一章では既存の遺伝子の機能的な変化および発現制御機構の改編が兵隊の大顎伸長に必要であったことを示した。また、第二章と第三章では前兵隊に限定した頭部の伸長現象とそれに寄与する遺伝子の獲得が兵隊の進化過程で起こったことを示唆した。審査員一同は、これらの成果に加えて、審査会での申請者による創意工夫を凝らしたプレゼンテーション技術も高く評価した。さらに、申請者の生命現象に対する真摯な研究姿勢、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士 (環境科学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。