



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Ecological and evolutionary traits of pathogenic bacteria hijacking the Stinkbug-Caballeronia symbiotic system [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	石神, 広太
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第15293号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89472
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Ishigami_Kota_review.pdf, 審査の要旨



【課程博士】

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博　士（農学） 氏名 石　神　広　太

審査担当者	主査	客員准教授	菊池義智
	副査	客員教授	鎌形洋一
	副査	客員教授	湯本勲
	副査	教授	曾根輝雄 (国際食資源学院)

学 位 論 文 題 名

Ecological and evolutionary traits of pathogenic bacteria hijacking the stinkbug-*Caballeronia* symbiotic system

(カメムシ-*Caballeronia* 共生系を乗っ取る病原性細菌の進化生態学的特性に関する研究)

石神広太氏の学位論文に関する審議委員会は 2023 年 1 月 31 日（火）15:50～17:00 に行われ、内容に関する審査が行われた。本学位論文は、図 16、表 4、引用文献 199 編を含む 4 章 94 ページから構成され、別に 2 編の参考論文が添えられている。

微生物との共生現象は広く動植物にみられるが、多くの共生系において宿主-微生物間にみられる相互作用の実態はほとんど解明されていない。ヘリカメムシ上科やナガカメムシ上科に含まれる多くの種は、一般的な昆虫とは異なり共生細菌の母子間伝播を行わず、毎世代土壤中から *Caballeronia* 属の共生細菌を獲得し、消化管後端部に発達する袋状組織（盲囊）に特異的に保持することが知られている。本学位論文は、未だ共生に関する研究が十分ではないナガカメムシ上科の種を対象に、*Caballeronia* 属細菌との共生の実態解明を行うとともに、その過程で発見された病原性細菌の特徴を詳細に解明したものであり、成果は以下のように要約される。

1) チャモンナガカメムシにおける *Caballeronia* 細菌との共生関係の解明

これまでにヘリカメムシ上科における共生系については多くの研究が行われてきたが、ナガカメムシ上科については共生の実態がほとんど調べられていない。今回の研究では、チャモンナガカメムシ (*Paradieuches dissimilis*) を対象として、その腸内共生の実態解明を行った。道内 10 箇所 で採集したチャモンナガカメムシの腸内共生器官について 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンス解析を行ったところ、*Caballeronia* 属細菌が優占であることが明らかとなった。共生器官から分離培養した *Caballeronia* 共生細菌の感染・飼育実験の結果、共生細菌を保持していない個体は、共生個体と比較して体色が薄く、体サイズも減少した。さらに非共生個体は生存率も低くなり、成虫になることができないことが判明した。このことは、チャモンナガカメムシにとって *Caballeronia* 共生細菌は必須であることを示しており、これは、今までに知られていたカメム

シ-*Caballeronia* 共生系の中でも最も緊密な共生系といえる。

2) カメムシ-*Caballeronia* 共生系を乗っ取る致死性病原細菌の発見

今までに調査されたカメムシ共生系の多くは、宿主が共生細菌を環境中から獲得する水平伝播共生系であることが知られている。水平伝播共生系の場合、環境中に生息する有害細菌を取り込んでしまう可能性があることから、宿主は共生細菌を選別する高度な仕組みを発達させている場合が多い。カメムシ-*Caballeronia* 共生系のモデルとして知られるホソヘリカメムシ (*Riptortus pedestris*) の研究により、消化管に発達する「狭窄部」が共生者の選別に重要であることが明らかとなっている。また、消化管には多様な抗菌ペプチドが発現しており、これも細菌の選別に寄与する。加えて、腸内では細菌同士の激しい競合が起き、これによって *Caballeronia* 共生細菌が最終的に優先化することが知られている。今回の研究では、チャモンナガカメムシから単離された *Burkholderia* sp. SJ1 株 (以下 SJ1) が、これら多層的な選別機構を突破して共生器官で優先化し、最終的に宿主を殺してしまうことを発見した。SJ1 をホソヘリカメムシの幼虫に与えてみたところ 100%の感染率を示し、*Caballeronia* 共生細菌と比較して共生器官内での増殖は遅延するものの、最終的には共生細菌と同程度にまで増殖することが明らかとなった。しかし、共生細菌感染時とは異なり、SJ1 に感染した個体は 80%以上の高い死亡率を示した。共焦点顕微鏡による共生器官の観察から、SJ1 に感染した昆虫の共生器官では、免疫反応の一種であるメラニン化が起きており、また、腸管細胞内に SJ1 が入り込み無差別に増殖している様子が観察された。加えて、宿主体液からも SJ1 が検出され、宿主の共生器官を破り体液中へと侵入し、敗血症を引き起こすことでカメムシ宿主を殺すことが明らかとなった。また、SJ1 は宿主の抗菌ペプチドに対して強い耐性を示すとともに共生器官内で高い競合性を示し、共生器官内において *Caballeronia* 共生細菌と拮抗していることが明らかとなった。これらの結果から、SJ1 は、宿主が発達させた幾重もの選別機構を掻い潜る能力を持ち、宿主の共生器官に潜り込む致死性の病原性細菌であると結論付けることができる。

以上のように、チャモンナガカメムシが *Caballeronia* 属細菌と腸内共生を行っており、これら共生細菌が宿主にとって必須であることを明らかにした。また、これらカメムシの常在微生物を解析する過程で、カメムシに高い致死性を示す病原細菌の発見に成功した。この病原細菌 (*Burkholderia* sp. SJ1 株) は、宿主カメムシが共生細菌選別のために進化させてきた幾重もの機構を突破する能力を持ち、これによって共生器官に巧妙に侵入し、共生細菌をも排除しながら増殖して最終的に宿主カメムシを殺してしまうという、非常にユニークな性質を持つことを明らかにした。本研究は、共生系を破壊して宿主を殺すという新たなタイプの病原細菌を発見した点で独創性が高く、内部共生研究を新たな方向へと導くランドマーク的な研究と言える。

よって、審査員一同は、石神広太が博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。