HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | Elucidation of a unique vertical symbiont transmission system and mechanisms of host behavior modulation in stinkbug-Caballeronia symbiosis |
| Author(s) | LIRETTE, Antoine Olivier |
| Description | この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(農学) |
| Dissertation Number | 甲第16775号 |
| Issue Date | 2026-03-25 |
| DOI | https://doi.org/10.14943/doctoral.k16775 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/99620 |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | LIRETTE_Antoine_Olivier_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　LIRETTE Antoine Olivier

| | | | |
|---|---|---|---|
| 審査担当者 | 主査 | 客員准教授 | 菊池　義智 |
| | 副査 | 教　授 | 吹谷　　智 |
| | 副査 | 客員教授 | 鎌形　洋一 |
| | 副査 | 客員准教授 | 北川　　航 |

学位論文題名

**Elucidation of a unique vertical symbiont transmission system and mechanisms of host behavior modulation in stinkbug-*Caballeronia* symbiosis**

（カメムシ-*Caballeronia* 腸内共生系における垂直伝播と宿主の行動変容の解明）

本論文は英文 129 頁、図 20、表 5、5 章からなり、参考論文 2 編が付されている。

多くの昆虫はその体内に共生微生物を持ち、緊密な相互作用を行っている。多くの昆虫はこれら共生微生物を母子間伝播によって次世代へと伝達するが、ヘリカメムシ上科（Coreoidea）およびナガカメムシ上科（Lygaeoidea）に属するカメムシ類は腸内共生細菌（*Caballeronia* 属細菌）を母子間伝播せず、毎世代環境土壌中から獲得することが知られている。本研究では、ナガカメムシ上科のクロマダラナガカメムシ科について共生系を調査し、本カメムシ類においては、共生細菌を含んだ泡状の物質を卵に塗り付けることで *Caballeronia* 共生細菌が母子間伝播されることを発見した。また本研究では、ダイズの害虫であるホソヘリカメムシをモデル系として、Caballeronia 共生細菌がどのように宿主カメムシの行動を変化させるのか、機械学習モデルを用いた行動解析を行い、さらには脳神経系の遺伝子発現解析を行うことで、行動変化の実態とその分子基盤について総合的に解析した。

**1)　クロマダラナガカメムシにおける母子間伝播する *Caballeronia* の発見**

これまでに共生系の調査例がなかったクロマダラナガカメムシ科（Heterogastridae）を調査するため、国内において 2 種（*Heterogaster urticae* と *Sadoletus valdezi*）を採集し、その共生系の調査を行った。腸内細菌叢を解析した所、これらカメムシ種はいずれも *Caballeronia* を消化管盲嚢内に共生させていた。面白いことに、*H. urticae* は白い泡状の物質を卵塊と共に産み付け、孵化した幼虫は個の泡状物質を摂取することが確認された。この泡状物質からは *Caballeronia* が検出され、また、実験的に泡状物質を卵塊から取り除くと *Caballeronia* を全く獲得できないことが明らかとなった。これらの結果から、*H. urticae* は *Caballeronia* 共生細菌を特殊な泡状物質によって母子間伝播していることが明らかとなった。これは、母子間伝播する *Caballeronia* の初の報告となる。

**2)　*Caballeronia* 共生細菌によるホソヘリカメムシの摂食行動変化の解明**

ホソヘリカメムシ（*Riptortus pedestris*）の成虫において行われた先行研究において、*Caballeronia* 共生細菌が宿主の行動に変化をもたらすことが報告されてきたが、幼虫の行動への影響は未だ不明である。そこで本研究では、4 齢幼虫について 26 時間にわたる行動解析を行い、共生細菌感染個体と非感染個体の比較解析を行った。行動の機械学習に用いられるソフトウェア（DeepLabCut）を用いて行動解析を行い、歩行と静止がどのように感染・非感染で変化するのかを解析した。その結果、感染個体はほとんどの時間を摂食行動に費やしているのに対し、非感染個体は歩行時間が長く、また摂食→歩行といった行動遷移頻度も有意に高いことが明らかとなった。さらに、マニュアルアノテーションにより静止行動をさらに飲水・摂食・休息に分けて解析をしたところ、感染個体は非感染個体と比較して摂食試行回数は少ないものの、摂食時間が有意に長いことが示された。これらの結果を総合すると、非感染個体が落ち着きなく動き回るのに対し、ひとたび *Caballeronia* 共生細菌が腸内に感染すると摂食行動が長くなり、摂食に集中するようになると考えられる。

**3)　*Caballeronia* 共生細菌によるカメムシ神経系遺伝子発現の変化**

動物の行動は、脳をはじめとした中枢神経系の協調的な活動によって制御されている。Caballeronia 共生細菌に感染したホソヘリカメムシ幼虫において観察された行動変化について、その分子基盤を明らかにするために脳神経系のトランスクリプトーム解析を行った。4 齢幼虫の中枢神経系を視葉、脳、第 1 胸神経節（G1）、第 2 胸神経節（G2）の 4 つの部位に分け、それぞれから RNA を抽出し、解析を行った。トランスクリプトーム解析により、*Caballeronia* 感染個体と非感染個体において神経系全体で数千の発現パターンが異なる遺伝子（DEG: differentially expressed genes）が見られることが明らかとなった。それぞれの部位において発現パターンの変化は異なり、視葉ではアミド生合成プロセスが、脳ではホルモンレベルの調節に関わる遺伝子群が、G1 では生体アミンおよびその代謝プロセスに関わる遺伝子群が、G2 ではシグナル伝達に関わる遺伝子群が、共生細菌の感染によってそれぞれ有意に発現変化していた。加えて、ドーパミン受容体様遺伝子やチロシン水酸化酵素といった神経伝達に関与する遺伝子群は、特に感染個体の G1 において発現が上昇していた。その一方、感染個体では、G1 においてγ-アミノ酪酸（GABA）経路が、脳においてはセロトニン受容体の発現低下が観察された。これら神経伝達物質に関わる遺伝子発現の変化が、ホソヘリカメムシ幼虫の行動変化に関与している可能性が高い。

以上、本研究は、水平伝播を伴う共生関係が垂直伝播を伴う共生関係へと進化する過程を発見し、また *Caballeronia* 共生細菌の獲得がホソヘリカメムシ幼虫における摂食行動や歩行行動、そして行動制御に関与する遺伝子経路の発現をどのように変化させるかを解明し、昆虫における脳腸相関の一端を明らかにすることに成功した。

よって審査員一同は、Antoine-Olivier Lirette 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。