

論文審査の結果の要旨

氏名 末次翔太

セイヨウミツバチ (*Apis mellifera* L.) などの社会性昆虫では働き蜂が採餌や育児など、コロニーの活動に関わる様々な役割を分担する一方で、幼虫は自活能力をもたない。従って、ミツバチの社会性行動を担う脳機能は発育に伴って獲得されると推察される。昆虫脳のキノコ体は、記憶・学習や感覚情報に関わる高次中枢である。ミツバチ成虫(働き蜂)のキノコ体は、固有の遺伝子発現プロファイルをもつ4種のケニヨン細胞サブタイプ(クラス I 大型・中間型・小型・クラス II)から構成される。しかしミツバチの個体発生のどの段階で、これらケニヨン細胞のサブタイプ固有な遺伝子プロファイルが獲得されるかは不明であった。論文提出者は本論文で、各ケニヨン細胞選択的に発現する遺伝子を利用することでこの問題に取り組んでいる。本論文は2章からなる。

第1章では、働き蜂脳でキノコ体選択的に発現する遺伝子として、*Phospholipase C epsilon (PLCe)*、*Synaptotagmin 14 (Syt14)*、*discs large 5 (dlg5)*の3つの遺伝子を同定している。これらは、cDNA マイクロアレイを用いた先行研究により、その遺伝子断片が同定されていたが、論文提出者が対応遺伝子を確定した。その結果、*PLCe* は成虫脳では全てのケニヨン細胞サブタイプで一様に発現する一方で、*Syt14* と *dlg5* は大型サブタイプ選択的に発現することが判明した。次に、幼虫と変態期の蛹脳での発現を *in situ hybridization* 法で解析した。ミツバチの幼虫と蛹期にはキノコ体の神経芽細胞が増殖し、クラス II、大型、小型の順にケニヨン細胞サブタイプが分化する。その結果、*PLCe* は幼虫と蛹期を通じて、全部のケニヨン細胞サブタイプで発現していた。一方、*Syt14* と *dlg5* は蛹前期に発現が開始され、成虫になると発現は大型サブタイプに局限した。このことは *PLCe* がいずれの発生段階でも全てのケニヨン細胞サブタイプで機能するのに対して、*Syt14* と *dlg5* は蛹中期から成虫にかけて大型サブタイプ選択的な機能を担うことを示唆している。

RNAi は遺伝子機能解析の有用なツールであるがミツバチ成虫では巧く奏功しない。そこで第2章では、上記3つの遺伝子産物の中で唯一、阻害剤が利用可能な PLC について嗅覚-口吻伸展反射連合学習系を用い、薬理的な手法により記憶・学習における機能を調べた。まず、ミツバチゲノムにコードされる4つの PLC 分子について、嗅覚連合学習に関与するサブタイプを絞り込むため、これら遺伝子の触角、口吻、キ

ノコ体、その他の脳領域での発現を調べた。その結果、*PLCe* と他の 2 つのサブタイプについてはキノコ体での発現が他組織より高く、4 つ目のサブタイプについては有意な発現が検出されなかった。そこで、PLC が嗅覚連合学習に関わるか調べる目的で、汎 PLC 阻害剤(エデルフォシンとネオマイシン)を単眼からミツバチ頭部に注入した後、嗅覚連合学習を行い、学習が何回目の試行で成立するか、成立した記憶が 1 時間と 24 時間後も維持されているか調べた。その結果、2 種類の阻害剤のいずれでも、注入群では 2 回目の試行における記憶獲得率がコントロール群と比べ約 50%に減弱する一方、匂い記憶は注入群とコントロール群で有意差がなかったことから、PLC は匂い記憶の形成には関わるが維持には関わらないことが示唆された。これは昆虫で PLC が記憶形成に関わることの最初の報告である。

本研究により初めて、発育段階にあるミツバチのケニオン細胞サブタイプの遺伝子発現プロファイルの一部が明らかになった。その結果、全ての発生段階に共通なケニオン細胞の特性(*PLCe*)と成虫期固有な特性(*Syt14* と *dlg5*)が示唆された。PLC が働き蜂の記憶に関わることから、*PLCe* も幼虫期の何らかの記憶に関わる可能性がある。

従来、ミツバチでは CaMKII が記憶維持(長期記憶)に関わるとされてきたが本研究で初めて、その上流因子である PLC が記憶形成に関わることが示唆された。以上本研究は、遺伝子発現の観点からミツバチ脳のケニオン細胞サブタイプの個体発生を解析すると共に、PLC の新規な機能を見出したものであり、学術的に重要な意義をもつ。今後はこれら遺伝子がミツバチの社会性行動にどのような役割を担うかが重要な課題である。

なお、本論文は Rajib Paul Kumar、竹内秀明、奥出絃太、藤幸知子、白井健一、久保健雄(以上、東京大学)との共同研究ではあるが、論文提出者が主体となって研究戦略の策定、実験、実験結果の解釈、論文執筆をおこなったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。