

## 論文の内容の要旨

論文題目 昆虫を用いた感染抵抗性獲得および配偶者選択に関する研究

氏名 宮下惇嗣

### 1. カイコにおける primed immune response

#### イントロダクション

生物は病原微生物を認識し異物として排除する免疫システムによって、感染リスクの下で生存を図っている。近年まで病原体の侵入を記憶して二回目以後の感染に備える獲得免疫の機能は抗体を発現する脊椎動物にしか存在しないと考えられてきたが、近年ではショウジョウハエやマルハナバチといった昆虫において、病原体成分を接種することによりそれらの個体が感染抵抗性を高めることが報告されてきている。したがって、無脊椎動物に獲得免疫がないという考えは、今日では疑問視されている。私はこの点について、無脊椎動物にも脊椎動物と類似した「獲得免疫」の仕組みが存在するという考えを、1)病原体選択性、2)持続性、3)体液性免疫因子の産生増強、といった脊椎動物における獲得免疫の特徴が見出されるか否かという判断基準を設定して検討することにした。

#### 方法と結果

#### カイコにおける Primed immune response

私はまず、腸管出血性大腸菌 O-157 を用いたカイコ感染死モデルを確立した (Miyashita et al., 2012)。この系を用い、菌体成分への曝露経験によりカイコが感染抵抗性を上昇させるか否かを検討した。カイコに O-157 (グラム陰性細菌) の熱処理菌体を注射し、一定時間経過した後生菌を注射したところ、カイコは熱処理菌体を注射しなかった場合と比較して高い生存率を示した。免疫にセラチアや緑膿菌 (グラム陰性細菌) の熱処理菌体を用いてもカイコは感染抵抗性を獲得したが、黄色ブドウ球菌 (グラム陽性細菌) の熱処理菌体に免疫効果は認められなかった。この感染抵抗性の上昇は、カイコに熱処理菌体菌体を注射した後、蛹への変態まで飼育 (熱処理菌体を注射してから 10 日間) してから感染実験を行った場合も同様に見出された。感染実験に用いる細菌を黄色ブドウ球菌 (グラム陽性細菌) とした場合には感染抵抗性の上昇はみられなかった。また、カイコ体液中に放出される抗菌ペプチドによる抗菌活性は、菌体成分へ

の曝露経験を有するカイコにおいてより強くより早く検出された (Miyashita et al., 2014)。私はこの現象をカイコにおける **primed immune response** と名付け、さらにこの **primed immune response** が熱処理菌体を餌に混ぜて経口摂取させた場合にも起こることを見出している (Miyashita et al., 2015)。

#### コオロギにおける Primed immune response の検討

私は上記の **Primed immune response** が昆虫間で保存された機能なのかどうかを知るために、鱗翅目昆虫であるカイコと比べて進化的に古い直翅目昆虫であるコオロギを用いて感染死モデルの作出ならびに熱処理菌体を注射することによる感染抵抗性の増大の有無の検討を試みた。コオロギはカイコと同様にグラム陰性細菌を体液中に注射することによって感染死する事を見出した (幸地ら、2016) が、カイコと異なりコオロギでは熱処理菌体を注射しても感染抵抗性の増大は認められず、この結果はグラム陽性細菌による感染系を用いても同様だった。

#### 考察

本研究で見出したカイコの **primed immune response** は、体液中に侵入した菌体を認識して後天的に感染抵抗性を増大させる機能を担うと考えられる。さらに、このシステムは変態をまたいで持続的に働き、グラム陰性細菌に対して特異的であり、液性免疫応答の増強を伴うことが示唆された。こうした特徴は脊椎動物における獲得免疫と機能的に相同であるが、抗体産生システムを持たないカイコにおける **primed immune response** の分子メカニズムは現時点ではよくわからず、その解明は今後の課題である。また、コオロギにおける結果は **primed immune response** の応答性がカイコとコオロギでは異なることを示唆する。実際、他の無脊椎動物を用いて **primed immune response** と同等の機能を検討した複数の文献は、無脊椎動物が感染抵抗性を獲得できる病原体、およびその分子メカニズムは種ごとに極めて多様性が高いことを示唆している。今回コオロギで得られた結果については、上記を踏まえて、飼育条件の差異、実験に用いる病原体の妥当性、および免疫系を構成する分子の差異に着目し、さらなる検討が求められる。

## 2. フタホシコオロギの求愛歌の解析

### イントロダクション

前項で **primed immune response** の多様性について論じた様に、各動物種は進

化の過程で多様な環境に適応し、それぞれの生息環境における主要な病原体に打ち克ってきた。そのような環境適応のプロセスにおいて、ある環境における有利な形質は求愛行動を通して選別され、次世代へと受け継がれて行くと考えられている。この考えに基づき、求愛行動における異性へのシグナルが個体の健康状態や感染抵抗性を反映するものが含まれるという仮説が提唱されている (Hamilton-Zuk 仮説, 1982)。そのような仕組みは、動物が求愛行動を通じて感染抵抗性の高い個体を選別し、ある環境において高い適応度を持つ形質を受け継いでいくために重要である。しかしながら、上記の仮説を支える実験的な証拠は限定的である。私は本研究において、個体の入手・維持および求愛行動の観察が容易なコオロギ (フタホシコオロギ, *Gryllus bimaculatus*) をモデル動物として、上記仮説を検証することができるのではないかと考えた。具体的には、個体の感染抵抗性を間接的に反映する指標として生存期間の長さに着目し、オスが発する求愛シグナルの中に生存期間とともに変化するパラメータが存在するのではないかと仮説を立て、これを検証した。このような性質を満たすパラメータは、メスに対してオスの生存期間 (すなわちそれは感染抵抗性を反映する) の情報を与えることによって、感染抵抗性の高い個体を配偶者として選別することに貢献しうると考えられる。

## 方法と結果

### 鳴き声に着目したコオロギ求愛シグナルの解析

コオロギの性行動においては、オスが発する鳴き声が主要な求愛シグナルとして機能していると考えられている。実際、コオロギの発音器官である前翅を切断して音を出せなくすると、交尾行動が完全に抑圧される。本研究において私はまずコオロギの鳴き声を録音し、周波数成分を解析した。その結果、求愛歌の中に特徴的なピーク周波数(5.7~5.8kHz)が主要成分として含まれる事がわかった。さらに、その周波数の値は発音器のサイズによらず一定の値になっていた(Miyashita et al., 2016)。

### 生存期間によるコオロギの鳴き声周波数の変化

私は上記で述べた求愛歌のピーク周波数が、コオロギの生存期間を反映して変化する可能性を考えた。コオロギが鳴き声を発する成虫期において、ピーク周波数の継時変化を記録した。その結果、このピーク周波数成分の値は、羽化後の経過日数とともに一定の値(5.7~5.8kHz)に収束していく傾向が認められた。

## 考察

本研究において見出された求愛歌のピーク周波数は、羽化後の生存期間とともに一定の値に収束し、その値は身体や発音器のサイズによらず一定であった。このことは、求愛歌のピーク周波数がコオロギにとって重要な形質である事を示唆している。求愛歌のピーク周波数は、コオロギのメスがオスの位置を知る（音源定位）のに重要であるという報告も存在する。すなわち、今回見出されたピーク周波数を発するオスは、メスに見つかりやすいという可能性が考えられる。これらの知見から、コオロギのオスが発する求愛歌のピーク周波数は、生存期間を反映して変化（収束）し、メスが適応度（感染抵抗性）の高いオスを配偶者として選択するための指標として働き得ると考えられる。また、求愛歌のピーク周波数の値は同じ種のコオロギでも生息地域によって異なるという報告も存在し、このピーク周波数が持つ生態学的な意義について今後検討が必要であると考えられる。