

# 論文審査の結果の要旨

氏名 宇賀神 篤

動物は、「天敵」とよばれる特定の捕食者への対抗策として、種に固有な様々な行動様式を示す。日本在来のミツバチであるニホンミツバチ (*Apis cerana japonica*) の巣に天敵であるオオスズメバチ (*Vespa mandarinia japonica*) が侵入すると、数百匹の働き蜂が殺到して「蜂球」とよばれる集団を作り、飛翔筋を震わせて発熱する。この間、蜂球内の温度は 46°C に保たれるが、オオスズメバチの上限致死温度 (約 45°C) はニホンミツバチ (約 50°C) より低いため、蜂球内でオオスズメバチは死亡する。一方、近縁の外来種であるセイヨウミツバチ (*A. mellifera* L.) は蜂球形成行動を示さない。従って、熱殺蜂球形成はニホンミツバチに特徴的で、変温動物である昆虫が発熱して天敵に対抗するという大変ユニークな行動様式である。しかし、その神経機構が解析された例はない。論文提出者は本論文において、以前に当研究室でセイヨウミツバチから同定された初期応答遺伝子 (その発現が、神経興奮のマーカーとなる) *kakusei* のニホンミツバチホモログ (*Acks*) を同定し、蜂球形成中のニホンミツバチでは、脳の高次中枢 (キノコ体) のクラス II ケニオン細胞の活動が顕著に亢進することを示した。さらに、この神経活動が高温 (46°C) に応答して誘導されることを示し、この高温応答性神経活動を 2 種のミツバチとマルハナバチで比較した。また、脊椎動物で汎用される初期応答性遺伝子 *Egr* ホモログ (*AmEgr*) をセイヨウミツバチから同定し、クラス II ケニオン細胞の高温応答性を確認した。

本論文は 2 章からなる。第 1 章では、先ず *Acks* を用いて蜂球形成中のミツバチでは脳の高次中枢 (キノコ体) のクラス II ケニオン細胞が顕著に活動することを示した。次に、蜂球形成中の働き蜂が受容する感覚情報として 46°C という高温と、蜂球形成中に働き蜂が分泌する警報フェロモン (主成分は、イソアミル酢酸) を想定し、ニホンミツバチの働き蜂を容器に入れ、それぞれの刺激に曝露した。その結果、46°C の高温に 30 分間曝露した場合のみ、蜂球形成時と類似したキノコ体の神経活動が検出された。以上より、蜂球形成時のキノコ体の神経活動は蜂球内の高温により誘導されることが示された。

次に、40~48°Cまで2°C毎に曝露温度を変えて、ニホンミツバチとセイヨウミツバチのクラスIIケニオン細胞の高温応答性に差があるか調べた。その結果、両者とも44~46°Cで有意に *kakusei/Acks* の発現が上昇した。一方、マルハナバチ属の真社会性ハチであるセイヨウオオマルハナバチ (*Bombus terrestris*) では、38~40°Cで発現が上昇した。ミツバチとマルハナバチでは生活温度(巣内温度)に約6°C差がある(ミツバチ:約33°C、マルハナバチ:約27°C)ことを考えると、キノコ体の高温応答性は、通常的生活温度から外れた高温時の温度調節に関わる可能性がある。ニホンミツバチではこの性質が転用され、蜂球形成時に蜂球内温度を46°Cに維持するための「サーモスタット」として働く可能性が提唱されている。

第2章ではセイヨウミツバチの *AmEgr* を用いてクラスIIケニオン細胞の高温応答性を確認している。脊椎動物では、*c-fos* や *c-jun* といった転写因子などをコードする初期応答遺伝子が汎用される。一方、*kakusei* と *Acks* の転写産物は非翻訳性RNAであり、神経系での役割は未解明である。本研究では、キノコ体の高温応答性が汎用性初期応答遺伝子を用いた場合にも再現されるかの検証を試みた。その結果、セイヨウミツバチの脳に抑制性神経伝達物質であるGABA( $\gamma$ -アミノ酪酸)の受容体阻害剤である *Picrotoxin* を投与すると、キノコ体で *Egr-1* ホモログ (*AmEgr* と命名) の発現が上昇した。さらに、46°C曝露時のセイヨウミツバチでは *AmEgr* を用いた場合でも *kakusei* を用いた際と同様に、キノコ体クラスIIケニオン細胞で顕著な発現が検出され、その高温応答性が確認された。

本研究は、昆虫の脳において高温感受性のケニオン細胞を見いだした最初の例である。感覚生理学や行動神経学分野の発展に貢献する成果であり、国際的にも注目された。今後、クラスIIケニオン細胞の機能解析を進めることで、動物界でも稀な「熱殺行動」の動作原理の理解が深まると期待される。なお、本論文は國枝武和、久保健雄(以上、東京大学)と木矢剛智(金沢大学)、小野正人、吉田忠晴(以上、玉川大学。吉田教授は2012年に逝去)との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究戦略の策定、実験、結果の分析、考察を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。従って、博士(理学)の学位を授与できると認める。