

127. アリの個体間相互作用に基づく生存維持機構の解明

古藤 日子

Key words : 社会性昆虫, 大工アリ, 行動アッセイ,
トランスクリプトーム解析

東京大学 大学院薬学系研究科
遺伝学教室

緒 言

我々を含む多くの生物にとって, 社会的環境は個体の健康に大きな影響を及ぼすことが知られている. 社会的孤立状態は脳・心疾患, 糖尿病や肥満といった多くの病気の進行を早めることや, 寿命を短縮させる危険要因の一つであることが知られていながら, その神経メカニズムは不明な点が多く残されている. アリやミツバチといった社会性昆虫は集団(コロニー)を作り, 様々な階級を備えた分業体制によって社会生活を営む. また, 一方でコロニーから人為的に隔離され孤立状態におかれた労働アリは, 生存を維持できず短時間で死に至るといった表現型がこれまでに報告されている¹⁾. しかしながら, 社会的孤立による個体の行動や生理状態の変化, 及びその制御機構は明らかでない. 本研究では大工アリ *Camponotus fellah* を用い, コロニーから一匹に隔離された労働アリ(孤立アリ)と10匹で同じ箱に隔離した系(グループアリ)の2群間で個体の寿命, 行動, 及び生理状態の解析を行い, 社会的環境が個体の生存維持機構を制御するメカニズムを解明することを試みた. その結果, 10匹で同じ箱に隔離した系(グループアリ)に対して孤立アリの寿命が顕著に短縮することを明らかにした. 次に, 個体識別バーコードを用いた行動アッセイシステムを用い, 孤立アリは巣内への滞在時間が顕著に短く, また巣外での活動量が増加していることを明らかにした. さらに個体の餌摂取量, 及び消化量を定量した結果, 孤立アリの餌消化能力の顕著な低下が明らかとなった²⁾. さらに, 次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析により2群間での遺伝子発現変化を解析した結果, 孤立アリにおける遺伝子発現変化は加齢や酸化ストレスといったストレス環境における遺伝子発現パターン変化と類似していることが明らかとなった. 個体レベルでの社会的環境に依存した生存維持機構の解明は, 社会性昆虫のみならず, 複雑な社会構造を維持して生活する多くの生物に共通する環境依存的な生存戦略の分子基盤の解明に繋がると考えられる.

方法および結果

本研究では第一に, 大工アリ *Camponotus fellah* を用い, コロニーから隔離され様々な社会的環境におかれた労働アリの寿命測定を行った. 労働アリはそれぞれ餌, 水, 及び遮光された巣が設置されたプラスチックケースに隔離し, 生存率を測定した(図1A). その結果, 1匹に隔離された労働アリ(孤立アリ, mean \pm se = 6.5 \pm 1.3 days)は10匹で同じ箱に隔離した実験群(グループアリ, mean \pm se = 66 \pm 9.8 days)に対して寿命が顕著に短縮することを明らかにした(single versus grouped; Wald $\chi^2=30.8$, $p < 0.0001$) (図1B). また, 2匹の労働アリで飼育した場合(29 \pm 5.2 days), 及び労働アリ1匹と幼虫数匹を同じ箱で飼育した際にも孤立アリの寿命が延長することが観察され(22 \pm 4.3 days), 労働アリ同士のみならず幼虫との個体間相互作用が個体の生存維持機構に関与することが明らかとなった.

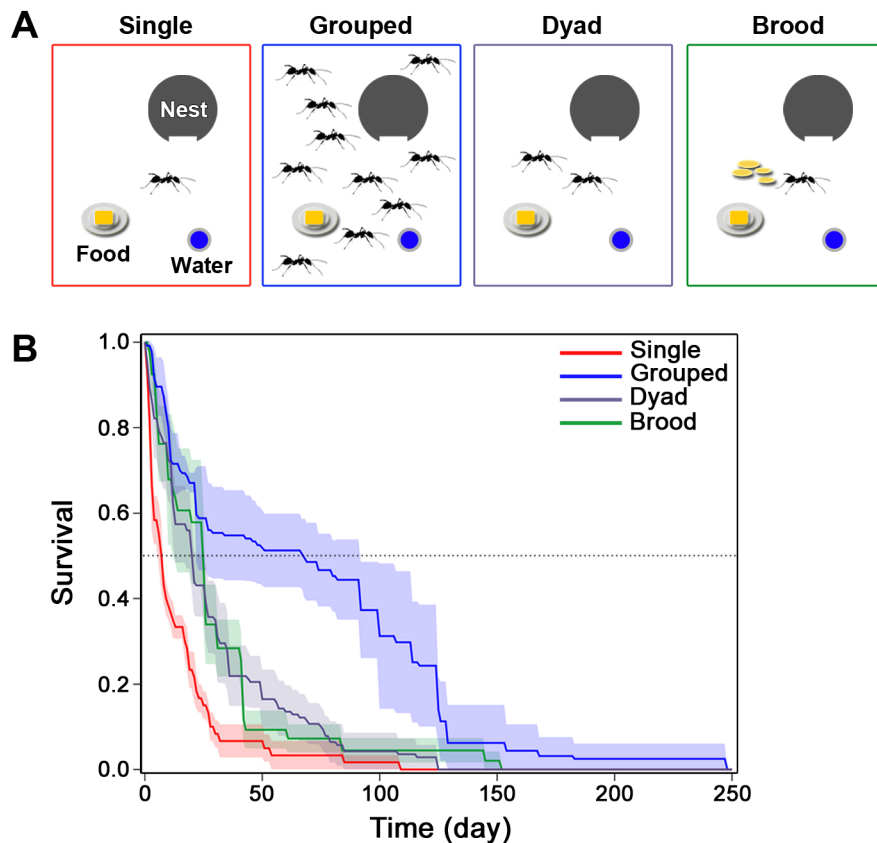


図1. 社会的孤立による労働アリの寿命短縮.

A) 様々な社会的環境における労働アリの生存率を観察した. 労働アリ1匹 (Single), 10匹 (Grouped), 2匹 (Dyad), 及び1匹と幼虫数匹 (Brood) をそれぞれ母コロニーから隔離した. B) 孤立アリは他3群に比較して顕著な寿命短縮の表現型を示した.

労働アリの寿命短縮の表現型に関して, 個体の月齢依存性を調べるため, 毎月新たに誕生した個体を異なる色でマークし, 各個体の月齢が明らかなコロニーを複数準備した. 月齢が1ヶ月から6ヶ月の労働アリを用い, 各月齢において孤立アリとグループアリの寿命測定を行った. その結果, すべての月齢において孤立アリはグループアリに比較して寿命が有意に短縮していることが明らかとなった. 以上の結果により個体の月齢や労働分化状態に関わらず, 社会的孤立により労働アリの寿命が短縮することが示唆された.

次に, 孤立アリが死に至る過程を詳細に記述することを目的とし, 孤立アリとグループアリの行動解析を行った. これまでの研究では, 複雑な社会性をもつ集団の中で一単位レベルの行動や遺伝子発現パターンを定量的に解析することは技術的に困難とされてきた. しかしながら, スイス・ローザンヌ大学の Laurent Keller 研究室では個体識別バーコードを用いた自動ビデオ追跡システムの構築に成功し, 個体同士の相互作用や各個体の活動量, 活動領域などを一単位レベルで長時間, 定量的に解析することが可能となった³⁾. 本研究では同システムを用い, 孤立アリの行動解析を行った. その結果, 孤立アリはグループアリに比較し巣内の滞在時間が顕著に短いことが明らかとなった (図2A, B). また巣外での活動量に関して, 労働アリの動いた距離, 及び飼育箱の壁際への滞在時間が有意に増大していることを明らかにした (図2C). このことは孤立アリにおいてはエネルギー消費量が増大していることを示唆しており, 孤立アリの死因としてエネルギーの供給とのバランスが崩壊することが考えられた.

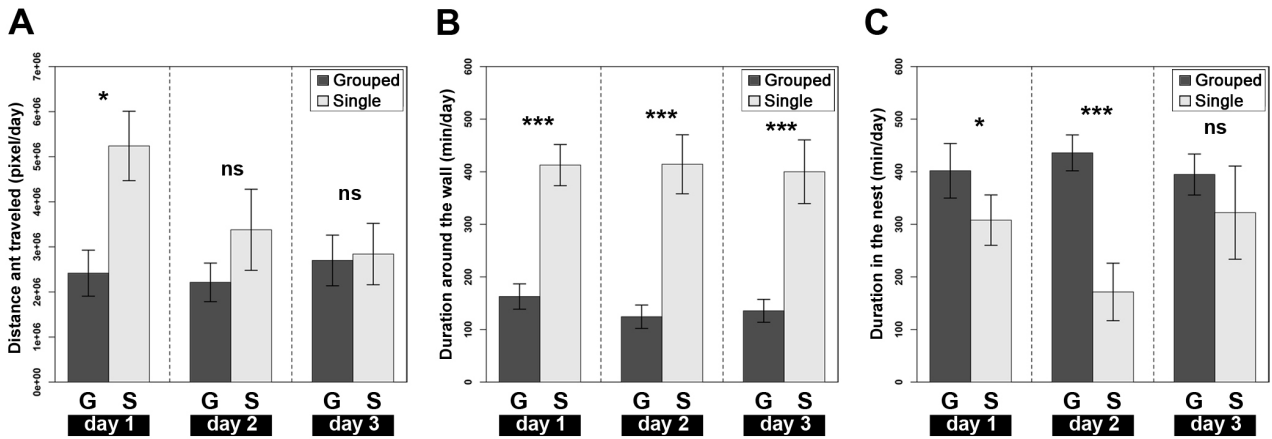


図2. 孤立アリは顕著な行動量の上昇を示した。

個体識別バーコードを用いた行動解析により孤立アリとグループアリの行動パターンを比較した。A, B) 孤立アリは社会的隔離後、特に1日後に顕著な行動量の増加を示し、移動した距離 (A), 及び飼育箱の壁際に滞在する時間 (B) がグループアリに比較して有意に上昇した。C) 孤立アリは巣内滞在時間がグループアリに比較して有意に減少した。行動量に対する社会的環境の効果は GLMM (generalized linear mixed model) により検定した。ns, $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 。

そこで、青色色素 (Erioglucine) で標識した砂糖水を孤立アリ、グループアリそれぞれに与え、餌の摂取量、及び消化量の定量を試みた (図 3A)。その結果、孤立アリはグループアリと同様に餌を摂取しているにも関わらず、その餌の大部分は Crop と呼ばれる貯蔵器官に観察され、消化管における餌消化量がグループアリに比較して顕著に低下していることが明らかとなった (図 3B, C)。これらの結果は社会的孤立状態において労働アリはエネルギー供給と消費のバランスが崩れることにより生存維持機構が破綻することを示唆している。

次に、Haifa 大学の Eyal Privman 博士との共同研究により、次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析を行い、グループアリと比較して、孤立アリにおいて発現が変化している遺伝子群を同定することを試みた。ここでは、研究室において継代している3つのコロニーを用いてグループアリ、孤立アリを準備し、隔離24時間後にそれぞれの個体を回収し、全身から RNA を抽出した。遺伝子発現解析の結果、孤立アリにおいて有意に発現が変化している遺伝子として102遺伝子が同定された。また遺伝子オントロジー (GO) 解析の結果、孤立アリにおいてはプリン体新合成に関わる酵素群の発現が有意に上昇していることが明らかとなった。プリン体新合成経路は10段階の酵素反応を経て PRPP (5-phosphoribosyl- α -1-pyrophosphate) から IMP (inosine monophosphate) を合成する。IMP はその後二つの生合成経路へと分岐し、それぞれ2段階の酵素反応を経て AMP 及び GMP が合成される (図 4A)。ショウジョウバエにおけるプリン体新合成経路に関わる酵素についてその発現を孤立アリ及びグループアリで比較したところ、合成経路の第一反応に関わる *Prat* をはじめとする4遺伝子の発現上昇が明らかとなった (図 4B-D)。また、免疫応答に関わる遺伝子群、及びシトクロム p450 ファミリーの発現に有意な差が観察された。

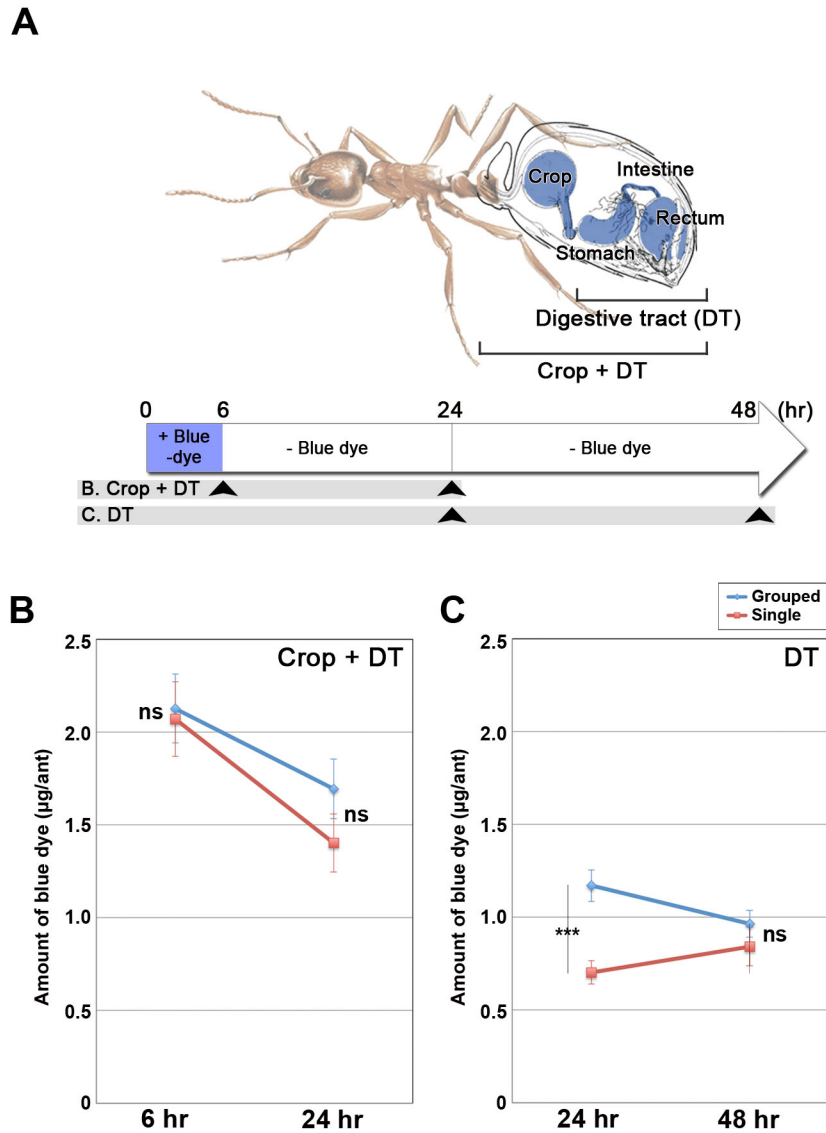


図3. 孤立アリにおいて餌消化量の減少が観察された。

A) 餌摂取, 及び消化量の定量実験. 青色色素を含む砂糖水を労働アリに与え, 腹部全体 (Crop+Digestive tract), 及び消化管 (Digestive tract) に含まれる色素量を測定した. B) グループアリと孤立アリにおいて餌摂取量に顕著な差は認められなかった. C) 孤立アリはグループアリに比較して餌消化量が低下していることが明らかとなった. GLMM (generalized linear mixed model) により検定した. ns, $p > 0.05$, *** $p < 0.001$.

考 察

社会的孤立は生物の健康状態や寿命に負の影響をもたらすことが多くの生物で報告されている. 特に社会性昆虫アリにおいては孤立した労働アリは顕著な寿命短縮がおこることが古くから報告されていたが, 死に至るプロセス, 原因はこれまで不明なままであった. 本研究は孤立した労働アリと10匹で飼育したグループアリを準備し, その寿命, 行動, 生理状態を一頭レベルで詳細に比較した. その結果, 孤立アリはグループアリに比較して行動量が顕著に上昇し, 一方で摂取した餌を自身の栄養源として消化するプロセスが停滞していることが明らかとなった. また孤立アリにおける遺伝子変化を次世代シーケンサーにより解析した結果, プリン体新合成経路, 免疫経路, 及びシトクロム p450 ファミリーの遺伝子群に有為な変化が観察された. このような遺伝子発現の変化パターンは, これまでのショウジョウ

バエを用いた先行研究において同定された酸化ストレス条件下や加齢依存的な遺伝子発現変化パターンと類似していることが明らかとなった⁴⁾。今後は遺伝学的・薬理学的手法によりこれらの候補遺伝子の発現を人為的に操作する実験系を立ち上げ、社会的孤立によって生存維持機構の破綻が誘導される分子メカニズムの解明を目指す。

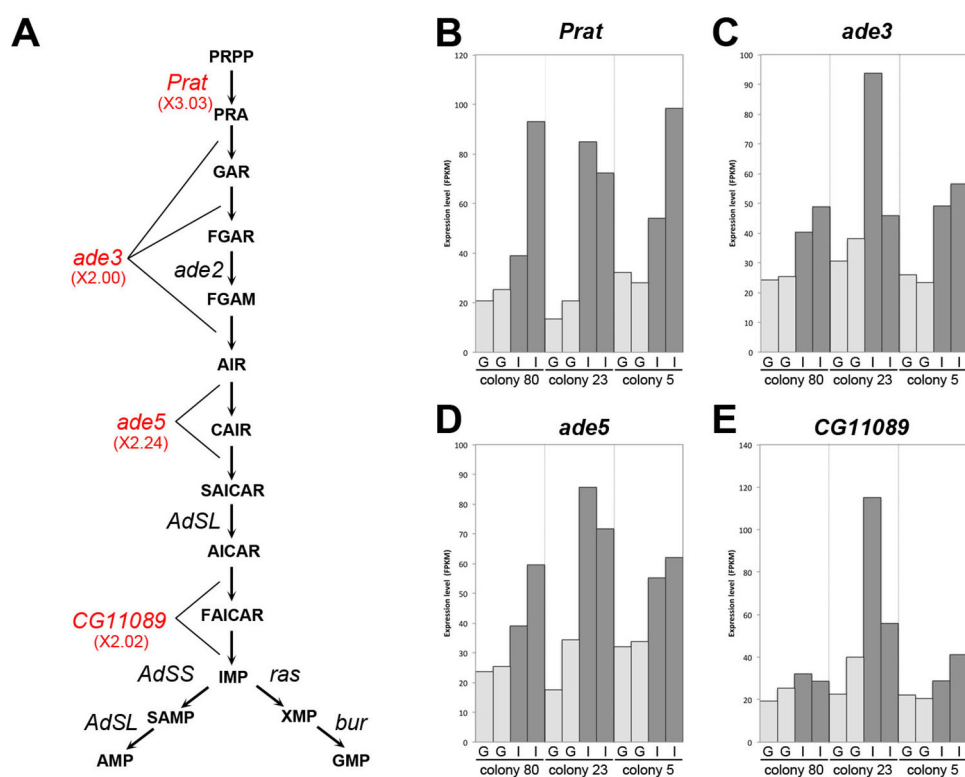


図4. 孤立アリにおけるプリン体新合成経路の亢進。

A) プリン体新合成経路。各酵素はショウジョウバエホモログで示した。孤立アリにおいてグループアリと比較し上昇している遺伝子を赤（フォールドチェンジを括弧内に示す）で示した。B-D) 孤立アリにおいて発現上昇がみられたプリン体新合成経路に関わる酵素群の発現パターン。すべてのコロニーにおいて同様に孤立アリで遺伝子発現が上昇する傾向が観察された。

共同研究者

本研究の共同研究者はローザンヌ大学の Laurent Keller 教授, Brian Hollis 博士, ケンブリッジ大学の Danielle Mersch 博士, ハイファ大学の Eyal Privman 博士である。最後に、本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

文献

- 1) Boulay, R., Quagebeur, M., Godzinska, E. & Lenoir, A. : Social isolation in ants : evidence of its impact on survivorship and behavior in *Camponotus fellah* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiol.*, **33** : 111-124, 1999.
- 2) Koto, A., Mersch, D. P., Hollis, B. & Keller, L. : Social isolation causes mortality by disrupting energy homeostasis in ants. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **69** : 583-591, 2015.
- 3) Mersch, D. P., Crespi, A. & Keller, L. : Tracking individuals shows spatial fidelity is a key regulator of ant social organization. *Science*, **340** : 1090-1093, 2013.
- 4) Landis, G. N., Abdueva, D., Skvortsov, D., Yang, J., Rabin, B. E., Carrick, J., Tavaré, S. & Tower, J. : Similar gene expression patterns characterize aging and oxidative stress in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **101** : 7663-7668, 2004.