

共生微生物 *Wolbachia* 研究

—最近の発展と展望—

蚕糸・昆虫農業技術研究所 野 だ ひろ あき
田 博 明

はじめに

害虫管理技術の一環として、寄生蜂がよく研究され利用されつつある。寄生蜂の中には単為生殖により雌だけで増えるものが少なくない。単為生殖は昆虫ではかなり広く見られる現象である。ここ10年の間に、この単為生殖の一部は微生物によって引き起こされていることが明らかになってきた。これは、ウォルバキア *Wolbachia* と呼ばれる細菌の感染が原因である。また、この数年間に、ウォルバキアが多くの昆虫に感染していること、これまで昆虫の性や生殖に関して変わった現象として観察されてきたものが、やはりウォルバキアによるものであることなどが明らかにされつつある。昆虫の微生物は、これまで昆虫病理学、植物病理学あるいは衛生昆虫学の分野で研究されてきた。しかし、ウォルバキアによって、昆虫の微生物に関する関心は広まり、生態学、進化学を含む多くの分野に影響を与えつつある。農業害虫でも多くのウォルバキアが見つかっており、植物防疫分野でも無関係ではあり得ない。このウォルバキアとはどのような微生物で、昆虫を含む節足動物にどのような影響を与えているのかを見ていきたい。なお、近年ウォルバキアに関する総説が多く出ている (O'NEILL et al., 1997; WERREN, 1997; BOURTIZIS and BRAIG, 1999; COOK and BUTCHER, 1999; STOUTHAMER et al., 1999; 野田, 1999)。本文中ではごく最近の文献と一部の文献だけを載せてあるので、これらの総説を参照いただきたい。

I 共生微生物の一般的特徴

特定の昆虫と微生物とが共生関係にあることは古くから知られていて、一部のキクイムシの坑道には糸状菌(アンプロシア菌)が繁殖しており、キノコを栽培するシロアリもいる。これらの微生物は昆虫と共生関係にあるが、昆虫によって運ばれ昆虫の体外で繁殖している。しかし、微生物は昆虫の体内にも生息している。とくに、細胞の中で増殖・生活する種類も多い。

微生物の種類としては細菌が多いが、ウンカ類のよう

に糸状菌を脂肪体内に持っているものもいる。また、ほとんど未解明であるが、ウイルスが見つかることがある。このことから、昆虫の体内は水中や土壌中と同様に、微生物の生活にとって適した場所の一つであるといえよう。微生物にとっては、昆虫の体内で生息することによって、「すみか」と栄養を得ているわけである。昆虫にとっても微生物から恩恵を蒙っている場合もあるが、ウォルバキアで見られるように、微生物によって都合の良いように操られている場合もある。この微生物による昆虫を操る機能は、我々にとっても有用な昆虫管理技術である。

II ウォルバキアの特徴

ウォルバキアというのは、真性細菌のプロテオバクテリアの α サブグループに属しており、一般にリケッチアと呼ばれる微生物である。ウォルバキアというのは属名であり、そのタイプ種は、アカイエカ *Culex pipiens* に感染しているウォルバキアである *Wolbachia pipientis* である。現在この一種類が種として認められており、そのほかの昆虫からみつかるウォルバキアに関しては、どのように命名したらよいかが論議されている。

ウォルバキアを宿主昆虫から検出するには、PCR(遺伝子を増幅する手法)によるのが、正確でかつ比較的容易である(野田, 1998 参照)。現在、4種類のウォルバキアの遺伝子に対してPCRのプライマーが設計されている。

ウォルバキアは昆虫を中心に節足動物に感染しているものと、フィラリア線虫から見つかるものとに大別できる。遺伝子の配列からみた系統樹では大きく五つに分かれる。昆虫や節足動物に感染しているウォルバキアはAとBの二つの大きなグループに分けられ、フィラリア線虫に感染するものもCとDの二つに分けられる。最近、昆虫からこれまでのものとは系統的にちょっと離れたウォルバキアが見つかっておりEグループとされた。

リケッチアは一般に培養できず、細胞の中でしか増殖しない。最近、培養細胞を使ってウォルバキアの培養ができるようになった(NODA et al., 未発表; 図-1)。

Recent Studies of Arthropod Symbiote *Wolbachia*, and its Prospect. By Hiroaki NODA

(キーワード: ウォルバキア, 共生微生物, 細胞質不和合性, 単為生殖)

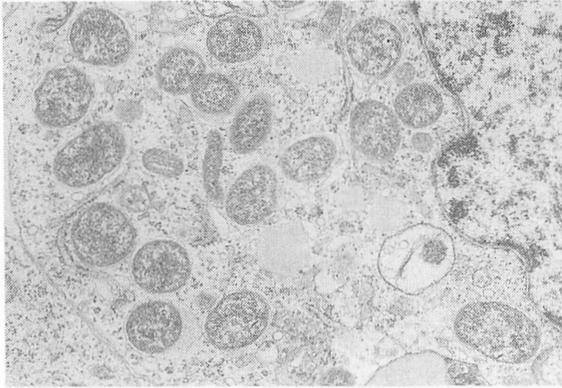


図-1 培養細胞の中で増殖するウォルバキア (三橋淳氏の樹立したヒトスジシマカの細胞を使ったヒメトビウカのウォルバキアの培養, 三好猛晴撮影)

III 昆虫類の性と生殖に与える影響

現在ウォルバキアが宿主生物に対して引き起こす主な機能としては、以下の四つが知られている。このほかにも、宿主生物の精子の活力や寿命・産卵数などにも影響を与えることが報告されているが、以下の四つが代表的なものといえる。

1 細胞質不和合性

異なる昆虫系統間の雄と雌とが交尾すると、生殖不和合により子孫に不都合が生ずることは多くの生物で知られている。これは、遺伝的に離れている個体間で交尾が行われると、調和が保たれないためと考えられている。しかし、遺伝的に全く同じ個体間でも、ウォルバキアが感染していると生殖不和合を起こす。50年も前に、アカイエカなどで発見された。長らく細胞質因子が関係しているとされていたが、この細胞質因子はウォルバキアであることが後になって判明した。

細胞質不和合性は、ウォルバキアに感染していない雌が感染した雄と交尾すると、産下された卵の発育が停止するという現象となって現れる。感染した雌雄と感染していない雌雄との交尾の組み合わせは、表-1のように4種類であるが、他の3種類の組み合わせでは、正常に卵は発育する。この原因は、ウォルバキアに感染している雄では精子に何らかの変化が起こり、卵の発育の初期に不具合が起きるためである。ところが、この精子がウォルバキアに感染している卵に入った場合(感染した雌雄での交尾の場合)は、卵は正常に発育するので、ウォルバキアに感染した雌または卵の中では、ウォルバキアによって精子に起こされた変化がうち消されることになる(図-2)。また、異なる系統のウォルバキアに感染している同士では互いに不和合となる(表-2)。

表-1 ウォルバキア感染個体と非感染個体との掛け合わせによる細胞質不和合性の出現(卵は未発育となる)

雌	雄	卵の発育
感染	感染	発育
感染	非感染	発育
非感染	感染	未発育
非感染	非感染	発育

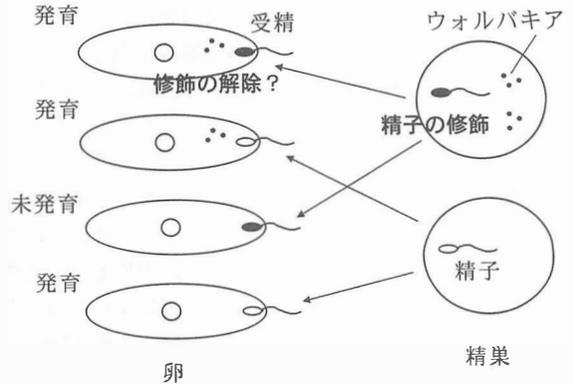


図-2 細胞質不和合性

ウォルバキアに感染した精巣で作られた精子(右上)と感染していない精巣で作られた精子(右下)とが、それぞれ感染した卵(左上二つ)と感染していない卵(左下二つ)に受精したときの四つの組み合わせにおける和合性。

不和合の組み合わせ(左の上から3番目)では、精子(雄性前核)と卵の核(雌性前核)とが融合したあとの第一有糸分裂のところに、分裂が停止してしまう。したがって、胚子発育は起こらず、卵は死滅する。ほかの三つの場合は、分裂が正常に経過して胚子発育が起こる。

ウォルバキアに感染した精巣で作られた精子(右上)は、ウォルバキアによって何らかの影響(修飾)を受ける。そのような精子が、ウォルバキアに未感染の卵に授精したとき(左の上から3番目)に不和合性となる。ウォルバキアに感染していない精巣で作られた精子は不和合を起こすことはなく、ウォルバキアに感染した卵(上から2番目)に授精したときも、感染していない卵(一番下)に授精したときも正常に発育をもたらす。問題は、ウォルバキアに感染した精巣で作られた精子が、ウォルバキアに感染した卵に授精したとき(一番上)である。この場合は、ウォルバキアによって影響(修飾)を受けた精子であっても、胚子の発育は正常である。このことは、卵の中のウォルバキアが精子または分裂過程に働きかけて、分裂を正常に戻していると考えられる。すなわち雌側のウォルバキアは、精子が受けた影響(修飾)を打ち消している。

したがって、細胞質不和合性はウォルバキアによって精子が修飾される機構と卵の中でそれを元に戻す機構からなる。

表-2 ウォルバキアの系統 (A, B) と宿主生物の不和合性

雄\雌	非感染	A	B	A+B
非感染	○	○	○	○
A	×	○	×	○
B	×	×	○	○
A+B	×	×	×	○

雌雄が、それぞれウォルバキアに非感染、A あるいは B にだけ感染、または重複感染の場合に、各組み合わせで期待される次世代の卵の発育の有無 (○と×) を示した。

この細胞質不和合性は、蚊やショウジョウバエのほかに、農業害虫でもヒメトビウンカ、セジロウンカ、スジコナマダラメイガ、アルファルファタコゾウムシ、ヒラタコクヌストモドキなどで見つかっている。ウォルバキアのなかには、細胞質不和合性を引き起こさない系統も知られている。したがって、抗生物質を与えてウォルバキアを取り除いた宿主生物を作り、掛け合わせ実験を行って、細胞質不和合性の存在を確かめる必要がある。

2 単為生殖

約 10 年前に、ウォルバキアによって産雌単為生殖 (thelytoky) が引き起こされることが *Trichogramma* で明らかになった。その後、寄生蜂の多くからウォルバキアが見つかり、やはり単為生殖の原因となっていた。ハチは半数倍数性の性決定機構を持っており、交尾して二倍体になった卵は雌として発育し、未交尾で半数体のままの染色体構成では雄になる (産雄単為生殖, arrhenotoky)。ところが、ウォルバキアに感染しているハチでは、未交尾でも卵発生の初期に二倍体になってしまう、すべて雌になってしまう。雌だけでコロニーが形成され、雄は必要ない。

ウォルバキアを取り除いたハチからは雄が出現し、その雄はもともとウォルバキアのいない系統の雌とは正常に交尾し、受精も起こる。雌雄両性の生殖 (arrhenotoky) と雌だけの生殖 (thelytoky) とをウォルバキアの感染によって互いに変化させることが期待できる。しかし、どうやらそれほど単純ではなさそうである。*Trichogramma* 以外のハチではウォルバキアを取り除くだけでは、雌雄両性系統として維持できないのである。ウォルバキアに感染していた系統では、精子を受けつけないように思われる (ARAKAKI et al., 2000)。これは、ずっと雄なしで生活してきたウォルバキア感染のハチでは、正常な受精に至る過程のどこかが変化してしまっているためであろう。この問題は、進化生態学や生理学の大切な課題であると同時に、ウォルバキアの機能を利用しよ

うとする立場からも、十分究明しなければならない。

昆虫の中には、ハチ以外にも未交尾で発育できるものがある。ハチと同様の性決定機構をもっていると考えられているのがダニやスリップスである。最近補食性のスリップス *Franklinothrips vespiformis* でウォルバキアによる単為生殖が見つかった (ARAKAKI et al., 未発表)。今年、6月のウォルバキアの国際会議でもダニでウォルバキアによる単為生殖らしい現象が報告されており、ハチ以外でも今後見つかっていくと思われる。今のところ、半数倍数性の性決定機構を持つ昆虫に限られており、この性決定機構がウォルバキアによる単為生殖の出現と関係している。

3 雌性化

ウォルバキアの宿主生物が遺伝的には雄であるのに、ウォルバキアによって雌になる現象を雌性化と呼んでいる。これまで、オカダンゴムシで研究されてきた。ダンゴムシなどの甲殻類では微生物の感染によって性比が変化することが知られている。ダンゴムシの雌性化は、ヨーロッパで研究されているだけで、日本のオカダンゴムシでは、まだウォルバキアの感染は見つかっていない。

ダンゴムシ以外に、アワノメイガでも雌性化が見つかっている (KAGEYAMA et al., 1998)。性比が雌に偏ったコロニーからウォルバキアを取り除くと、ほとんど雄になってしまう。これは、遺伝的に雄の個体がウォルバキアによって雌になっていたためと考えられる。性比が偏る現象はいろいろな昆虫で知られており、次の雄殺しとともに、微生物の感染を疑ってみることも解明の糸口になるかもしれない。

4 雄殺し (息子殺し)

テントウムシの一種 *Adalia bipunctata* とチョウの一種 *Acraea encedon* で報告されている (HURST et al., 1999)。ウォルバキアに感染した雄の個体の多くは、卵の発育時に死亡する。したがって、雌の性比が高まる。ウォルバキアによって起こる雄殺しはほかの昆虫にもあるといわれている。また、雄殺しはウォルバキアだけでなく、ほかの微生物によっても引き起こされる。

IV 線虫のウォルバキア

ウォルバキアは昆虫を中心に、節足動物の一部に感染していると考えられていたが、フィラリア線虫からも感染が報告され (SIRONI et al., 1995)、広い宿主範囲を持っていることが明らかとなった。フィラリアは、人や家畜、ペットなどに病気を引き起こすことから多くの研究があるが、共生細菌についてはあまり注目されていなかった。フィラリア線虫に感染しているウォルバキアはフ

フィラリアの増殖を助けるように働いており、抗生物質でウォルバキアを殺すと、フィラリアの増殖が悪くなる。フィラリアの治療という観点からも注目されている。

V ウォルバキアの伝搬

昆虫の細胞内で生活している共生微生物は、何らかの形で昆虫の世代を越えて代々伝わっていく必要がある。細胞内共生微生物の多くは、卵巣のなかの卵に感染し、昆虫の次世代に伝わる。ウォルバキアも同様で、卵の細胞質に存在するのが観察される。胚子が発育するにつれて、細胞に感染していく。このように、ウォルバキアは経卵伝染（垂直伝搬）によって伝わるため、もし古くから昆虫と共生関係にあるとすると、昆虫同士の系統関係とその昆虫に感染するウォルバキア同士の系統関係とは一致することが期待できる。事実、アブラムシの共生細菌 (*Buchnera*) では、その 16 S rDNA の遺伝子系統樹と宿主アブラムシの系統樹とはほぼ同じ形になる。ところが、ウォルバキアの場合は、宿主昆虫の系統樹とそれに感染するウォルバキアの系統樹とがかなり異なった形になり、単純に垂直伝搬だけで共生関係が維持されてきたとはいえない。

そこで、水平伝搬（種を越えた個体から個体への感染）が過去に起こった可能性が高い。実験的にショウジョウバエのウォルバキアが、その寄生蜂に感染する (HEATH et al., 1999) ことや、同じ宿主昆虫卵に寄生した寄生蜂の間でウォルバキアの感染が起こることが示されている (HUIGENS et al., 2000)。野外で実際に水平伝搬が起こったこと、あるいは起こっていることを証明するのは難しいが、ウンカではそれを強く示唆するデータが得られている。ヒメトビウンカとセジロウンカに感染しているウォルバキアでは、数個の遺伝子の塩基配列が完全に一致しており、同じ系統のウォルバキアである。この両ウンカは同じ環境で生活してはいるものの、ウォルバキアは、細胞内でしか増殖できず、昆虫体外では生存が極めて困難なため、細胞内共生微生物が互いに感染する機会は極めてまれであると考えられる。そこで、ウォルバキアを運んだ別の生物がいると仮定し、ウンカの寄生昆虫のウォルバキア感染を調査した。ウンカシヘンチュウ、カマバチ、ネジレバネの調査から、カマバチとネジレバネからウォルバキアが検出できた。そのうち、ネジレバネ (エダヒゲネジレバネ, *Elenchus japonicus*) からウンカに感染しているウォルバキアと同じものが検出できた (NODA et al., 未発表)。ヒメトビウンカ、セジロウンカ、エダヒゲネジレバネの間で同じウォルバキアが水平伝搬した（あるいは現在も伝搬している）可能性

がある。

VI 野外での感染状況・多重感染

ウォルバキアは多くの昆虫や節足動物に感染している。野外の生物での感染状況を PCR によって調査すると、約 17% の種で感染が見られる (WERREN et al., 1995)。実際には感染している種はもっと多いかもしれない。しかし、ある種の個体群の構成員すべてが感染しているとは限らず、未感染個体も混じっている。これは、雌親から垂直伝搬によって伝えられるときに初期密度が低すぎてウォルバキアが消滅することなども関係している。しかし、ウォルバキアは節足動物に感染する微生物としては、現在最も多くの宿主生物から見つかる。このように、広く感染していることと、水平感染によって広がることから、2 種類以上のウォルバキアに感染している個体も見つかる。最近、野外のアズキゾウムシから 3 種類のウォルバキア感染が見つかった (KONDO et al., 未発表)。

このように、多重感染していると、それぞれのウォルバキアが異なった機能を示すことが考えられる。ウォルバキアには、すでに述べたような細胞質不和合性や単為生殖に係わるもののほかに、宿主生物にそのような機能を示さない系統もある。したがって、どのウォルバキアがどのような働きをしているかを知る必要がある。これには、抗生物質をあたえて特定のウォルバキアを除去した個体を作ったり、インジェクションにより特定のウォルバキアを感染させるなどの実験が必要になる。また、多重感染では、表-2 のように細胞質不和合性の出現が複雑になる。

VII ウォルバキアのゲノム計画

ウォルバキアの宿主生物に示す機能は多様で、害虫管理や天敵育種を含めてその利用には期待がかけられている。しかし、これらの現象をどのように解明し、利用していったらいいのか、現在試行錯誤の状態であるといえる。現在、微生物の全ゲノムを解読する技術は、数年前に比べ格段の進歩をしている。ウォルバキアの遺伝子のすべてを明らかにすれば、ウォルバキアが引き起こす細胞質不和合性や単為生殖に係わる遺伝子が推定されるのではないかと期待されている。昨年からのウォルバキア的全ゲノムを解読しようとする動きがあり、すでに、ショウジョウバエやフィラリア線虫のウォルバキアでは解読が進んでいる。ウォルバキアのすべての遺伝子が解読されたときに、ウォルバキアの機能に係わる遺伝子とその機構が解明されるかどうかは、まだわからない。同じウ

オルバキアでも宿主が違うと異なった機能を示すといわれており、宿主側の機構とも関連していそうである。

染するウォルバキアの野外での正確な動態は、ほとんど究明されていない。

Ⅷ 利用と今後の展望

ウォルバキアが盛んに研究されるようになったのは、ここ10年のことであり、現在のように多くの人の注目を集めるようになったのは、最近のことである。しかし、50年も前から蚊で研究され、細胞質不和合性が種の分化を引き起こしているかもしれないこと、また、防除手段として使えるかもしれないことなどから、基礎的にも応用的にも重要な課題であった。実際に細胞質不和合性を利用して野外の蚊を防除する試みも部分的に行われている。最近では、ウォルバキアの感染・伝搬のモデルやその利己的振る舞いによる宿主生物の性比などに及ぼす影響などが研究されている。また、より広範な宿主生物でウォルバキアが見つかり、多くの研究事例が蓄積されつつある。今後は、ウォルバキアがどのように宿主生物の性や生殖を操作しているかの機構の解明が、最重要課題となってきた。また、農業害虫や天敵昆虫に感

引用文献

- 1) ARAKAKI, N. et al. (2000): Ent. exp. appl. 96: 177~184.
- 2) BOURTIZIS, K. and H. R. BRAIG (1999): Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millennium. Elsevier, Paris, p. 199~219.
- 3) COOK, J. M. and R. D. J. BUTCHER (1999): Res. Popul. Ecol. 41: 15~28.
- 4) HEATH, B. D. et al. (1999): Curr. Biol. 9: 313~316.
- 5) HUIGENS, M. E. et al. (2000): Nature 405: 178~179.
- 6) HURST et al. (1999): Proc. R. Soc. Lond. B266: 735~740.
- 7) KAGEYAMA, D. et al. (1998): Heredity 81: 311~316.
- 8) 野田博明 (1998): 植物防疫 52: 505~508.
- 9) ——— (1999): 生物科学 51: 143~158.
- 10) O'NEILL, S. L. (1997): Influential passengers. Oxford Univ. Press, New York, 214 pp.
- 11) SIRONI, M. et al. (1995): Mol. Biochem. Parasitol. 74: 223~227.
- 12) STOUTHAMER, R. et al. (1999): Annu. Rev. Microbiol. 53: 71~102.
- 13) WERREN, J. H. (1995): Proc. R. Soc. Lond. B262: 197~204.
- 14) ——— (1997): Annu. Rev. Entomol. 42: 587~609.

発行図書

昆虫の飼育法

湯嶋 健・釜野静也・玉木佳男 共編 B5判 本文400頁

定価 12,232 円税込み (本体 11,650 円) 送料サービス

飼育施設・人工飼料の調整・飼育虫の病気対策など共通性のある問題を総論で解説し、各論では126種の虫ごとに材料・採集・餌・作業計画・注意事項と問題点・参考文献など実際的に飼育方法を解説した書です。

お申し込みは直接当協会へ、前金(現金書留・郵便振替)で申し込むか、お近くの書店でお取り寄せ下さい。

社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒170-8484 東京都豊島区駒込1-43-11

郵便振替口座 00110-7-177867 TEL(03)3944-1561(代) FAX(03)3944-2103 メール: order@jppa.or.jp

発行図書

マルハナバチの世界

—その生物学的基礎と応用—

小野正人・和田哲夫 著 A5判 本文132頁+口絵カラー4頁

定価 2,039 円税込み (本体 1,942 円) 送料310円

農業生産現場で送粉昆虫の一端を担うマルハナバチについて、その生物学的な生態と行動について、また、導入利用の立場からの受粉者としての役割をわかりやすく解説した書です。

お申し込みは直接当協会へ、前金(現金書留・郵便振替)で申し込むか、お近くの書店でお取り寄せ下さい。

社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒170-8484 東京都豊島区駒込1-43-11

郵便振替口座 00110-7-177867 TEL(03)3944-1561(代) FAX(03)3944-2103 メール: order@jppa.or.jp