

## カブトムシのアイデア

緒方 法親

### はじめに

カブトムシは昆虫綱甲虫目に分類され、学名は *Allomyrina dichotoma* または *Trypoxylus dichotomus* として記載されています(図1A, B)<sup>1)</sup>。二つの学名をPubMedで検索すると、それぞれ55件と17件の論文が報告されています(2017年5月現在)。これは少ないでしょうか。地球では150万種の生物が同定されており、そのうち半分以上の80万種が昆虫綱に、またそのうち35万種が甲虫目に分類されています。カブトムシは、記載された生き物150万種のうち4分の1にあたる35万種を擁する甲虫の中でもっとも大きな体を持つ昆虫の一つであり、生き物を理解するために大変便利な動物です。カブトムシの研究が2000件、3000件と増えるとともに生き物の理解が大きく進むことを期待し、彼らが研究対象としていかに優れた生き物であるかを紹介します。

### これまでのカブトムシ

**流通するカブトムシ** 農学は生き物との関わりの中から人間を豊かにすることを目指します。カブトムシと私の関係は最初から農学的でした。幼いころ、カブトムシを学習塾に持って行くと、オモチャ、たとえばミニ四駆のパーツと交換することができました。子どもたちの純粋交換経済において、カブトムシは大変高い価値を持っていました。彼らの価値は現在でも高く、夏祭りな

どの景品用途のカブトムシ幼虫は、貨幣経済のもとで多量に流通しています。生きたまま30円で流通する動物が他にあるでしょうか。実際に、ヤフオク!で「国産カブトムシ 幼虫」を検索してみると、いくつもの出品が確認できます。体が大きく35g程度に達するため、30円のカブトムシ幼虫1頭から、脂肪体組織の初代組織培養を最大で100個作出することもできます。昆虫学の研究室に所属している学生の生活を眺めると、彼らが生活の半分程度を実験動物の世話に費やしていることがわかります。カブトムシ幼虫は世話の手間がかかりません。通信販売のカブトムシ幼虫は腐葉土の中に埋まった状態で届くので、これを実験に用いるまで研究室の廊下に置いておきます。以前、留学生の先輩が、虫の世話をしない私の生活を見て、彼の扱っている昆虫(蛾)の販売者の紹介を依頼してきたのですが、日本ではカブトムシが特別に流通している昆虫であることを説明すると落胆していました。

余談になりますが、純粋交換経済の経験からカブトムシを捕まえて売って生きていこうと考えた私は、成長してカブトムシ専門店でもアルバイトをするようになります。そこで、希少なものの値段はいくら上げてても良いということを学ぶとともに、カブトムシ自体を売って生きていくことが厳しい競争の中にあることを理解しました。

**共に暮らす** カブトムシ専門店でも世界中から集まっ

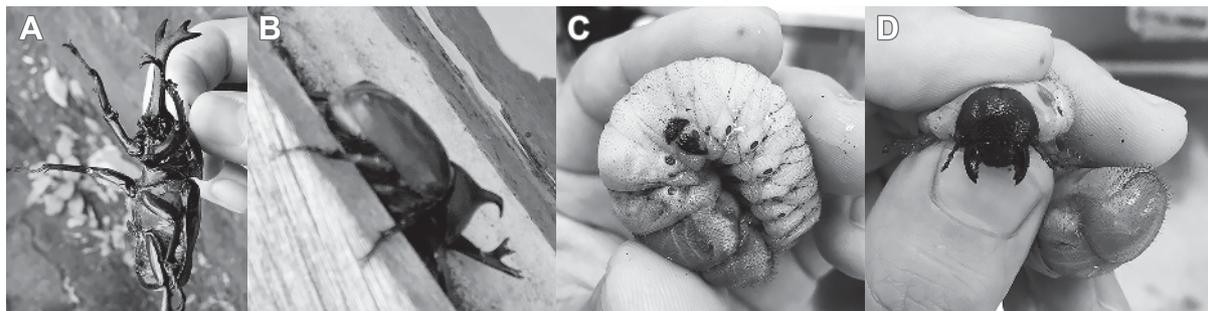


図1. カブトムシ。A: 雄成虫 (2017年6月19日東京都), B: 雄成虫 (2017年5月17日埼玉県), C: 幼虫にできたカサブタ, D: 幼虫アゴ。

著者紹介 株式会社日本バイオデータ (代表取締役) E-mail: norichik@nbiodata.com

たカブトムシと過ごし、ラボでは購入した、あるいは捕まえてきたカブトムシ (*A. dichotoma*) と暮らす中で、彼らのことが段々とわかってきました。たとえば、カブトムシは怪我をしたときにカサブタをつくって傷を塞ぐことができます(図1C)。腐葉土の中で飼育しているカブトムシがだいぶ大きく育ってきて、そろそろ雌雄に分けて飼育しようというときに腐葉土の入れ替えがてら雌雄の見分けを行うのですが、雌雄を見分けるためには丸まらたがる彼らの身体を伸ばして下腹部の模様を見る必要があります。慣れてくるとすぐに見分けられるようになるのですが、まれに、引き伸ばされたことを怒ったカブトムシがガチガチと大あごで挟んでくることがあり、うっかり自身を噛んでしまうこともあります(図1D)。そういったときには、アラビアのりのようにドロドロな体液が漏れてくるのですが、それをそのまま腐葉土の中に入れておくと、黒いカサブタが傷を塞いで元気に育つことができます。黒いカサブタはメラニンによるものだと考えています。一度、カブトムシ幼虫脂肪体組織の初代組織培養にヒト精液上清を添加したときには、どんな微生物のコンタミネーションでも見たことがないくらい真っ黒にメラニン化しました。ヒト精液中のセリンプロテアーゼが、昆虫が持つセリンプロテアーゼで構成されるカスケード反応に支配される、抗菌ペプチド合成・メラニン合成などの免疫反応に関与したものと考えているのですが、他のどんな昆虫の培養細胞でもカブトムシほど反応する細胞を知りません。

**はやがけ** カブトムシの幼虫の雌雄を見分けることは重要です。実験に用いるうえでは、単に雌雄を記録しておいて性別が実験結果に影響を与えていないか確認する程度なのですが、カブトムシを生産する場面においては必須の工程となります。雌雄の見分けは主に二つの目的で行われます。一つは雄の角が真っ直ぐ伸びられるようにするためです。特に外国産のカブトムシの場合には角の占める体長に対する割合が半分程度と大きく、雄の蛹は雌の蛹に対して倍の空間を占拠します。角の大きさは個体の価格と強く結びついていますので、十分な広さの蛹室を確保できるよう広い空間を与えてやらなければなりません。そこで、幼虫の時点で雌雄を見分けて雄を広い容器に、雌はふつうの容器に分け、それぞれで蛹化させます。もう一つの理由は「はやがけ」を防ぐことにあります。はやがけとは文字どおり早く掛け合わせてしまうことを指し、雌が羽化後十分な成熟期間を経ずに交尾を経験することで繁殖能力を失う現象を意味します。はやがけが実際にどのように障害を引き起こしているのかについての機構は不明ですが、生産者たちは生殖器が

破損してしまうと考えています。この生殖器の破損による交尾能力の喪失、または減少は他の甲虫で知られており、あるゾウムシの雄の交尾器にはトゲがついて、交尾を行った相手の雌性生殖器を破壊します。ところでこのはやがけ問題は、野外のカブトムシたちにとって課題にならないのでしょうか。もちろん、生産者たちの飼育するカブトムシはきわめて高密度な条件で飼育されていますので、カブトムシたちがこれまで進化してきた通常の環境では起こらないかもしれません。

ここで一度カブトムシから離れてチョウの羽化を見てみましょう。チョウの雌が蛹から羽化しようとするその時、チョウの雌の蛹の周りではチョウの雄が羽化をじっと待っています。そして、羽化次第ただちに交尾を行うのです。カブトムシでも同じような雄がいればあちこちでははやがけ問題が起きてしまうように思えます。もちろん実際に、カブトムシではそのような問題は起こりません。それは、チョウとカブトムシの雌性生殖器の構造の違いによって説明することができます。チョウはUの字型の貯精嚢を持っており<sup>2)</sup>、精子をUの字の片方で受け取ってもう片方の穴から出して受精に利用します。こういった構造であれば、先に受け取った精子から受精に使われることとなり、はやく交尾を行った雄が優先的に子孫を残すことができます。チョウの雄が雌の蛹の前で羽化を待つ理由はこのように説明できます。一方、カブトムシはIの字型の貯精嚢を持っており、精子は受け取った穴から出して受精に利用します。こういった構造であれば、後に受け取った精子から受精に使われることになり、産卵直前に交尾を行った雄から優先的に子孫を残すことができます。貯精嚢の構造が野外での昆虫の行動だけでなく、生産のための工程にも影響しているのは面白いことです。

**角と精巢** 排卵日のよくわからないヒトと、排卵日のよくわかるチンパンジーとを比較すると、陰茎ではヒトが、精巢ではチンパンジーの方が大きいことが知られています。ゴリラの陰茎はヒトの手の親指ほどですので、ヒトの陰茎は哺乳綱としてはかなり大きな部類に入ると思います。ヒトと同じくらいの陰茎を持つ意外な動物としてはコアラがあげられます。このように突起や精巢の大きさは生き物によって多様なバリエーションがありますが、カブトムシの場合には種内に角の大きさの異なる二つのタイプがあることが知られています<sup>3)</sup>。これは彼らの戦略が二つにわかれていることで説明されています。先ほど、カブトムシを含め甲虫の貯精嚢はIの字型で後に受け取られた精子から受精に用いられるということ述べたのですが、そのためにカブトムシの交尾では

戦略が複雑化したのです。山梨県の穴山駅などにいくと周辺の雑木林ではコナラやクヌギから樹液が染み出し、昆虫図鑑の表紙によくあるような、樹液にオオムラサキ、カナブン、ノコギリクワガタ、そしてカブトムシが群がっている様子を見ることができます。明るければスズメバチの類も見られます。私の地元の方ではカブトムシは少なく、ヨツボシケシキスイ（体長1 cmほどの甲虫）なども大事に捕まえていたのですが、穴山ではそんな必要はありません。わっしわっしと樹液に群がるカブトムシを捕まえていくことができます。ナシ園に群がるカブトムシほど数は採れませんが、樹液に群がる甲虫を懐中電灯で照らして見つけるのはとても情緒があります。夕方から朝までカブトムシを探していると、小さいカブトムシから採れてだんだんと大きいカブトムシが採れ、まただんだんと小さなカブトムシに移り変わっていくことがわかると思います。これは個々のカブトムシが自分の持つ資源から得られるものを最大化しようと戦略を切り替えているためです。端的に申し上げますと、体の小さなカブトムシは角を小さくして戦いを避け、長時間外で雌を探して見つけ次第に交尾を試みます。たくさん交尾を試みたいため、チンパンジー同様大きな精巣を持っています。反対に大きなカブトムシは角を大きくして、安全な時間帯だけ樹液のところに来て、戦いに勝って少しだけ交尾します。中途半端な戦略ではどちらの戦いでも勝てないようで、カブトムシは自分の体の大きさを知っているかのように角を大きくしたり小さくしたり調節します。こういった観察から角を持つ甲虫において角と精巣のトレードオフが予測されるのですが、実際にフンコロガシの類では角と精巣のトレードオフが見つかっています<sup>4)</sup>。蛹の時点で精巣を焼き潰すと角が大きくなり、角を焼き潰すと精巣が大きくなるのです。学生の時分にコンパなどがあると、男の子たちを見ながら角の大きなカブトムシと角の小さなカブトムシに見分けたりしていました。

**細胞レベルで抜群** カブトムシの角は交尾戦略のうえで重要であることはもちろん、ヒトの関心をよく惹きます。以前、国立環境研究所の五箇先生が講義の際に「日本人は里山で過ごしていた時に雑木林がよく整備されている証として出てくるクワガタやカブトムシを好きになるように選択圧がかかっていた、……らしいね。」と冗談を言われたのですが、遺伝子レベルで関心を持たされていることを疑うくらい素晴らしい角です。カブトムシはこの角をつくるためにどれほどコストをかけているのでしょうか。最近の研究では、角を大きくすることでタヌキやカラスに食べられるリスクが無視できない程度上

昇すると報告されています<sup>5)</sup>。それだけのコストを支払ってまで種内競争のために角を大きくするカブトムシの姿勢には、余裕を感じられずにいられません。他の生物が一生懸命生存をかけて効率化している中で、角を大きくして遊んでいるカブトムシにそれほどの余裕を与えたものは一体何でしょうか。腐葉土の中に住んで腐葉土食べる生活が彼らに特別な地位を与えたのかもしれませんが、もちろん地中にはモグラという恐ろしい敵がいて、秋から春まで野外でカブトムシを採っていれば、春のある時期からカブトムシのいた辺りにモグラの坑道がどんどん通ってカブトムシが犠牲になっていくのを見ることができます。昆虫を捕食する代表的な動物といえば、寄生蜂を見逃すことはできません。おそらくタマムシやカミキリムシが住んでいる、積み上げられた丸太の上を産卵管の長いハチがフラフラしているのを見たことがあるはずですが、カブトムシは腐葉土の中に住んでいるので、どんな寄生蜂の産卵管もカブトムシを捉えることはできないでしょう。実際に野外で鱗翅目(ガやチョウのこと)の幼虫を捕まえてきて観察すると、かなりの数の寄生蜂、寄生蠅がチョウの代わりに蛹から出てきます。私が野外で捕まえたカブトムシからハチがでてきたことは今のところありません。ではなぜ、他の昆虫は腐葉土の中に住まないのでしょうか。明らかに論理上の飛躍がありますが、私はこれをカブトムシが細胞レベルで優れているためだと考えました。誰も住まない腐葉土で大きく育ち、敵に見つかりやすい角をつくって内部抗争に明け暮れているのは、細胞レベルで優れていることで得られた余裕だと考えました。

### いまのカブトムシ

**カブトムシの免疫力** 論理の飛躍に続いて、免疫力などという定義のはっきりしない単語に不快になられたかもしれません。ここでいう免疫力とは、血球細胞の質と量によって定義できると考えています。歴史的に昆虫の免疫についてはその扱いやすさから抗生物質などの非細胞性の因子から説明されてきましたが、少なくとも甲虫を用いた研究では血球が昆虫免疫の中心であることがわかってきています<sup>6)</sup>。そもそも、人間たちが抗生物質に抵抗性を示す微生物の登場に悩まされているのに、どうやって昆虫たちは抗生物質一本で何億年も生き残ってきたのでしょうか。抗生物質はいきなり使うものではなく、血球で食べ尽くした後に、体の隅々までばら撒いて、食べ残しの活躍を抑えるために使っていたのです。ふつう、カイコやキアゲハなどの幼虫の上皮をハサミで切ると、タラリタラリと体液が流れ出てきます。前

述の通り、カブトムシの場合にはドロドロの体液が出てきますが、他の昆虫より粘度が高くあまり多量には出てきません。これもまた学生の時分に聞いたことですが、指を怪我したときにカブトムシのワタを抜いて指を通しておくと傷の治りが良いそうです。そしてそのドロドロの体液にはたくさんの血球が含まれています。位相差顕微鏡などで観察するとたくさんの血球が輝いて眩しいほどです。これらの血球には電子顕微鏡観察の結果、原白血球、エノシトイド、小球細胞、顆粒細胞、プラズマ細胞が含まれていることがわかっています<sup>7)</sup>。これらの血球こそ、カブトムシが抜群の適応を果たした要因のはずです。

**カブトムシの細胞培養** カブトムシの細胞について調べたいと思った時、何から始めるべきでしょうか。私の場合、カブトムシの培養細胞を手に入れるところから始めました。HeLaやCHO-K1、あるいはiPSと同様に昆虫にも不死化した細胞系があります。一度細胞系をつくることができれば、再現よくいつでもさまざまな実験を行うことができます。また、私はそれ以上に、寿命を持った動物のからだから不死性を獲得した細胞系が得られるということに強く魅せられていました。繰り返しになりますが、地球上の生命150万種のうち4分の1を超えるグループである甲虫目についての研究は少なく、その細胞系も数十個しかありません。中でも日本で樹立された二つのカミキリムシ細胞系Xp-1とPC-1はどちらも幼虫の脂肪体をMGM-450昆虫培地で培養することで血球様の細胞系を作り出しています。カブトムシの場合、幼虫を火炙りにすることで表面殺菌する滅菌手法を開発したり、より適合した培地を探し出したりすることでやはり血球様の形態を持つ細胞を培養環境で増殖させることができました(図2)。また、カブトムシ幼虫は35g程度と大きな体を持つため、倫理的制約を含めて他の動物ではできなかった実験ができるようになりました。それ



図2. 幼虫を解剖する(撮影: 梁瀬遊吾)

は、同一個体由来の異なる培養細胞間の比較解析です。

**細胞の個人差・個体差の由来** 動物から細胞を取り出して培地で培養を行うことを初代組織培養といいます。細胞系よりもより生体内に近い性質を有する利点がある一方で、培養中の細胞の振る舞いの再現性が低い欠点があります。このばらつきの要因としては、細胞を取り出す際の手技の差と、実験に用いた動物の個体差が考えられてきました。カブトムシは1頭からたくさんの初代組織培養をつくることのできるため、1頭の幼虫から20-50個の初代組織培養をつくり、これを繰り返してそれらの培養中の細胞の振る舞いを観察、記録することでそれを判別することにしました。100個以上の培養を見張って1200の記録をつくり、その記録を数理モデルで説明します。二つのモデル、すなわち、ばらつきの要因を個々の培養に求めるモデルと、ばらつきの要因を個々の培養に加えて実験動物の個体差に求めるモデルをつくりました。二つのモデルを比べると、実験動物の個体差をばらつきの要因として加味したモデルの方が観察結果を上手く説明できました。ただし、これは当然の帰結で、使える材料が増えれば増えるほど事象を細かく記述できて、観察とモデルの差が縮まることは自明です。たとえば、二次方程式で表すことのできるものは、三次式でも四次式でも表すことができますが、三次式や四次式を使う意味はありません。したがって、扱う材料の数が違うモデル同士を比較するためには、材料を増やすことに対して評価がマイナスになるような仕組みをつくって、モデルに材料を一つ加えるごとに加えるだけの価値があるかどうかを調べなければなりません。それなしには、数理モデルはややこしければややこしいほど価値が高いことになってしまっていて、それを追求すると、観察自体を扱うことと同一化してしまっていて、モデルを使って説明する意味がなくなります。説明の否定です。

そこで、モデルの材料を増やすほどに評価を下げる考え方として、赤池先生のAkaike's Information Criterion (AIC)をお借りしました。AICでは、モデルの材料の数をモデルの評価のマイナス要因として扱います。AICを使って、先の、初代組織培養中の細胞の振る舞いモデル二つを比べました。ばらつきの要因として、個々の培養のみを扱うモデルと、個々の培養に加えて実験動物の個体差を扱うモデルの比較です。結果、個体差を加味してモデルをつくることには、モデルをややこしくするだけの価値があること、つまり、初代組織培養の欠点である低い再現性は、実験動物の個体差に起因することがわかりました。せっかくモデルをつくったので、個体差が初代組織培養の再現性に与える影響の大きさを推定しま

した。すると、培養した瞬間の細胞の状況に影響を与えていることがわかりました。培養が始まってしまっからの振る舞いの変化に与える影響は、それよりもずっと小さいこともわかりました。これは、培地にすぐに馴染める細胞を持っていたか、それとも、培地になかなか馴染めない細胞たちを持っていたか、というところに動物細胞の初代組織培養における個体差が生じていることを意味します。こういった研究を進めながら、カブトムシの研究からさまざまな研究・開発を改善するための知見が得られることを知り、カブトムシの研究から得られた成果を売って暮らすことを考えるようになりました。

### これからのカブトムシ

**不死化した細胞系の始祖** カブトムシの初代組織培養の観察を続けるうち、培養環境下で細胞は脱分化するという考えに取り憑かれるようになりました。これについては、1913年にChampyという人がさまざまな培養の所見から、「あらゆる組織細胞はこれを培養すればある一定期間後に何も共通な原始型に復帰する」と述べておりましたが<sup>8)</sup>、形態からははっきりとした答えが出ていませんでした。この問題に定量的な答えを提示すべく、当時では少ないゲノム既知昆虫であったカイコの脂肪体の初代組織培養中の変化を次世代シーケンサーで分析することにしました。生体内の脂肪体では少数の遺伝子がトランスクリプトームの大半を占めますが、ここで発現量の極端に高かった遺伝子は初代組織培養中には発現量が減少し、トランスクリプトームを多数の遺伝子と分かち合っていることがわかり、ここで見られた初代組織培養によるトランスクリプトームの量的特殊化傾向の喪失こそChampyと私が観察から見いだした一定の傾向である<sup>9)</sup>と考えました。さらに、量的特殊化傾向を定量評価するために情報エントロピーを利用しました<sup>10)</sup>。以来、トランスクリプトームの情報エントロピーを量的分化マーカーとして用いておりますが、カブトムシの培養から増殖してきた細胞についても同様に分析しております。カブトムシの初代組織培養から得られた、よく増殖する細胞についてトランスクリプトーム解析したところ、ヘモレクチン（糖鎖結合タンパク質の一つ）などの血球らしい遺伝子発現が見られました。増殖してきた細

胞の始祖が血球であると考えられたため、さらに探るためにカブトムシの血球について1細胞トランスクリプトーム解析を行い、増殖してきた細胞が幼虫体内にある血球の一つときわめて似たゲノム発現をしていることや、カビの芽胞の認識に関わるレクチンをつくる血球はグラム陽性細菌認識タンパク質をあまりつくらないことがわかりました。また、その結果から予測される通り、カブトムシの血球にはそれぞれに好みがあって、カビを食べたがる細胞と、グラム陽性細菌を食べたがる細胞がいることが後の実験でわかりました。こうしてつくった研究手法を、産業上利用する生物の研究に適用することで私は生計を立てています。

**核戦争後の生物工学** 今回はカブトムシについてそのすぐれた研究対象特性を紹介いたしました。カブトムシに限らず甲虫の類はもっとも高い多様性を持つだけあってとても優れています。核戦争後もゴキブリは生き残るなどと耳にしますが、ゴキブリ、ハエ、コクヌストモドキ（米糠などに発生する貯穀害虫の甲虫でゲノムが解読されている）で放射線がまんくらべをさせると生き残るのはコクヌストモドキです。昆虫はもともと細胞レベルでヒトより放射線に強いのですが<sup>11)</sup>、腐葉土の中にいるカブトムシに核が当たるでしょうか。これまでもこれからも地球は甲虫の惑星です。

### 文 献

- 1) Kono, H.: *Insecta Matumurana.*, **5**, 159 (1931). <http://hdl.handle.net/2115/9220>
- 2) Wigglesworth, V. B.: *The Principles of Insect Physiology*, Springer, Netherlands (1972).
- 3) 本郷儀人：京都大学学位論文 (2007) <http://hdl.handle.net/2433/136844>
- 4) Simmons, L. W. and Emlen, D. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **44**, 16346 (2006).
- 5) Kojima, K. *et al.*: *Zoolog. Sci.*, **3**, 109 (2014).
- 6) Haine, E. R. *et al.*: *Science*, **5905**, 1257 (2008).
- 7) Ogata, N. and Iwabuchi, K.: *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim.* (2017). DOI:10.1007/s11626-017-0140-7
- 8) Champy, C.: *Arch. Zool. Exp. Gen.*, **t.53** (1913) <http://ia800207.us.archive.org/8/items/archivesdezoolog53cent/archivesdezoolog53cent.pdf>
- 9) 倉谷 滋：分節幻想，工作舎 (2016).
- 10) Ogata, N. *et al.*: *PLoS One*, **7**, e34940 (2012)
- 11) Cheng, I. C. *et al.*: *Mutagenesis*, **24**, 259 (2009).