

## 環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

公募区分：革新型研究開発（若手枠）

研究実施期間：令和3（2021）年度～令和5（2023）年度

課題番号：【4RF-2103】

体系的番号：J P M E E R F 2 0 2 1 4 R 0 3

研究課題名：「都市化による昆虫への遺伝的・エピ遺伝的影響と汚染的遺伝子流動の評価」

Research Title: Genetic and epigenetic changes against urbanization and gene flow swamping local adaptation

研究代表者名：高橋佑磨

研究代表機関名：千葉大学

研究領域：自然共生領域

キーワード：都市化、昆虫、都市ストレス、遺伝子発現、表現型進化

令和6（2024）年5月

## 目次

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書	1
[課題概要]	3
1. はじめに（研究背景等）	5
2. 研究開発目的	5
3. 研究目標	5
4. 研究開発内容	6
5. 結果及び考察	10
6. 目標の達成状況と環境政策等への貢献	20
(1) 研究目標の達成状況	20
(2) 研究成果の学術的意義と環境政策等への貢献	20
7. 研究成果の発表状況	22
(1) 成果の件数	22
(2) 誌上発表	22
(3) 口頭発表	23
(4) 知的財産権	23
(5) 「国民との科学・技術対話」の実施	23
(6) マスメディア等への公表・報道等	23
(7) 研究成果による受賞	24
(8) その他の成果発表	24
8. 国際共研究等の状況	24
9. 研究者略歴	24
Abstract	25

## [課題概要]

## &lt;課題情報&gt;

公募区分：	革新型研究開発（若手枠）
研究実施期間：	令和3（2021）年度～令和5（2023）年度
課題番号：	【4RF-2103】
研究課題：	「都市化による昆虫への遺伝的・エピ遺伝的影響と汚染的遺伝子流動の評価」
研究代表者：	高橋佑磨（千葉大学、准教授）
重点課題（主）：	【重点課題⑬】生物多様性の保全に資する科学的知見の充実や対策手法の技術開発に向けた研究
重点課題（副）：	【重点課題⑭】生態系サービスの持続的な利用やシステム解明に関する研究・技術開発
行政要請研究テーマ （行政ニーズ）：	非該当
研究領域：	自然共生領域

## &lt;キーワード&gt;

都市化
昆虫
都市ストレス
遺伝子発現
表現型進化

## &lt;研究体制&gt;

サブテーマ1「都市化による昆虫への遺伝的・エピ遺伝的影響と汚染的遺伝子流動の評価」

## &lt;サブテーマ1リーダー及び研究分担者&gt;

機関名	部署名	役職名	氏名	参画期間
千葉大学	大学院理学研究院	准教授	高橋佑磨	

## &lt;研究経費（間接経費を含む）&gt;

年度	直接経費	間接経費	経費合計
2021	4,151千円	1,245千円	5,396千円
2022	4,130千円	1,239千円	5,369千円
2023	4,130千円	1,239千円	5,369千円

合計	12,411千円	3,723千円	16,134千円
----	----------	---------	----------

<研究の要約>

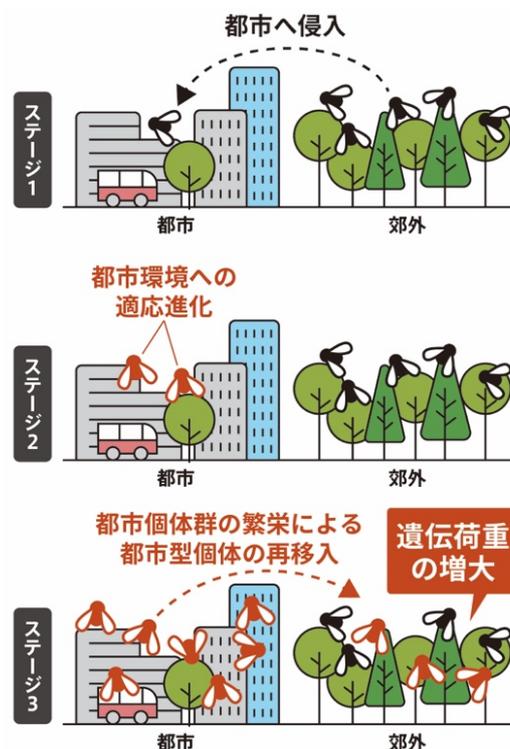
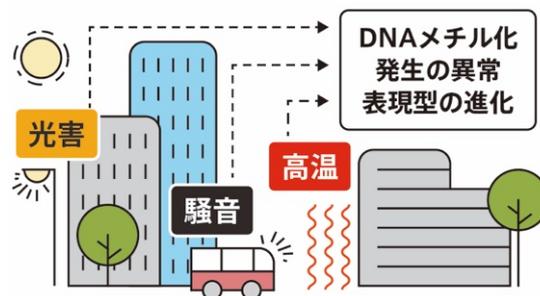
地球上での都市の面積は年々増加している。都市化は、生物の生息環境を喪失させることで、直接的に生物の個体数や生物多様性に悪影響を及ぼしてきた。世界規模での昆虫類の絶滅や減少の一因であるとも指摘されている。一方で、都市化は、気温の上昇や光害、騒音など公害や汚染がDNAの化学修飾状態などの変化を通じてさまざまな表現型を非適応的に変化させることで、間接的に生物の個体数を減らす可能性がある。また、都市の環境に適応進化することができた種は、都市において個体数を増やしているかもしれない。本研究では、飼育や実験手続きが容易でかつゲノムが既知であるオウトウショウジョウバエを用い、都市化による温度上昇や光害、騒音が生物の形質に与える遺伝的（進化的）およびエピ遺伝的影響の検出を試みた。

まず、本種について関東地方を中心に、都市部と郊外部でメスを採集し、そのメスと起点とする系統（近交系統）を多数確立した。それらの系統の幼虫や成虫を高温や光害、騒音ストレスにさらし、表現型の差異や遺伝子発現の変化を調べた。その結果、これらのストレスが本種の活動のリズムや量、生率、体サイズに影響を与えることがわかった。また、そのような影響は一貫して、都市系統のほうが小さかった。このことは、都市系統では、都市ストレスに対する耐性を獲得していることを示唆している。一方、通常条件と光害ストレス（夜間光）を与えた条件について遺伝子発現パターンを比較したところ、都市系統のほうが多くの遺伝子が光害ストレスによって発現量を変化させていた。この結果は、都市系統は遺伝子発現パターンを変化させることでストレス耐性を高めていることを示唆している。これらの結果は、人間活動やそこから生み出される都市ストレスが生物に与える影響を予測したり、人間と生物とのより健全な共生関係を構築することに貢献する基礎的なデータになると期待される。

1. はじめに（研究背景等）

地球上で都市が占める割合は増加し続けている。都市化は、生物の生息環境を喪失させることで、**直接的**に生物の個体数や生物多様性に悪影響を及ぼしてきた。世界規模で昆虫類が減少していることの原因の一つであるとも指摘されている。ただし、一部の昆虫は都市において増加傾向にある。すなわち、「都市化=各生物種の衰退」といえるほど単純な図式ではない。一方で、都市化は、気温の上昇や光害、騒音など公害や汚染が DNA の化学修飾状態などの変化を通じてさまざまな表現型を非適応的に変化させることで、**間接的**に生物の個体数を減らす可能性がある。他方、都市の環境に適応進化することができた種は、都市において個体数を増やしているかもしれない。いずれにせよ、こうした遺伝的、エピ遺伝的な表現型の変化は、種内・種間の相互作用を複雑に改変することで、生物多様性に対しても多大な影響を与えているはずである。

都市環境に対して生物が適応進化しているという前提に立つと、これまでの都市生態学で見過ごされてきた新たなリスクが見えてくる。それは、都市に適応した個体が郊外（もともとの生息地）に「逆輸入」されることによる遺伝的な汚染である。このような二次的な遺伝子汚染は、郊外集団の環境適応を阻害し、郊外集団の衰退をもたらす可能性がある（移住荷重と呼ばれる）。したがって、生物多様性のへの影響を最小化し、持続可能な都市を維持していくためには、都市化が生物に与える影響を進化的な変化やエピジェネティックな変化（形質の可塑的变化やDNAのメチル化など）などの視点から多角的に理解することが不可欠である。



2. 研究開発目的

本研究では、①昆虫類を用いて都市化に伴った環境変化の直接的弊害（可塑的応答）と都市化に対する生物の対抗適応（進化的変化）を検証するとともに、②都市から郊外（既存の生息地）への汚染的な遺伝子流動の実態を明らかにすることを目指す。本研究では、飼育が容易で様々な実験的処理が可能なショウジョウバエ類を材料として、都市化に伴った環境変化の影響を網羅的に検証する。

3. 研究目標

<p>全体目標</p>	<p>都市化に伴う温度上昇や光害、騒音などの環境変化（あるいは汚染）が昆虫類の繁殖形質や生活史形質についてどのような進化をもたらすかを明らかにするとともに、これらの汚染がエピ遺伝学的に各種形質や各遺伝子の化学修飾（メチル化）に与える影響をゲノムワイドに検出するこ</p>
-------------	---

	<p>とで、昆虫類に対する都市化の影響を網羅的に明らかにする。さらに、都市の個体（特に都市に適応した個体）が郊外に再移入することによる汚染的な遺伝子流動の影響（都市化の二次被害）を定量する。</p> <p>具体的には、2種のショウジョウバエ類を対象に、それぞれの種について、3つの都市それぞれから16の地点（都市化勾配に沿ったトランセクトを2つ設置）でサンプリングを行ない、地点ごとに最低3の系統（2種合計300系統程度）を確立する。これらの系統を用いて、産地の都市化指数と各種形質の関係を調べることで都市勾配に沿った進化的な変化を検出するとともに、公害を模したさまざまな環境要因に曝露することで、これらの環境要因が昆虫類の形質、活動性、繁殖に与えるエピ遺伝的な影響を評価する。さらに、トランセクトごとに集団間の遺伝子流動を定量する。また、沿って形質の最適値と実現値のミスマッチを検出することで、都市から郊外への（汚染的）遺伝子流動が形質の最適化進化に与える負の影響を評価する。</p>
--	---

サブテーマ1	都市化による昆虫への遺伝的・エピ遺伝的影響と汚染的遺伝子流動の評価
サブテーマ1 実施機関	千葉大学
サブテーマ1 目標	全体目標と同様

#### 4. 研究開発内容

＜【サブテーマ1】「都市化による昆虫への遺伝的・エピ遺伝的影響と汚染的遺伝子流動の評価」の研究開発内容＞

##### サンプリング

東京首都圏の32地点、愛知県の7地点、宮城県の4地点で2021年と2022年6月にサンプリングを行ない（図1）、各地点について複数のオウトウショウジョウバエ (*Drosophila suzukii*) 個体を用いて単雌系統を確立した。また、各地点から2023年度に実施を予定している集団遺伝学的解析に用いる個体として、各地点20個体以上をエタノール固定した。

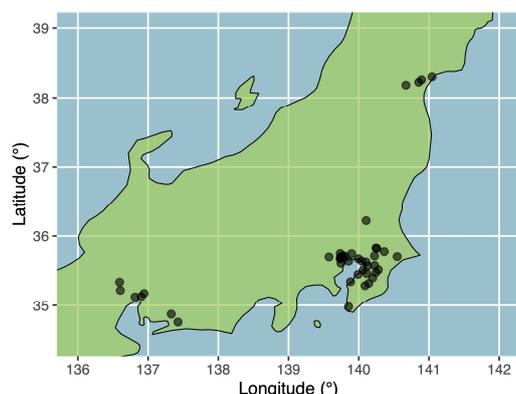


図1. サンプリング地点. プロットがサンプリングを行ない、系統を確立した地点（ただし、系統確立後、必ずしもすべてが生存しているわけではない）。

千葉県と東京都に関して、アメリカ地質調査所の運用するLandsat-8衛星により観測されたセンサ画像のうち緑地量を表すメッシュ画像（845–885 nm、Band5）と地表面の土壌の量を表すメッシュ画像（2100–2300 nm、Band7）を取得した。このとき、Landsat-8の衛星画像のうち雲の少ない2015年8月6日画像を用いた（Row, Pathなどの情報）。これらの画像データを用いて、QGISを用いて以下の都市化指数（Urbanization Index）, UI を算出した（Kawamura *et al.*, 1998）。

$$UI = \frac{\text{band7} - \text{band5}}{\text{band7} + \text{band5}}$$

各地点の都市化指数として、該地点から半径 5 kmからの海域を除いた領域内の平均都市化指数を算出した。UIが-0.3以上となった地点（高UI class）を都市、それより小さくなった地点（低UI class）を郊外と定義した。なお、都市化度の高い地点ほど冬季も夏季も日平均気温が高く、夜間の天空の照度が高い（光害が深刻）ことが確認されている（図2）（ただし、この図では、UI classを3段階に分類している）。なお、本研究では、都市化に伴った公害として、光害、騒音、高温の3つに着目し、これらの生物影響を評価することを目指す。

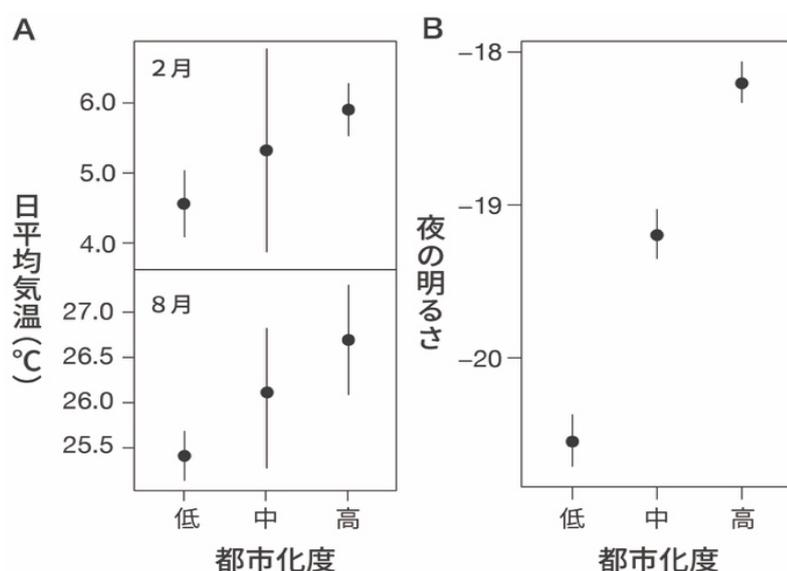


図 2. 都市化度と気温や光害（夜の明るさ）の関係。Aが調査地点における2月と8月の日平均気温で、Bが夜の明るさ（値が大きいくほど夜が明るい）を示している。

### 温度耐性の進化的な差異

成虫の低温耐性と高温耐性の進化的な差異を調べるため、一定の条件で飼育した都市と郊外の系統を用いて、臨界最低温度と臨界最高温度をそれぞれ測定する実験を行なった。まず、各単雌系統を23℃の12L12Dの条件のインキュベータで少なくとも2世代飼育した。羽化してきた雌雄の成虫を0.2mlチューブに1個体ずつ入れ、綿棒の先で蓋をした。このとき、使用する成虫の齢や状態をできる限り統一するため、翅に汚損のあるものや、痩せた成虫については実験に用いなかった。臨界最低温度を測定するため、成虫の入ったチューブをサーマルサイクラーに入れ、温度を25℃から2分あたり1℃低下させた。サーマルサイクラーの温度が1℃低下して1分経過するごとにチューブをサーマルサイクラーから

持ち上げて優しくタップし、成虫の運動の有無を記録した。このとき、腹部と足の両方が完全に動かなくなるときに「運動なし」としている。成虫の運動を観察した最低温度を臨界最低温度 ( $CT_{min}$ ) とした。臨界最高温度の測定においては、サーマルサイクラーの温度を25℃から2分あたり1℃上昇させた。1℃上昇して1分経過するごとにチューブをサーマルサイクラーから持ち上げて優しくタップし、成虫の運動の有無を記録した。成虫の運動を観察した最高温度を臨界最高温度 ( $CT_{max}$ ) とした。

都市/郊外の区分 (UI class) と性別 (sex)、地点 (site) を固定効果、同じサイト内での系統の違いをランダム効果として、誤差分布にガンマ分布を仮定した一般化線形混合モデルで解析をした。各変数の有意性は尤度比検定により求めた。

### 臨界活動温度の柔軟性の測定

短時間の曝露による温度耐性の可塑的な応答の程度を調べるため、以下の実験を行なった。都市化度の高い2地点各1系統、都市化度の低い2地点の各1系統を用いた。雌雄の成虫を麻酔せずに0.2mlチューブに一個体ずつ入れた。このとき、翅に汚損のあるものや、痩せた成虫は実験に使わなかった。綿棒の先を5  $\mu$ lの水で湿らせてからチューブに蓋をし、曝露処理中の乾燥を防いだ。それぞれ、サーマルサイクラーで3℃と32℃に2時間曝露した (図3)。また、それぞれのコントロールとして、25℃に2時間曝露する処理も同時に行なった。曝露後、曝露の直接的な影響をなくすため、1時間の回復時間を与えた後、低温に曝露した個体とそのコントロール区の臨界最低温度と、高温に曝露した個体とそのコントロール区の臨界最高温度を上述の方法で測定した。

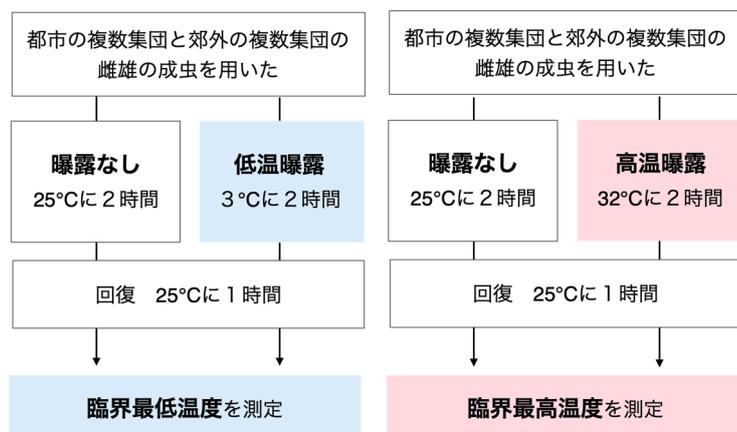


図3. 高温あるいは低温曝露とその後の臨界温度の測定の工程

### 夜間照明と昼夜条件での活動パターンの変化

都市化度の高い3地点の個体と低い3地点の個体を用いた。22℃の12L12Dの条件飼育してきた雌成虫に産卵させ、得られた卵を以下の2つ光環境で飼育した。一つは、夜間照明を0ルクスとする条件、もう一つは、夜間照明を10ルクスとする条件である。いずれの条件の場合も、日中の光条件を約1000ルクスとした。日長は12時間とした。これらの環境で飼育したときに得られた成虫について、それぞれの光環境において24時間の活動をDrosophila Activity Monitorによって記録し、1時間ごとに集計した。

### 夜間照明と恒暗条件でのパターンの変化

都市化度の高い4地点の個体と低い4地点の個体を用いた。上述の方法と同様の方法で夜間照明に曝露

して飼育したときに得られた成虫について、完全な暗条件（0L24D）で活動量を48時間測定し、そのデータを用いて、日週の活動リズムや睡眠リズム、概日リズムの長さを比較した。

### 夜間照明と繁殖活動や繁殖形質の関係

都市化度の高い3地点の個体と低い3地点の個体を用いた。上述の方法と同様の方法で夜間照明に暴露して飼育したときに得られた成虫について、オスの求愛行動の程度とメスの産卵数と卵サイズを測定した。求愛行動の程度については、同居させた雌雄の移動速度や雌雄の距離によって評価している。具体的には直径1.5cmのアリーナに雌雄の個体を一頭ずつ同居させ、ビデオカメラで撮影した。得られた動画をFlytrackerにてトラッキングし、移動軌跡のデータからときの雌雄の移動速度や雌雄の距離を評価した。

### 夜間照明と遺伝子発現パターン

都市化度の高い4地点の個体と低い4地点の個体について、夜間照明のない条件と、10ルクスの夜間照明のある条件で飼育した。羽化後5日齢以内の雌雄からTotal RNAを抽出した。RNA-seqによりトランスクリプトーム解析を実施した。キロショウジョウバエのゲノム配列にマッピングし、遺伝子ごとの発現量を定量した。

### 夜間照明と羽化率

都市化度の高い地点の個体と低い地点に由来する系統を夜間照明のない環境で飼育し、得られた雌成虫から卵を得た。30卵をバイアルに入れ、夜間照明のない条件と、10ルクスの夜間照明のある条件で飼育し、羽化までの生存率（＝羽化率）を測定した。

### 夜間照明と生存率

都市化度の高い地点の個体と低い地点に由来する系統を夜間照明のない環境と夜間照明のある条件で飼育し、得られた成虫をそれぞれが育った光環境で飼育を続け、数日に一度程度の頻度で生存確認を行なった。得られたデータについて生存時間分析を行ない、光条件間、系統間での生存時間を比較した。

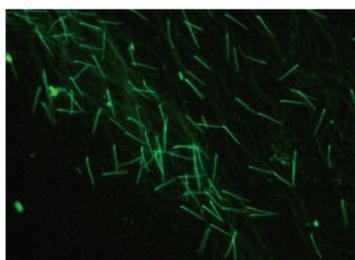


図4. 蛍光した精子の様子

### 夜間照明と精子の形態

都市化度の高い地点の個体と低い地点に由来する系統を夜間照明のない環境と青、赤、緑のいずれかの夜間照明のある条件で飼育し、得られたメス成虫を解剖し、精子を蛍光染色し、蛍光顕微鏡下で精子の頭部サイズを測定した（図4）。また、得られた成虫について、体サイズの測定を行ない、外部形態の比較を行なった。

## 騒音と活動量

騒音のできるだけない環境（40dB程度）で羽化した雌雄成虫を直径15mmの円形のアリーナに閉じ込め、80dBのホワイトノイズのある環境とない環境で上方からビデオカメラで撮影した。得られた動画を用い、Flytrackerにより各個体をトラッキングし、移動軌跡のデータから移動速度を推定した。

## 騒音と生存率、発生速度

都市化度の高い地点の個体と低い地点に由来する系統を騒音のない環境と騒音のある条件で飼育し、得られた成虫をそれぞれが育った音環境で飼育を続け、数日に一度程度の頻度で生存確認を行なった。得られたデータについて生存時間分析を行ない、騒音条件間、系統間での生存時間を比較した。また、卵を各音環境で飼育し、羽化までに要する時間を測定した。

## 騒音と遺伝子発現パターン

都市化度の高い4地点の個体と低い4地点の個体について、夜間照明のない条件と、10ルクスの夜間照明のある条件で飼育した。羽化後5日齢以内の雌雄からTotal RNAを抽出した。RNA-seqによりトランスクリプトーム解析を実施した。キイロショウジョウバエのゲノム配列にマッピングし、遺伝子ごとの発現量を定量した。

### 5. 結果及び考察

<【サブテーマ1】「都市化による昆虫への遺伝的・エピ遺伝的影響と汚染的遺伝子流動の評価」結果及び考察>

## 温度耐性の進化的な差異

臨界最低温度を測定したところ、都市由来、郊外由来いずれの集団も6～8℃であることが多かった。都市化度の低い集団では、臨界最低温度の平均が雌雄ともに6.5℃だったのに対し、都市化度の高い地域は、その平均が7℃以上であった。都市化度が臨界最低温度に与える影響は有意であった（図5）。臨界最高温度は、どの集団でも38℃台であり、都市化度が臨界最高温度に与える影響は有意ではなかった。

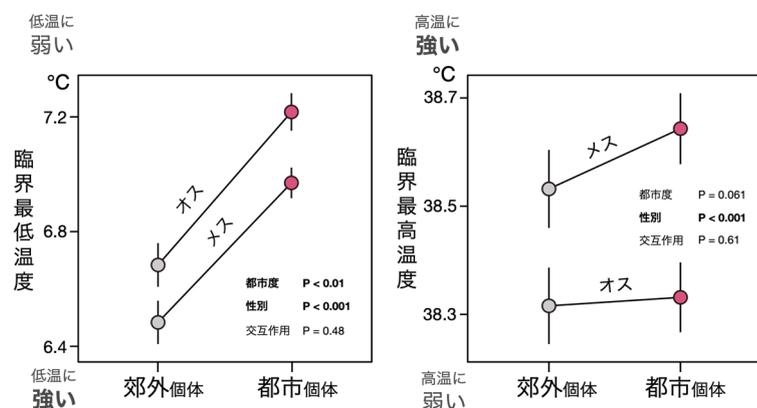


図5. 都市部由来と高外部由来の個体の臨界活動温度

## 曝露処理後の温度耐性

臨界最低温度は前項の結果で示した結果と同様、曝露なしのコントロール区では、都市化度の高い集団ほど高い値を示していた。低温曝露により都市化度の高い集団も低い集団も臨界最低温度が減少する傾向にあったが、統計的な有意性はなかった（図6）。このことは、温度曝露は低温耐性に影響を与えないことを示唆している。一方、臨界最高温度も前項で示したとおり、未処理のコントロール区では都市化度の高い集団と低い集団で有意差が認められなかった。ただし、高温曝露後には、いずれの都市化度クラスの集団においても臨界最高温度の上昇が認められた。また、その上昇幅は、高都市化度クラスの集団において高い傾向があった。曝露の有無と都市化度の間の有意な交互作用の効果が認められた。このことは、都市由来の系統における高い表現型可塑性の能力の存在を示唆している。

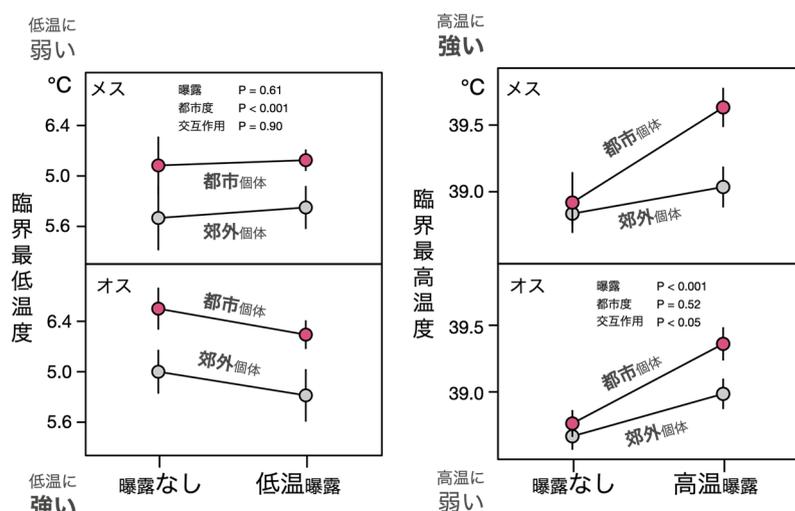


図6. 低温あるいは高温曝露後の臨界最低あるいは最高温度

## 夜間照明と活動パターンの変化

夜間照明のない条件で飼育・観察された個体については、郊外由来の集団でも都市由来の集団でも日の出直後と日没直後に明瞭な活動量のピークがあった（図7）。一方、微弱な夜間照明のある環境では、都市と郊外いずれの由来の集団においても活動量の低下が認められた。特に、日没前後の活動量の減少が顕著であった。個体の24時間の総活動量を比較したところ、都市由来の個体は、郊外由来の個体よりも活動量が高く、いずれの由来の集団も光害処理によって活動量が有意に低下することがわかった（図8）。

各時間帯の活動量の値をもちいて主成分分析を行なったところ、第一主成分として夜間の活動量、第2主成分として活動時間帯の違いを表す指数が得られた（図9）。これらの指数を用いて系統間、条件間の比較をしたところ、都市では夜間の活動量が高く、また、いずれの集団でも夜間照明により夜の活動量が高くなることがわかった。また、昼と夜の相対活動量は、地点間で差がなかったが、夜間照明の影響を強く受けていることがわかった。すなわち、夜間照明により、相対的に昼よりも夜の活動量が増えたのである。

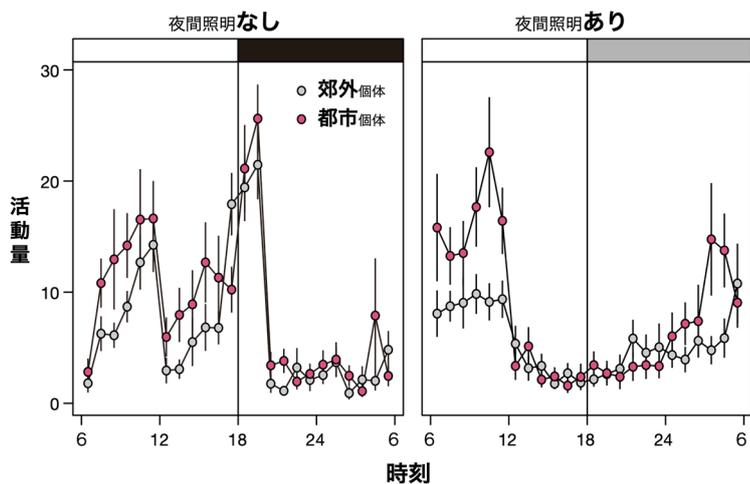


図7. 夜間照明のない条件（左）とある条件（右）での活動量の日変化

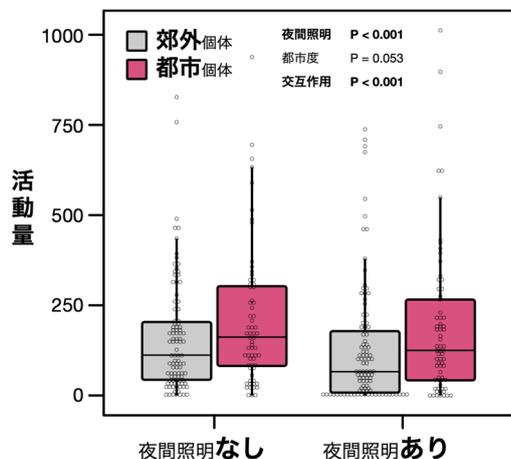


図8. 夜間照明のない条件（左）とある条件（右）での総活動量

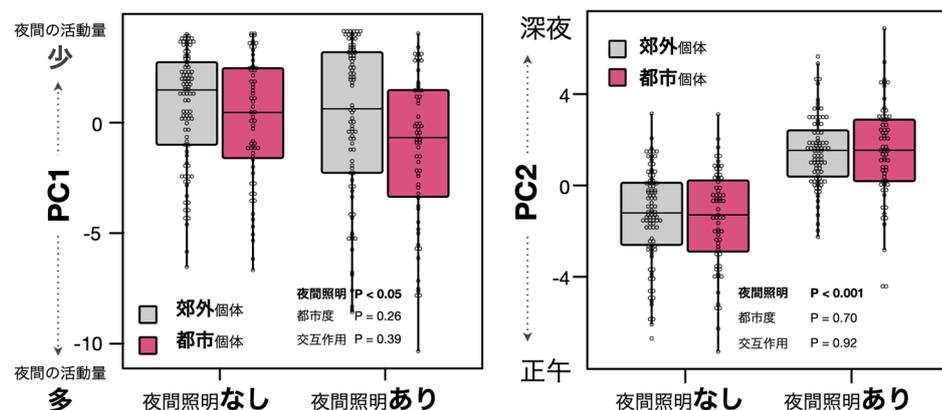


図9. 活動リズムの指標となる各主成分の系統間、条件間での比較

さらに、同様の条件で飼育した個体について、暗条件で48時間の活動量測定をしたところ、いずれの集団でも、日中であるべき時間帯に活動量が高くなる傾向が認められた（図10, 11）。概日リズムを推定したところ、いずれも22時間程度であったが、郊外集団の雌では、夜間照明の影響を強く受けて

おり、概日リズムが23~24時間程度と推定された（図12）。夜間照明によるリズムの短縮は、郊外系統においてより大きかった。

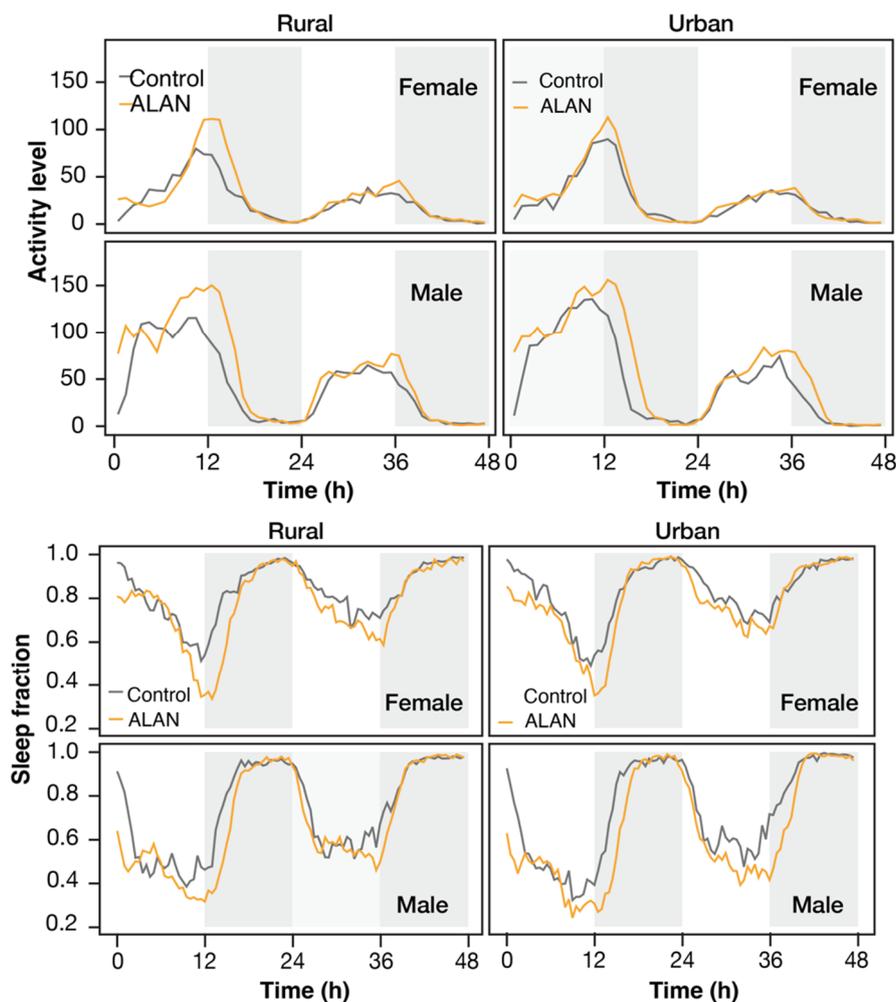


図10. 暗環境での48時間の活動量の変化と睡眠量の変化

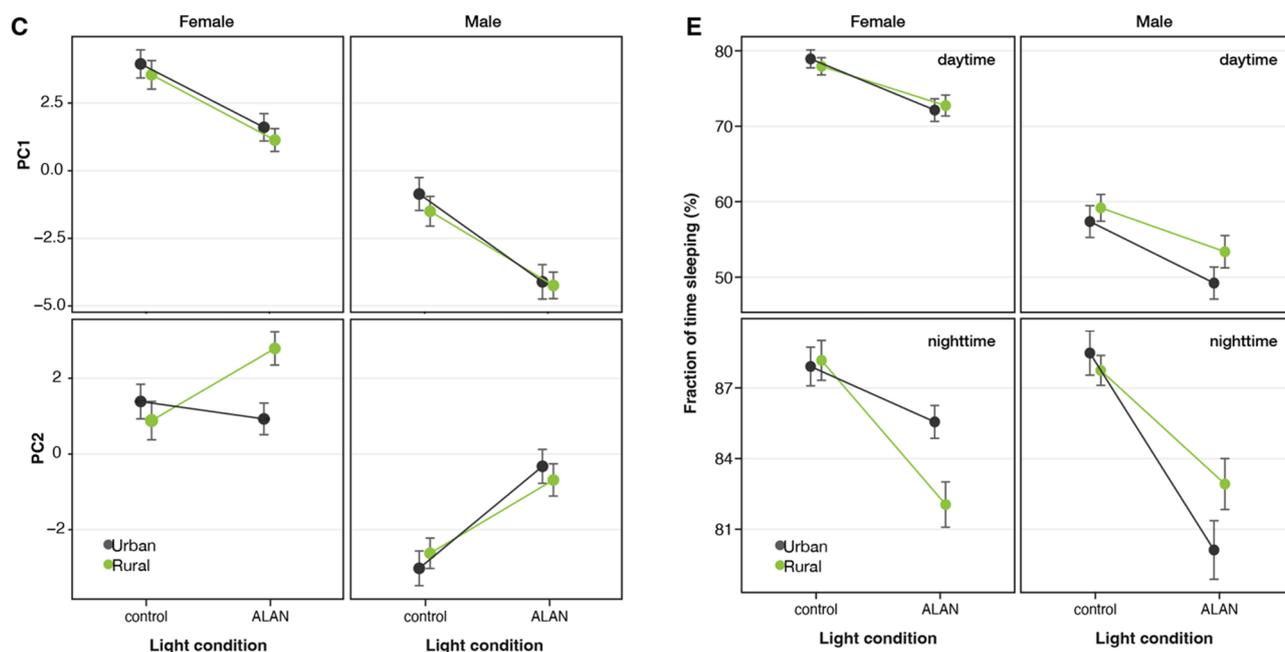


図11. 暗環境での24時間の活動パターンと睡眠パターン. 左の図のPC1は活動量の低さを、PC2は夜の時間帯の相対的な活動

量（夜行性の程度）を示している。右の図は、日中と夜間の時間帯における睡眠の割合を示している。

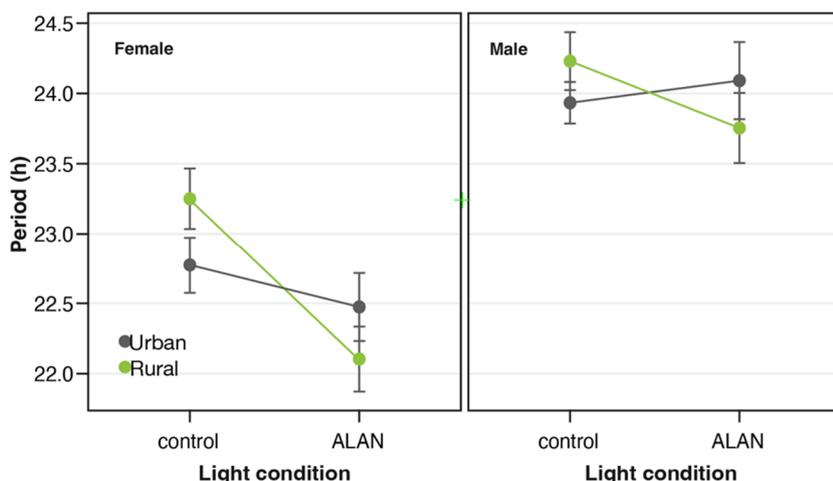


図12. 内在時計の周期に対する夜間照明の影響

### 夜間照明と繁殖活動や繁殖形質の関係

オスの求愛活性の指標として、雌雄の移動速度と雌雄の距離を測定したところ、夜間人工光によってオスの求愛活性が低下することが明らかになった（図13）。ただし、郊外個体では、求愛活性の減少が顕著であることもわかった。また、夜間人工光によって小卵多産傾向になることがわかった（図14）。また夜間人工光の影響の受けやすさが郊外系統のほうが高いこともわかった。

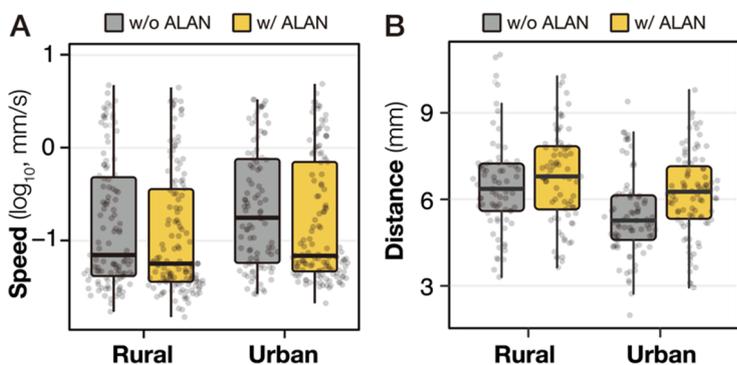


図13. 同居した雌雄の移動速度（左）と個体間距離（右）

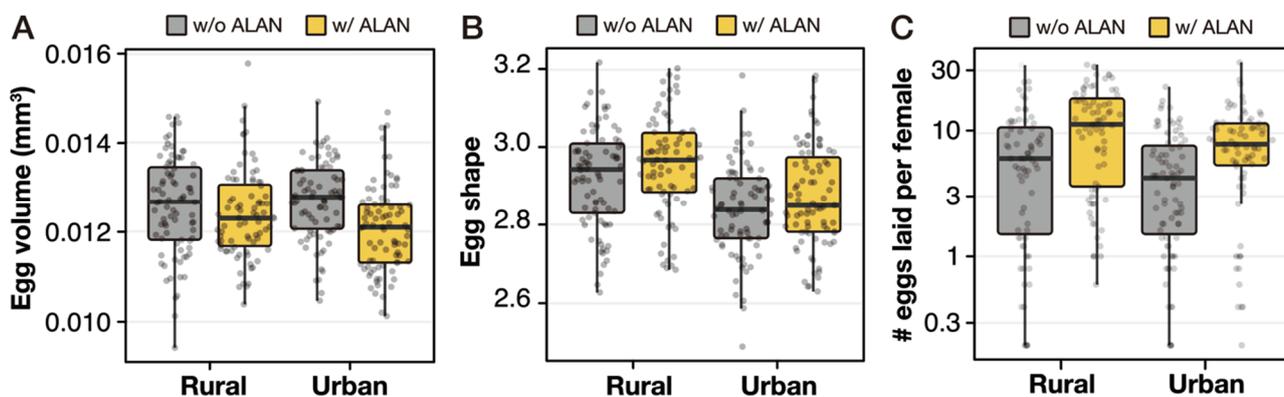


図14. 夜間人工光が卵サイズや卵形態、産卵数に与える影響。

### 夜間照明と遺伝子発現パターン

夜間照明に暴露して飼育した個体と夜間を完全な暗条件にして飼育した個体についてRNA-seq解析を実施したところ、夜間照明により遺伝子発現パターンが変化することが明らかになった（図15）。とくに、都市のメスにおいて遺伝子発現パターンの変化量が大きかった。また、75個程度の遺伝子は、都市と郊外の集団で夜間光に対する応答パターンに違いがあることがわかった（図16）。都市と郊外の集団で夜間光に対する応答パターンに違いのある遺伝子には概日リズムに関連した遺伝子が多く含まれていた（図17）。概日リズムの長さに関するLark遺伝子は、都市系統において夜間人工光環境化で高発現になっていた（図18）。

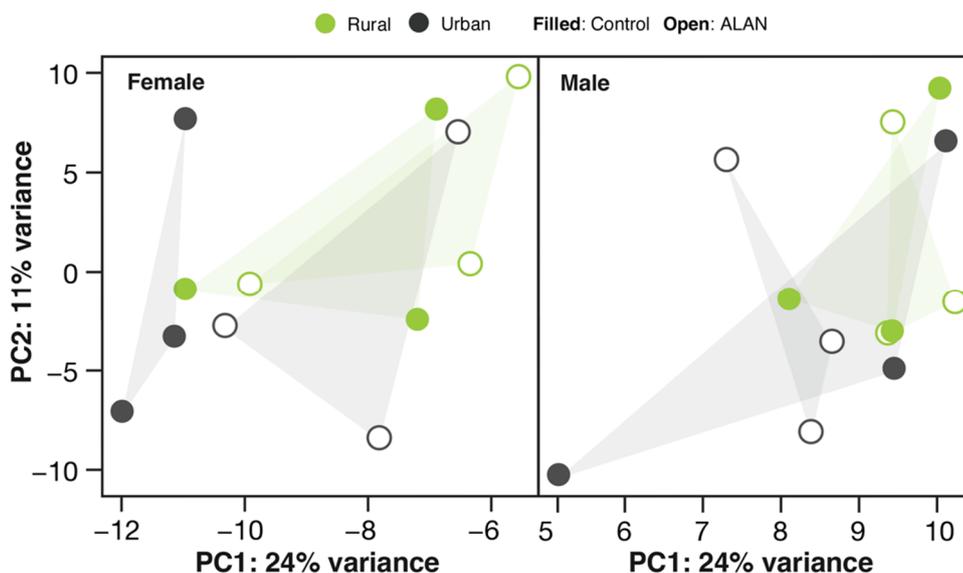


図15. 遺伝子発現プロファイルに対する夜間照明の影響。都市のメス個体においてもっとも顕著な遺伝子発現パターンの変化が認められた。

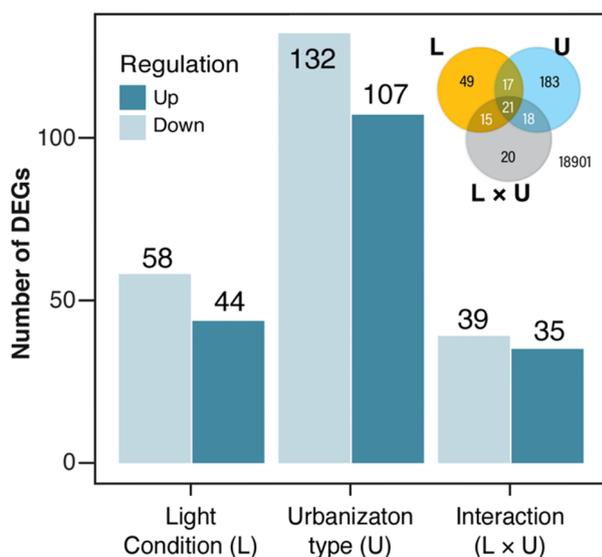


図16. 光条件か都市化度によって発現量が変わる遺伝子の数と、光条件による遺伝子発現に都市化度間で差のある遺伝子の数。

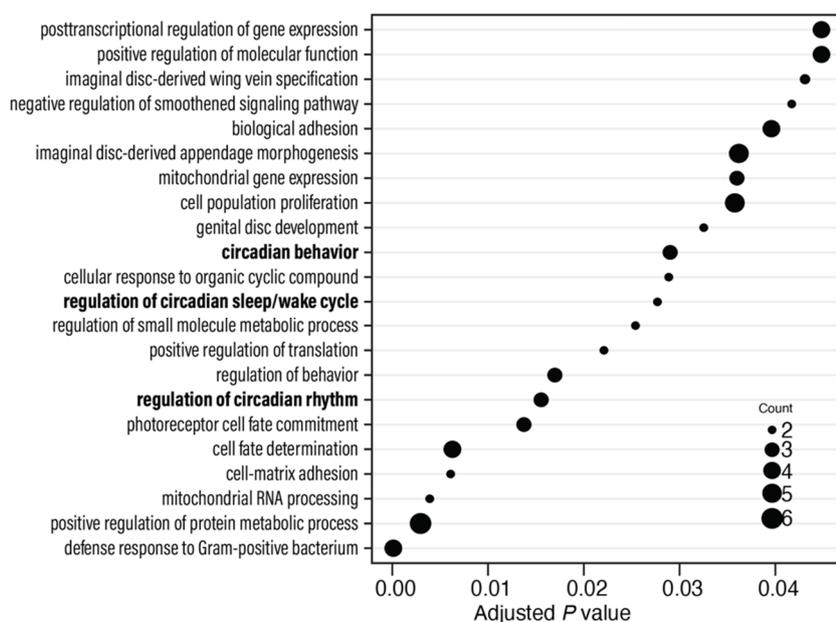


図17. Gene ontology解析の結果

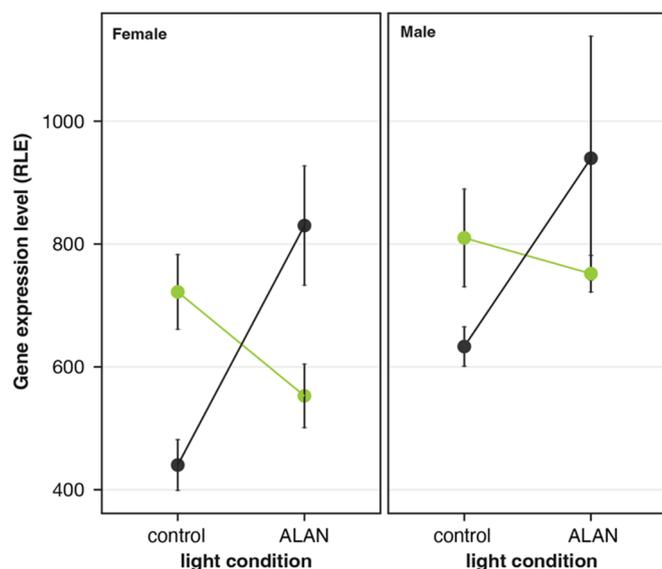
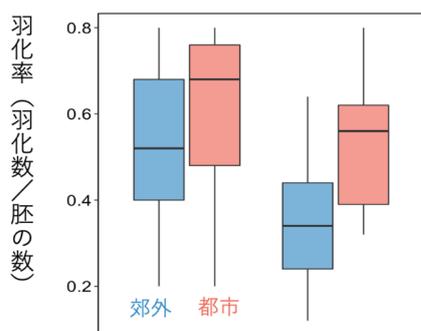


図18. Lark遺伝子の発現パターン

### 夜間照明と羽化率

夜間照明のある条件とない条件で幼虫を飼育し、卵から成虫までの生存率を比較したところ、都市と郊外の両方の集団において、夜間照明による生存率の低下が認められた（図19）。



都市/郊外 :  $P < 0.001$   
 夜間照明 :  $P = 0.001$   
 交互作用 :  $P = 0.10$

図19. 羽化率に対する夜間照明の影響

### 夜間照明と生存率の関係

郊外系統では、夜間光の有無によって生存率に差が認められなかったが、都市系統では夜間光のある条件ほど生存率が高くなっていった（図20）。このことは、都市個体は、夜間人工光に適応していることを示している。

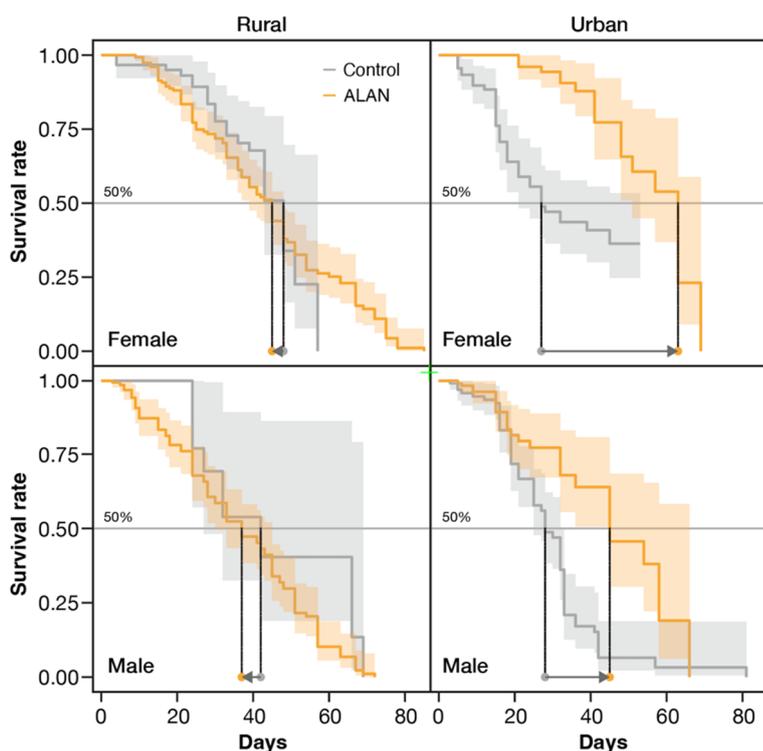


図20. 羽化率に対する夜間照明の影響

### 夜間照明と精子の形態

さまざまな波長の夜間光を与えた場合、都市集団の個体は体サイズと相対翅長が変化しづらかったが、郊外や半都市集団の個体はこれらの形質が大きく変動した（図21）。また、精子の頭部サイズについても、都市集団ほど夜間光の影響を受けづらく、郊外集団ほど受けやすいことがわかった。これらの結果は、都市集団では、さまざまな波長の人工光に対してロバストな発生や精子形成ができることを示唆している。さらに、光の種類によって昆虫類への影響が異なることを示している。影響が出やすい波長

は、形質や個体の由来によって異なることもわかった。

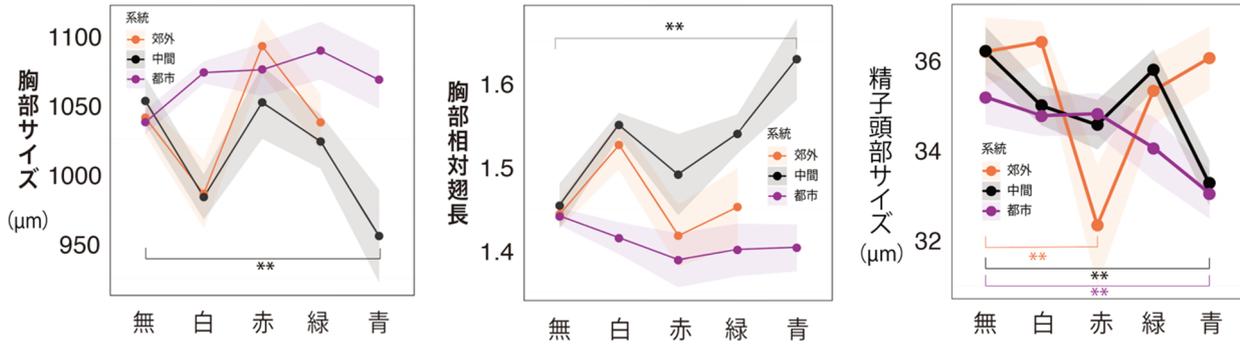


図21. 羽化率に対する夜間照明の影響

**騒音と生存率、発生速度**

オスでは音環境による生存率の違いが認められなかったが、メスでは郊外個体のみが騒音によって生存時間が短縮していた（図22）。都市システムでは、騒音によりむしろ生存率が向上する傾向が認められた。発育の日数は、雌雄ともに、騒音により短縮する傾向があり、さらに、都市化指数が小さい地点ほど短縮の傾向が強くなっていた（図23）。

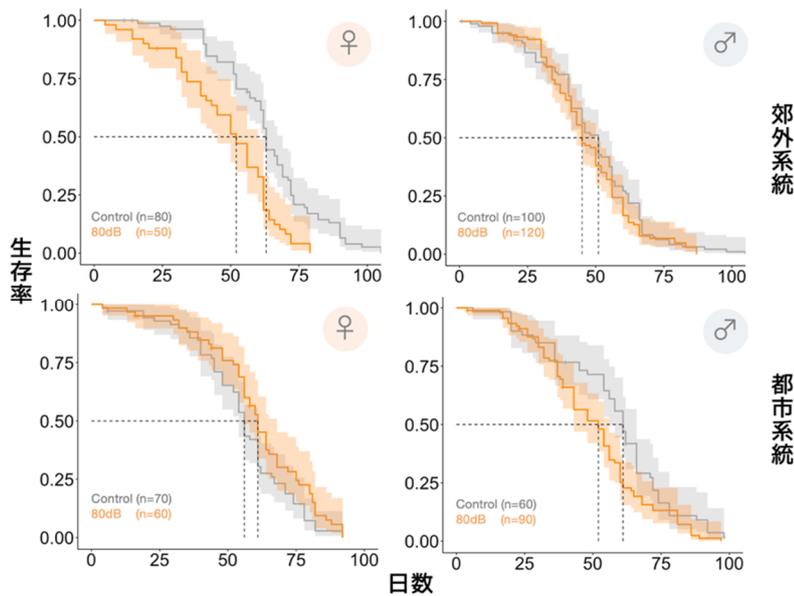


図22. 羽化率に対する夜間照明の影響

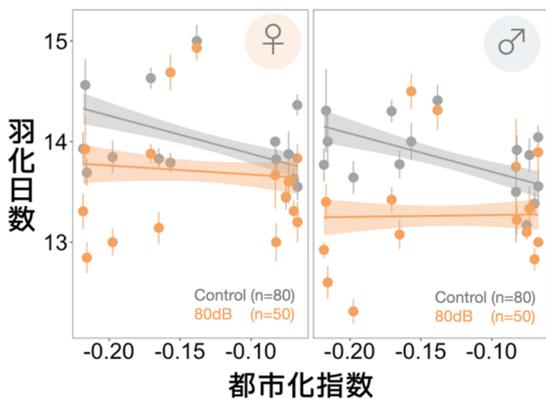


図23. 羽化率に対する夜間照明の影響

### 騒音と活動量

都市集団では、騒音により活動量が増すのに対して、郊外集団では、活動量が減少する傾向が認められた（図24）。このことは、都市と郊外で騒音に対する反応に差があることや、郊外の個体が騒音に脆弱である可能性を示している。

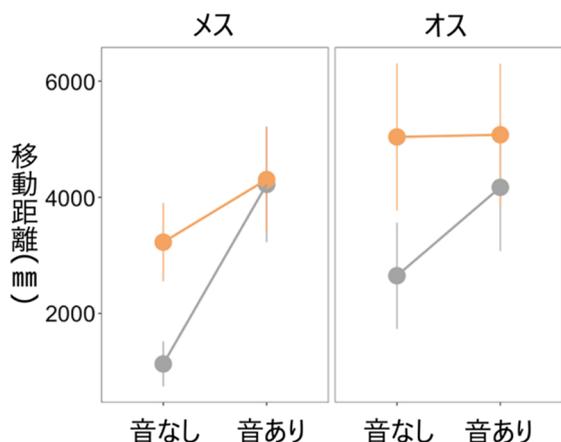


図24. 活動量に対する騒音の影響

### 騒音と遺伝子発現

騒音に暴露され個体は、都市系統の個体も郊外系統の個体も関係なく、同様の遺伝子発現パターンを示した（図25）。また、地点（都市or郊外）間で発現量が異なる遺伝子、騒音によって発現量が変化する遺伝子、さらに、騒音による発現量の変化が地点間で異なる遺伝子が多数検出された（図26）。

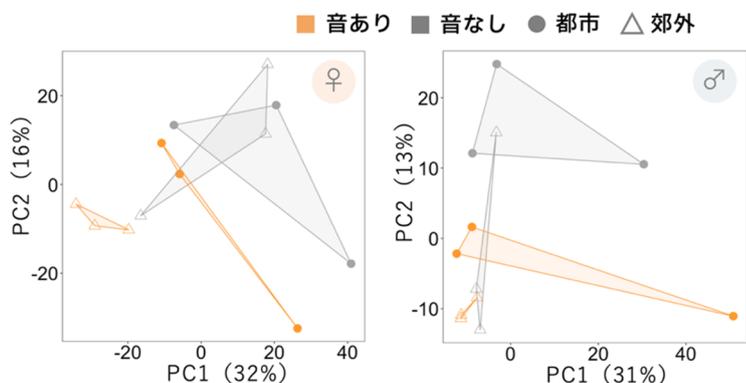


図25. 遺伝子発現パターン

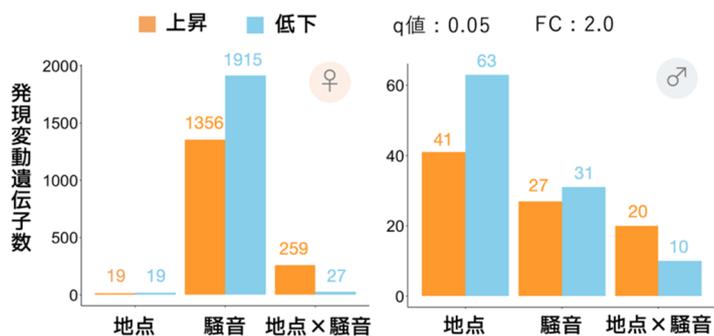


図26. 発現変動遺伝子の数。

6. 目標の達成状況と環境政策等への貢献

(1) 研究目標の達成状況

<全体の達成状況> . . . . . 2. 目標を上回る成果をあげた

「都市化による昆虫への遺伝的・エピ遺伝的影響と汚染的遺伝子流動の評価」

全体目標	全体の達成状況
<p>都市化に伴う温度上昇や光害、騒音などの環境変化（あるいは汚染）が昆虫類の繁殖形質や生活史形質についてどのような進化をもたらすかを明らかにするとともに、これらの汚染がエピ遺伝学的に各種形質や各遺伝子の化学修飾（メチル化）に与える影響をゲノムワイドに検出することで、昆虫類に対する都市化の影響を網羅的に明らかにする。さらに、都市の個体（特に都市に適応した個体）が郊外に再移入することによる汚染的な遺伝子流動の影響（都市化の二次被害）を定量する。具体的には、2種のショウジョウバエ類を対象に、それぞれの種について、3つの都市それぞれから16の地点（都市化勾配に沿ったトランセクトを2つ設置）でサンプリングを行ない、地点ごとに最低3の系統（2種合計300系統程度）を確立する。これらの系統を用いて、産地の都市化指数と各種形質の関係を調べることで都市勾配に沿った進化的な変化を検出するとともに、公害を模したさまざまな環境要因に曝露することで、これらの環境要因が昆虫類の形質、活動性、繁殖に与えるエピ遺伝的な影響を評価する。さらに、トランセクトごとに集団間の遺伝子流動を定量する。また、沿って形質の最適値と実現値のミスマッチを検出することで、都市から郊外への（汚染的）遺伝子流動が形質の最適化進化に与える負の影響を評価する。</p>	<p>本研究では、数十の個体群に関して、オウトウショウジョウバエの系統化を成功させた。これらの個体群はそれぞれ異なった都市化の程度の地点に位置しており、これらと比較することで、進化的な（遺伝的な）変化を検出することができる系統ライブラリーとなっている。これらの系統を用いて、高温、夜間人工光、騒音といった都市ストレスに暴露する実験を行なったところ、暴露によって行動活性や繁殖形質、生活史形質など、繁殖や生存に重要なさまざまな形質が統計的に有意に変化することを明らかにした。また、そのような都市ストレスの影響の受けやすさは、多くの場合、郊外系統よりも都市系統で小さくなっていった。このことは、都市系統では、都市ストレスに対する耐性を獲得している、あるいは都市環境に適応して進化していることを示唆している。トランスクリプトーム解析を行なって、遺伝子レベルからエピ遺伝学的変化を調べたところ、都市系統では、郊外系統よりも都市ストレスによって多くの遺伝子の発現量が変化していることが示唆された。これらの結果は、遺伝子の発現応答パターンを進化させることで、都市集団は都市ストレスの影響を緩和していることを示唆している。本研究により、都市ストレスの影響や都市における生物の進化の実態を明らかにすることができた。</p>

<【サブテーマ1】達成状況> . . . . . 1. 目標を大きく上回る成果をあげた

「都市化による昆虫への遺伝的・エピ遺伝的影響と汚染的遺伝子流動の評価」

サブテーマ1目標	サブテーマ1の達成状況
<p>全体目標と同様 (サブテーマが一つのため、省略)</p>	<p>全体目標と同様 (サブテーマが一つのため、省略)</p>

(2) 研究成果の学術的意義と環境政策等への貢献

<得られた研究成果の学術的意義>

急速な環境変化としての都市化に対して、生物な進化的な対抗をしているのかどうかは、以前、議論が続いている分野である。本研究は、行動や形態、繁殖形質など、さまざまな形質について、都市化と関連していると思われる進化を検出した。このことは、都市化における進化生態学的研究として大きな価値がある。なお、野外の個体を直接計測するのではなく、系統化し、一定環境下で高精度に表現型測定

をしている点も学術的意義が大きい。

また、都市化に関係する先行研究は、表現型レベルの解析がほとんどであったが、本研究では、遺伝子発現レベルの解析も行なった。このような解析は、特定の形質のみを測定することでは検出が難しいさまざまな形質に対する都市化ストレスの影響を検証するうえで有効であること示すことができた点でも大きな価値がある。

#### <環境政策等への貢献に関する成果>

近年、地球上のあらゆる地域で、都市部への人口集中（都市化）が起きており、さまざまな都市化問題が課題になっている。大気汚染や水質汚濁、土壌の汚染、騒音、振動、地盤の沈下、悪臭という典型7公害と呼ばれるような公害は、人類の健康や動植物に多大な影響を与えている。これらに加え、ヒートアイランド現象による高温化や、街灯などの人工光に起因する光害もまた、ヒトを含む動植物にさまざまな影響を与えている可能性がある。

約35億年前に地球上に生物が誕生してから現在までに、6度の大量絶滅が生じたという見方がある。1度目の大量絶滅はオルドビス紀、2度目はデボン紀、3度目はペルム紀、4度目は三畳紀に起きたものである。いずれの絶滅でも、地球上の生物の大半の種が絶滅している。5度目の大量絶滅は白亜紀に起きたものであり、隕石の衝突によって天変地異と急速な寒冷化が起きたことが原因であると考えられており、約76%の種が絶滅したと考えられている（Barnosky et al. 2011）。6度目の大量絶滅は現在である。IUCNのレッドリストには4万種以上が記載されており、すでに絶滅した種が902種、絶滅危惧種は42108種、準絶滅危惧種は8816種存在すると言われている（IUCN 2022）。イギリスの鱗翅目では、1970年から2010年までの40年間で個体数が35%も減少しており、鱗翅目を除くすべての無脊椎動物では個体数がより減少している（Dirzo et al. 2014）。また、ドイツの自然保護区では、1989年から2016年の27年間で飛翔性の昆虫が76%~82%も減少したと推定されている（Hallmann et al. 2017）。昆虫の絶滅速度は動物の中でも顕著であると考えられており、その主要因として、都市化やそれに関連した農地化や汚染などが挙げられている。

東京は、地球上でもっとも大きな都市の一つである。都市圏人口が1,000万人以上を超えるメガシティの一つにもなっている。このような地球を代表する都市では、都市化に関連したさまざまな環境変化が同時多発的に生じている。このような環境変化（公害/都市ストレス）は、そこに生きる生物の生存は繁殖に影響を与えると考えられている。

本研究は、表現型レベルや遺伝子レベルから、加えて、複数の都市ストレスに着目し、昆虫類への影響を明らかにしてきた。これらの成果は、生物と共生可能な都市や里山の作っていくうえで欠かせない情報となる。本研究で行なったような実験をさまざまな強さ、波長特性の光について行なったりさまざまな音圧、周波数の音について行なうことで、より具体的にわれわれ人類が使用を避けるべき光の種類や、漏出すべきでない音の種類を特定できるはずである。本研究は、それらの研究の足がかりとなるものである。

#### <引用文献>

**Kawamura M, Jayamanna S, Tsujiko Y & Sugiyama A. 1998.** COMPARISON OF URBANIZATION OF FOUR ASIAN CITIES USING SATELLITE DATA. *Journal of Environmental System and Engineering*, 97-105.

## 7. 研究成果の発表状況

## (1) 成果の件数

成果の種別	件数
査読付き論文：	1
査読付き論文に準ずる成果発表（人文・社会科学分野）：	0
その他誌上発表（査読なし）：	0
口頭発表（国際学会等・査読付き）：	0
口頭発表（学会等・査読なし）：	2
知的財産権：	0
「国民との科学・技術対話」の実施：	0
マスコミ等への公表・報道等：	6
研究成果による受賞：	0
その他の成果発表：	0

## (2) 誌上発表

## &lt; 査読付き論文 &gt;

成果番号	【サブテーマ1】の査読付き論文
1	Sato, A and Y. Takahashi (2022) Responses in thermal tolerance and daily activity rhythm to urban stress in <i>Drosophila suzukii</i> . <i>Ecology and Evolution</i> , 12: e9616.

## &lt; 査読付き論文に準ずる成果発表（人文・社会科学分野） &gt;

成果番号	【サブテーマ1】の査読付き論文に準ずる成果発表（人文・社会科学分野）
	該当しない

## ＜その他誌上発表（査読なし）＞

成果 番号	【サブテーマ1】のその他誌上発表（査読なし）
	該当なし

## (3) 口頭発表

## ＜口頭発表（国際学会等・査読付き）＞

成果 番号	【サブテーマ1】の口頭発表（国際学会等・査読付き）
	該当なし

## ＜口頭発表（学会等・査読なし）＞

成果 番号	【サブテーマ1】の口頭発表（学会等・査読なし）
2	佐藤あやめ・高橋佑磨. ショウジョウバエの行動や繁殖に対する夜間照明の影響と都市集団における対抗進化. 第69回日本生態学会大会, 福岡 (2022年3月)
3	竹中夏海・高橋佑磨. 夜間人工光に対するショウジョウバエのエピ遺伝的応答と都市適応. 日本生態学会第71回全国大会, 横浜 (2024年3月)

## (4) 知的財産権

成果 番号	発明者	出願者	名称	出願以降 の番号	出願 年月日
	特に記載すべき事項はない。				

## (5) 「国民との科学・技術対話」の実施

成果 番号	実施 年度	【サブテーマ1】の実施状況
		特に記載すべき事項はない。

## (6) マスメディア等への公表・報道等

成果 番号	【サブテーマ1】のメディア報道等
4	2022年4月2日 日本経済新聞 朝刊 『都市は生物進化の実験場——夜型のハエ、横に広がる雑草』
5	2022年12月14日 Mapionニュース 『都市のハエは夜間光などの環境ストレスに適応して進化していた！ 千葉大』
6	2022年12月13日 OPTRONICS Online 『ハエが夜型になった？光害への適応進化があらわに！』

7	2022年12月13日 OPTRONICS Online 『千葉大，都市化による環境変化の昆虫への影響を評価』
8	2023年2月19日 毎日新聞「都会のハエは早起き？ 都市環境がもたらす昆虫の「進化」
9	2023年2月25日 東京新聞「都市部のショウジョウバエ、街明かりで夜型に 環境に合わせて進化<フロンティア発>」

## (7) 研究成果による受賞

成果番号	【サブテーマ1】の研究成果による受賞
	2023年11月個体群生態学会 最優秀ポスター発表賞

## (8) その他の成果発表

成果番号	実施年度	【サブテーマ1】の実施状況
		特に記載すべき事項はない。

## 8. 国際共同研究等の状況

<国際共同研究等の概要>

特に記載すべき事項はない。

<相手機関・国・地域名>

機関名	国・地域名（本部所在地等）

## 9. 研究者略歴

<研究代表者略歴>

代表者氏名	略歴（学歴、学位、経歴、現職、研究テーマ等）
高橋佑磨	筑波大学大学院生命環境科学研究科 博士（理学） 日本学術振興会特別研究員（PD）、東北大学学際科学フロンティア研究所助教、 千葉大学大学院理学研究院特任助教を経て、 現在、千葉大学大学院理学研究院 准教授 専門は進化生態学

## Abstract

[Research Title]

Genetic and epigenetic changes against urbanization and gene flow swamping local adaptation

Project Period (FY):	2021-2023
Principal Investigator:	Yuma Takahashi
(PI ORCID):	ORCID 0000-0003-1490-7837
Principal Institution:	Graduate School of Science, Chiba University 1-33, Yayoi, Inage, Chiba-city, Chiba, JAPAN Tel: +81-43-290-3965 E-mail: takahashi.yum@gmail.com
Cooperated by:	
Keywords:	Urbanization, insect, urban stress, gene expression, phenotypic evolution

[Abstract]

Urban areas on Earth are expanding year by year, directly impacting population size and biodiversity through habitat loss and fragmentation. Urbanization is recognized as a significant contributor to the global decline or extinction of insect species. Conversely, urbanization may indirectly decrease populations by inducing various non-adaptive phenotypic changes via rising temperatures, light pollution, and noise pollution. However, certain species capable of urban adaptation may experience population growth within cities. In this study, we aimed to identify the genetic (evolutionary) and epigenetic alterations induced by urban stressors, including high temperatures, light pollution, and noise pollution in *Drosophila suzukii*.

Initially, we established isofemale lines using females collected from urban and rural areas, primarily in the Kanto region. Larvae and adults from these lines were subjected to high temperatures, light pollution, and noise stress to assess their effects on phenotype and gene expression changes. Our findings reveal that these stressors significantly impact daily activity rhythms, survival rates, reproductive traits, and body size. Notably, individuals from rural strains exhibited greater susceptibility to urban stresses, suggesting that urban populations have developed resistance mechanisms. Additionally, when comparing gene expression patterns under light pollution stress, individuals from urban strains displayed distinct alterations compared to those from rural strains. This indicates that urban individuals enhance stress resistance through modulation of gene expression response to urban stress. These results are anticipated to provide foundational insights for predicting the impacts of human activities and guiding conservation efforts.

This research was funded by the Environment Research and Technology Development Fund (ERTDF).