

## 学位論文の要旨

### Abstract of Thesis

研究科 School	自然科学研究科
専攻 Division	地球生命物質科学専攻
学生番号 Student No.	05429205
氏名 Name	松家 未来

学位論文題目 Title of Thesis (学位論文題目が英語の場合は和訳を付記)

Molecular mechanisms of nutrient-dependent regulation of fecundity in *Drosophila* males  
オスのショウジョウバエにおける栄養環境依存的な妊性制御の分子機構

学位論文の要旨 Abstract of Thesis

キイロショウジョウバエ (以下, ショウジョウバエ) のオス生殖器官・附属腺は, ヒトの精囊や前立腺に相当する器官である。附属腺細胞は2種類の上皮細胞 (~1,000 個の主細胞と ~60 個の第二細胞) から構成され, 精液中に 83 種類の附属腺タンパク質 (Accessory gland proteins: Acps) を分泌する。交尾によってメス生殖器官内に移行した Acps は, メス交尾後応答 (産卵の促進, 交尾拒否行動など) を引き起こすことで, 交尾オスの子孫を効率よく残すように作用している。先行研究においてホメオドメイン型転写制御因子 Defective proventriculus (Dve) が, 附属腺上皮細胞の機能分化 (二核化による分泌能の向上) および第二細胞の生存 (細胞死の抑制) に必要であることが明らかになっている。

本研究では, 第二細胞による栄養環境依存的な妊性の制御について解析を行った。

#### **(i) 第二細胞は, 生育時の栄養環境に可塑的に応答することで妊性を制御する**

さまざまな生物において, 栄養環境がメスの妊性に大きく影響することが知られている。一方, オスにおいても同様の制御機構が存在するかどうかは不明であった。ショウジョウバエのオスが多くの子孫を残すためには, 多くの Acps を分泌できる大きな附属腺が必要となるが, 多量の Acps を作り続けるには多くのエネルギーを消費する。このため, 発生期の栄養環境が附属腺の機能 (オスの妊性) を変化させる可能性について検討を行った。その結果, 低栄養環境で生育した個体は体長の縮小と共に附属腺の委縮および一部の第二細胞の顕著な縮小を示した。これらの結果から, 栄養環境によって附属腺の細胞形態が変化することが明らかとなった。また, この顕著に縮小した第二細胞において Dve の発現低下が見られたことから, 生育時の栄養環境の感知に Dve が関わることを考えられた。

次に, 栄養環境の変化が附属腺細胞に及ぼす影響に関してより詳細な解析を行うために, 栄養シグナル経路の構成因子であるインスリン受容体 (InR) の機能獲得型タンパク質 (InR[Act]) と優性阻害型タンパク質 (InR[DN]), および TOR (Target of rapamycin) の優性阻害型タンパク質 (TOR[DN]) の強制発現を行った。発現誘導に際し, 蛹期初期 (困蛹殻形成後 24 時間付近) から附属腺で発現が上昇する *dve-GAL4[30A]* 系統 (*dG30A*) を用いた。栄養シグナル活性化個体 (*dG30A>InR[Act]*) では, 第二細胞が肥大するとともに細胞数も顕著に増加し, 妊性の上昇 (産卵数の上昇, 交尾拒否行動の持続) が確認された。一方で, 栄養シグナル阻害個体 (*dG30A>InR[DN]*, *dG30A>TOR[DN]*) においては, 第二細胞の顕著な縮小および細胞数の減少が確認された。第二細胞の成熟 (液胞の形成) には転写制御因子 Abdominal-B (Abd-B) が必要であり, 第二細胞の Dve 機能低下は Abd-B 発現を低下させ, 縮小した未熟な第二細胞になる。同じ表現型を示す栄養シグナル阻害個体 (*dG30A>TOR[DN]*) では, Abd-B 発現低下とともに妊性の低下 (交尾拒否率の低下) が確認された。

これらの結果から, 第二細胞は生育時における周囲の栄養環境を Dve 依存的に感知して, 細胞数や細胞形

態、遺伝子発現を変化させることで妊性を制御していることが明らかになった。また、蛹期の栄養シグナル阻害個体 ( $dG30A>InR[DN]$ ,  $dG30A>TOR[DN]$ ) を羽化後に高栄養条件下で飼育した実験から、第二細胞の栄養環境への応答は可塑的であり、羽化後の栄養状態に合わせて妊性を最適化することが可能であることも明らかになった。

### **(ii) 第二細胞の栄養環境への応答と妊性制御はエクダイソンシグナルによって仲介される**

哺乳動物のステロイドホルモンは代謝や妊性などの多様な生理機能に関わる。昆虫ステロイドホルモンの一つであるエクジステロイド (エクダイソンなど) は、脱皮や変態を促す脱皮ホルモンとして作用するが、妊性の制御にも関わることが分かっている。例えば、ショウジョウバエのメスにおける卵形成やオスの附属腺の発達にエクダイソンシグナルが必要である。体内のエクダイソン濃度は脱皮・変態の直前に一過的に大きく上昇するが、蛹期 (囲蛹殻形成後 36 時間頃) に最も高い濃度ピークを示す。ショウジョウバエの発生過程 (幼虫期) における体の成長やエクダイソン産生のための栄養摂取とエクダイソン分泌・活性化による脱皮・変態の誘導が協調して行われることで、全身の成長・発生の制御が適切なタイミングで行われている。このため、エクダイソンシグナルが栄養環境依存的な附属腺の分化・成熟に影響を与える可能性について検討を行った。

エクダイソン受容体 (Ecdysone receptor; EcR) のアイソフォーム EcR.A および EcR.B1 の発現は、蛹期の主細胞と第二細胞、更には成虫期の第二細胞で高い発現を示した。また、EcR.A および EcR.B1 の発現パターンが Dve や Abd-B と非常に類似していることから、エクダイソンシグナルが第二細胞の分化に影響を与える可能性が示唆された。そこで、 $dG30A$  を用いて、蛹期の附属腺で EcR の機能阻害 (優性阻害型タンパク質 EcR.A[DN] および EcR.B1[DN] の強制発現) および転写制御因子 Ftz-F1 の RNA 干渉法による発現抑制を誘導したところ、第二細胞の顕著な萎縮と妊性低下が確認された。

次に、蛹期中期から第二細胞で特異的に GAL4 を発現する系統 (*NP3612*) を用いて、第二細胞特異的な EcR の機能阻害を誘導した結果、Dve の発現は低下しない一方で Abd-B の顕著な発現低下が確認された。また、第二細胞特異的な TOR 阻害条件では、Dve の発現低下が見られない一方で EcR.A, EcR.B1 および Abd-B の発現低下が確認された。これらの結果から、蛹期の栄養シグナルが EcR 発現を制御し、エクダイソンシグナルに依存して第二細胞の成熟 (Abd-B 発現) が誘導されることが示された。

最後に、前蛹期附属腺におけるエクダイソンシグナルの効果を検討するために、生殖器原基の附属腺予定領域および蛹期の附属腺全体で GAL4 を発現する系統 (*bleathless-Gal4*) を用いて EcR の機能阻害および栄養シグナル経路の阻害を行った。前蛹期の EcR 機能阻害では、Dve の発現は低下せず Abd-B の発現低下のみが確認された。一方で、前蛹期から栄養シグナル経路を阻害した条件では、Dve の顕著な発現低下と EcR.A, EcR.B1, Abd-B の発現低下が確認された。通常の栄養環境下において Dve 活性が低下した場合にも EcR.A, EcR.B1, Abd-B の発現低下を引き起こした。また、EcR の発現は Dve 発現に先行して起こることから、以下のような制御モデルが考えられる。

(1) 十分な栄養環境は、適切なタイミングで幼虫の成長を止めるとともに蛹期のエクダイソンパルスに応答可能な EcR の発現を誘導して前蛹形成を行う。(2) 栄養源がある程度消費された蛹期初期においては、栄養環境に応じた Dve 発現を誘導し、第二細胞の数を規定する。(3) 第二細胞における Dve 依存的な EcR 発現の維持によって適切な分化誘導経路 (Abd-B 発現) を活性化する。

栄養環境に依存した妊性の制御が、このように多段階で行われる意義としては、経時変化とともに低下する栄養源を正確に感知するために、複数のチェックポイントを設定しているものと考えられる。本研究により、オス生殖器官に存在する少数の細胞群が、栄養シグナルとエクダイソンシグナルの協調的作用によって細胞数や細胞形態を可塑的に変化させることで、生育環境に応じた最適な妊性に導くという一連の制御機構が明らかとなった。