

審査の結果の要旨

氏名 竹島 実加

本論文の題名は「カイコ前胸腺におけるステロール量の発育変動ならびに取り込み関連因子の探索」で、第1章が序論、第2章および第3章が本論、さらに総括、実験材料および方法、参考文献、謝辞で構成されている。

本編の第1章はカイコ前胸腺のステロール組成の発育変動と組織間比較について述べられている。まず、前胸腺のステロール組成を明らかにするためにLC-MS/MSを用いて、カイコ終齢幼虫の前胸腺のステロール組成（ステロールの種類および量）を測定した。LC-MS/MSの測定では7種のステロール、 β -シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール（以上餌由来のステロール）、デスモステロール（コレステロールの前駆体）、コレステロール、エルゴステロールおよび7-デヒドロコレステロール（7dC：エクジソン生合成中間体）を測定した。さらに、血液については上記7種のステロールに加えてエクジソンおよび20-ヒドロキシエクジソン（20E）を測定した。

前胸腺からはコレステロールとエクジソン生合成の中間体である7dCが検出された。また、餌中の植物ステロールのうち β -シトステロールおよびカンペステロールが検出され、スチグマステロールは検出されなかった。1対当たりのコレステロール量は終齢4日目から上昇し始め、蛹脱皮後まで上昇を続けた。前胸腺中の7dC含有量も終齢4日目から上昇した。7dCは血液中からも検出され、その濃度は、ワンダリング期に上昇した。7dCは前胸腺で生合成されて血液中に分泌されたと考えられた。また、エクジソンおよび20Eは組織中には含まれず血液中でのみ検出され、その濃度は終齢後半から増加した。前胸腺1対当たりのコレステロール量は終齢4日目から上昇したことから、前胸腺ではエクジソン生合成に向けてコレステロール量の取り込み量が増加したと考えられた。一方、前胸腺中の β -シトステロールおよびカンペステロール量はコレステロールおよび7dCとは異なる変動を示していたことから、前胸腺ではステロールごとに取り込みや維持機構が異なる可能性が考えられた。

前胸腺や血液と他の組織のステロール量の発育変動を比較するため、中腸、脂肪体、脳、マルピーギ管のステロールをLC-MS/MSで測定した。組織間のステロール組成の特徴を明らかにするため、各組織のタンパク質当たりのステロール含有量を変数として主成分分析を行った。各組織はスコアプロット上で組織ごとに集団を形成したことから、各組織のステロール組成が明確に異なり、組織ごとにステロール組成を特徴づけるステロールも異なることが明らかになった。前胸腺は他の組織とは離れた位置にプロットされていたため、前胸腺は他の組織とは大きく異なるステロール組成であることが示された。また、ローディングプロットからは、前胸腺のステロール組成の特徴はコレステロールと7dCが存在する点にあることが明らかになった。さらに、コレステロールとその他のステロールの比率について、組織中に含まれるステロールの総量のうち、コレステロールが占める割合を算出して比較したところ、前胸腺は脂肪体、中腸、およびマルピーギ管と比べるとコレステロールの含有率が高い組織であることが明らかになった。発育に伴って組織中のステロール組成も変化すると予想したが、前胸腺はスコアプロット上で同様の位置にプロットされ、発育ステージによらずステロール組成が一定であること

が明らかになった。

第 2 章は前胸腺におけるステロール取り込み関連因子の探索結果が述べられている。Scavenger Receptor class B type1 (SR-B1) を候補分子と考え、カイコゲノム上に存在する 15 遺伝子について前胸腺で発現している *sr-b1* を探索したところ、2 遺伝子が発現していることを見出した。これら 2 遺伝子の機能解析をショウジョウバエ胚由来の S2 細胞を用いて行ったところ、いずれの遺伝子を発現させた場合も細胞中のコレステロール量は増加しなかった。その一方で、そのうちのひとつが β -シトステロールおよびカンペステロールの取り込みを促進した。また、この分子はスチグマステロールの取り込みは促進しなかった。前胸腺中からはスチグマステロールが検出されず、 β -シトステロールおよびカンペステロールが検出されていることから、この分子が前胸腺の植物ステロールの取り込みに関わることが示唆された。

なお、本論文の一部は共同研究による実験結果も含まれているが、いずれも論文提出者が主体となって行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上、本論文は、カイコ前胸腺および各組織におけるステロール量の発育変動ならびに植物ステロールの取り込みに関わる候補分子を明らかにしたもので、よって本論文は博士（生命科学）の学位請求論文として合格と認められる。

以上 1997 字