

【要旨】

修了年月:2017年3月修了

専攻:先端生命科学専攻 分子認識化学分野

氏名:竹島実加

学籍番号:47-156333

論文題目:昆虫におけるステロイド動態とエクジソン産生器官での取り込み機構の解析

キーワード:コレステロール、前胸腺、ステロイド特性、主成分分析、リポフォリン

指導教員氏名:片岡宏誌 教授

昆虫におけるステロイド動態とエクジソン産生器官での取り込み機構の解析

学籍番号：47-156333 分子認識化学分野 竹島 実加

指導教員：片岡 宏誌 教授

<序論>

コレステロールは、細胞膜の構成成分やステロイドホルモンの原料として動物にとって必要不可欠な物質である。しかし昆虫は、生体内でコレステロールの *de novo* 生合成経路を失っているため、植食性昆虫は食餌に含まれる植物ステロールを体内で変換することで得ている。コレステロールは、昆虫のリポタンパク質であるリポフォリンを介して各組織に分配され、前胸腺は脱皮ホルモンであるエクジソン生合成のためにコレステロールを多く取り込む必要があると考えられる。しかし、前胸腺におけるコレステロール取り込みの分子機構は明らかになっていない。そこで本研究では、カイコを実験材料に、食餌、血液、組織のステロイドの量を測定し、組織ごとのステロイドの動態を詳細に解析した。さらに前胸腺で発現するリポフォリンの新規受容体を探索し、前胸腺へのコレステロール供給機構を明らかにすることを試みた。

<結果及び考察>

前胸腺のエクジソン生合成活性とコレステロールの時期的変化

前胸腺では、コレステロールを原料にエクジソンが生合成される。そこで、前胸腺のエクジソン生合成活性が高い時期を明らかにするために、カイコ 5 齢幼虫の血液中のエクジステロイド濃度を測定した。また、エクジステロイド中間体である 7-デヒドロコレステロール (7dC) についても測定した。その結果、血液中のエクジステロイド濃度はワンダリング期に上昇していた (図 1A)。一方、前胸腺中の 7dC 量は 5 齢 4 日目から上昇した。7dC の増加時期は、前胸腺 1 対あたりのコレステロール総量の増加時期とほぼ一致し、ワンダリング期のエクジソン生合成に向けてコレステロールの取り込み量が増加したと考えられる (図 1B)。

組織間のステロイドの取り込み動態の比較

カイコの組織はその機能に応じて必要なコレステロールの量が異なると考えられる。そこで、中腸、前胸腺、脳、脂肪体、マルピーギ管のコレステロール量を測定し、単位タンパク質量当たりのコレステロール量を比較したところ、その量は脳、前胸腺で高く、中腸、マルピーギ管、脂肪体は同程度であった。また、経時的なコレステロールの変動パターンは組織ごとに異なった (図 2)。前胸腺及び脳の変動パターンは発育ステージに関わらず一定であった。また、血液、中腸、脂肪体及びマルピーギ管のコレステロール量はワンダリング期に上昇した。よって、組織ごとにコレステロールの取り込み量及び取り込みの高い時期が異なることが明らかとなった。さらに、各組織について含有ステロイド量の測定結果をもとに、主成分分析を行って類似性の検討をした。

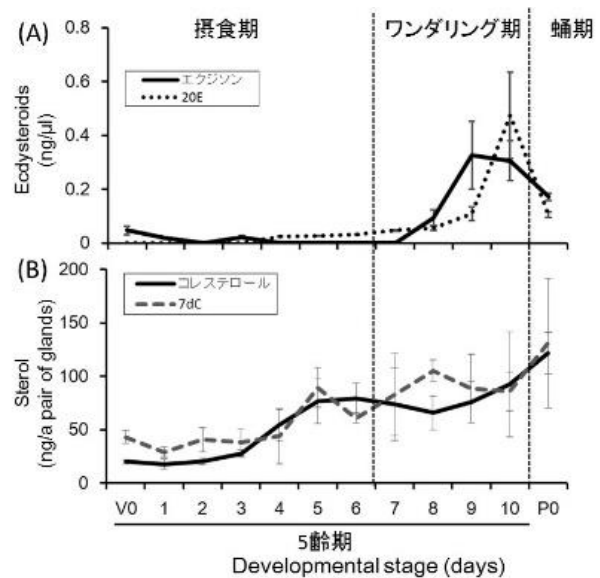


図 1 (A) カイコ 5 齢幼虫血液中のエクジソン及び 20E 濃度の変動。(B) カイコ 5 齢幼虫前胸腺中のコレステロール量の変動。

その結果、コレステロール、7dC 及び植物ステロールであるスチグマステロールがステロイド属性を分ける指標であり、发育ステージの変化ではなく組織ごとにステロイドの属性ごとに分類されることが判明した。よって、組織ごとにステロイドの取り込み・維持機構が異なることが示唆された。

カイコ前胸腺におけるリポフォリンの受容体の探索

コレステロール取り込み関連分子としてリポフォリンの受容体を探索した。Scavenger receptor class B type1 (SCRB) に着目し、ワンドリング期の前胸腺で発現している SCRB の探索を行った。その結果、前胸腺では SCRB_3 と SCRB_12 が発現していることを見いだした (図 3A)。さらに、この 2 遺伝子について、摂食期とワンドリング期で発現量の比較を行ったところ、いずれもワンドリング期で発現量が顕著に増加したため、前胸腺における SCRB_3 と SCRB_12 はコレステロール取り込みに関わると期待された (図 3B)。このうち、SCRB_12 について、カイコ卵巣由来の培養細胞 BmN を用いて検証することにした。BmN に SCRB_12 を一過的に発現させ、カイコ血液から精製したリポフォリンを添加し、細胞内のコレステロール蓄積量の変化を解析することで SCRB_12 の機能検証をしたところ、細胞内のコレステロール量が有意に増加した。このことから、SCRB_12 はリポフォリンからコレステロールを取り込む際に必要な分子であることが示唆された。

<総括>

本論文では、カイコ体内のステロイドの動態と、エクジソン生合成器官である前胸腺での取り込み機構について解析した。その結果、前胸腺がコレステロールを必要とする時期は摂食期の 5 齢 4 日目以降であることを明らかにした。ワンドリング期であることを明らかにした。また、組織間のステロイド量の多変量解析により、組織ごとにステロイドの取り込み・維持機構が異なることを示した。リポフォリンの新規受容体候補として SCRB の発現比較を行ったところ、SCRB_3 及び 12 を見出した。SCRB_12 の機能解析の結果、SCRB_12 はコレステロール取り込み機能を持つ受容体であることが示された。今後は、SCRB_3 の機能についても検証し前胸腺でのコレステロール取り込み機構の解明を目指す。

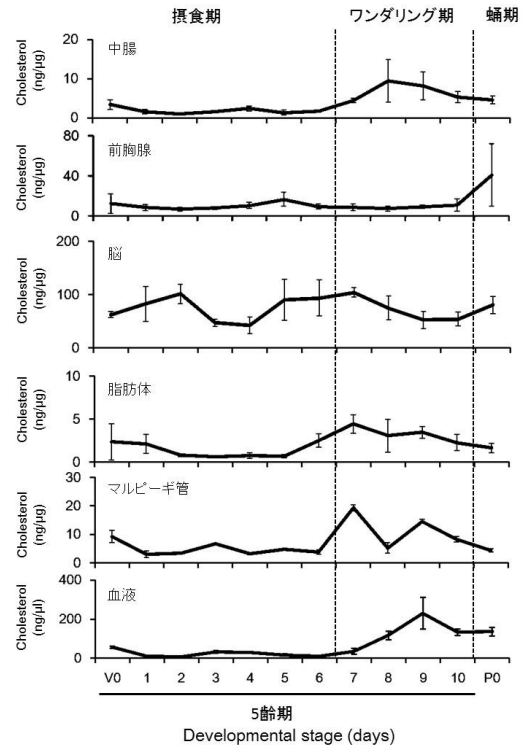


図 2 カイコ 5 齢幼虫の中腸、前胸腺、脳、脂肪体、マルピーギ管及び血液におけるコレステロール量の変動。

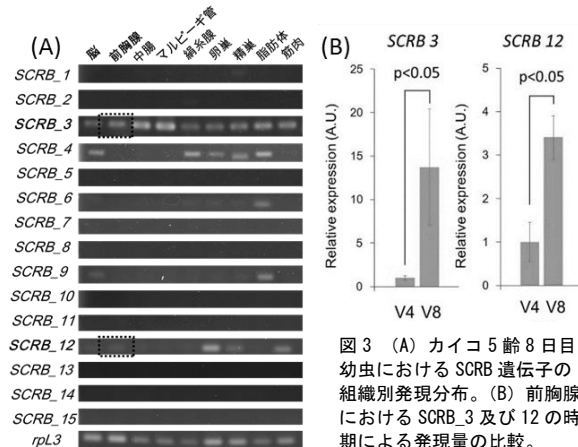


図 3 (A) カイコ 5 齢 8 日目幼虫における SCRB 遺伝子の組織別発現分布。(B) 前胸腺における SCRB_3 及び 12 の時期による発現量の比較。