

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 西川 毅

生物の発生においては、組織の構築だけでなく、不要組織の崩壊や排除、細胞死も起きており、後者の過程も発生における形態形成や器官の成熟に不可欠である。様々な生物において、マクロファージが不要組織の崩壊や死細胞の排除に重要な役割を果たしていることが示唆されてきたが、その分子機構はよくわかっていない。

完全変態昆虫の変態期には、幼虫組織である脂肪体の崩壊が見られる。センチクバエを用いた解析から、その崩壊は、昆虫のマクロファージである蛹体液細胞により引き起こされることがわかっている。幼虫体液細胞が脂肪体を崩壊させることはないので、体液細胞は変態期に質的に変化すると考えられた。その後、幼虫体液細胞と比較して、蛹体液細胞で特異的に発現する膜蛋白として p120 が同定されたが、p120 の生体内における機能は不明であった。

本論文の著者は、p120 の機能を知る目的で、センチクバエにおいて二本鎖 RNA による RNA 干渉 (RNAi) により、p120 の発現の抑制を試み、蛹体液細胞の p120 の発現を特異的に抑制した個体を作成した。そして、その個体を用いた解析から、p120 がスカベンジャー受容体であること、また、脂肪体崩壊に関わるプロテアーゼであるカテプシン B の発現を転写後制御する可能性を示した。

この論文は、研究の背景を解説した序章を含み、計 5 章より構成されている。主な研究結果は、2 章と 3 章に記載されている。

2 章では、RNAi により、蛹体液細胞で p120 の発現を特異的に抑制できるこ

とを報告している。蛹体液細胞で p120 の遺伝子発現を抑制するため、変態期の直前にあたる最終齢（三齢）幼虫の体腔中に p120 の二本鎖 RNA を注入した。蛹体液細胞における p120 の発現の抑制は、抗 p120 抗体による蛍光抗体法、イムノブロットにより検討している。また、p120 RNAi が蛹体液細胞に発現している cathepsin B mRNA 3'-untranslated-region-binding protein の発現には影響を与えないことから、p120 RNAi の効果は、配列特異的と結論している。

3 章では、p120 RNAi をおこなった個体について、細胞レベル、個体レベルで解析している。これまでに、p120 に対するモノクローナル抗体が、蛹体液細胞のアセチル化低密度リポ蛋白質の取り込みを阻害することから、p120 がスカベンジャー受容体であることが示唆されていた。そこで、RNAi により p120 を欠損した蛹体液細胞で、実際にアセチル化低密度リポ蛋白質の取り込み活性が低下しているかどうかを検討した。その結果、p120 を欠損した蛹体液細胞では、取り込み活性が正常蛹体液細胞よりも顕著に低下し、その活性は幼虫体液細胞レベルであることがわかった。したがって、p120 が蛹体液細胞特異的なスカベンジャー受容体であることが示された。

さらに、著者は、蛹体液細胞において、カテプシン B の発現に対する p120 の欠損による影響を解析している。カテプシン B は、p120 と同様、蛹体液細胞で発現するプロテアーゼで、脂肪体の崩壊を引き起こすことがわかっている。RNAi により p120 を欠損した蛹体液細胞で、カテプシン B 蛋白、mRNA の発現を、それぞれイムノブロット、ノザンブロットにより解析した。その結果、カテプシン B 蛋白の発現が減少していることが明らかになった。このとき、カテプシン B mRNA の発現は減少していないことから、p120 は、転写後にカテ

プシン B の発現を調節すると考えられた。

p120 が I 型膜貫通蛋白で、スカベンジャー受容体であることから、p120 が結合して取り込む分子、または細胞内領域が細胞内にシグナルを伝え、カテプシン B の発現を制御する可能性が指摘された。

しかし、p120 RNAi をおこなった個体は、正常に蛹化し、幼虫脂肪体の崩壊もみられた。さらに、成虫も正常に羽化してきた。したがって、p120 は、脂肪体の崩壊、変態には必須ではないと考えられた。p120 の欠損により個体レベルで異常が見られなかった原因として、p120 の機能を相補する分子の存在が指摘される。

以上、この研究は、昆虫の変態期の体液細胞で発現する遺伝子の機能を RNAi により個体レベルで解析する方法を提示し、さらに、RNAi によりスカベンジャー受容体 (p120) がカテプシン B の発現を転写後制御する可能性を示した。本研究は、昆虫発生学にとどまらず、発生生物学の今後の進展にも大きく寄与するものであり、博士 (薬学) の学位に相当するものと判断した。