

論文審査の結果の要旨

氏名 錦 織 健 児

細胞内共生は宿主の適応度を上げることで、多様な生物の進化に大きく寄与したと考えられている。こうした細胞内共生系が、宿主の生理状態に応じてどう変化するか、という問題は細胞内共生の成立を探る上で興味深い課題であるが、その分子メカニズムはほとんど明らかにされていない。アブラムシ類の多くは体腔中に菌細胞と呼ばれる巨大な細胞を数十個持ち、その細胞質にはブフネラと呼ばれる共生細菌が密に詰まっている。この共生関係は約2億年続く相互依存度の高いものであり、アブラムシとブフネラは単独では生存できない。本研究で用いたエンドウヒゲナガアブラムシは通常は翅を持たない無翅虫であるが、生育密度が高まると翅を持った有翅虫を生じる。この二型の分化に伴って菌細胞の容積が変化することが知られていた。論文提出者は、この共生系の動態とその制御機構を解析することで、共生系の維持機構の一端を明らかにすることを目的に本研究に着手している。

本論文は全編が大きな1章立てであり、要旨・序論・材料と方法・結果・考察・図表・締め括りの言葉・引用文献・謝辞で構成されているが、結果と考察はそれぞれ対応する4つの章を含んでいる。まず第1章と第2章では、無翅虫と有翅虫の羽化後の日齢を追って菌細胞を組織学的に解析した結果、ブフネラの染色像(第1章)と、菌細胞内でのブフネラの密度(第2章)が、それぞれ特有な変動を示すことを報告している。この内、ブフネラの密度に関しては、有翅虫では最終脱皮の2日前(day -2)から1日後(day 1)にかけてブフネラ密度が急激に減少していたが、無翅虫ではこの時期は一定に保たれ、day 1からday 4にかけて減少していた。

第3章では、菌細胞内でのブフネラ密度の減少がどのような機構で起きるのが解析されている。まず共生細菌に由来すると考えられる真核細胞のミトコンドリアがリソソーム系により分解されることからの類推で、ブフネラが宿主細胞のリソソームにより分解される可能性を考え、酸性オルガネラ染色試薬(LysoTracker)により菌細胞リソソームの形態を観察した。その結果、ブフネラ密度が減少したday 0の有翅虫では発達したリソソームが多数観察された。また、分解過程にあると考えられる膨潤したブフネラを含む、ドーナツ状のリソソームも多数観察された。次に、day 0の無翅虫と有翅虫の菌細胞を電子顕微鏡で観察した結果、有翅虫では正常なブフネラに比べ、細胞質の電子密度に偏りが生じた特異なブフネラ像が観察された。これらの結果は、ブフネラが宿主のリソソームにより分解されることでその密度が減少することを示唆している。

第4章ではブフネラ密度の減少の分子機構を解明するため、有翅虫でブフネラ密度が急激に減少したday 0のアブラムシの菌細胞からタンパク質を抽出し、二次元電気泳動法で無翅虫と有翅虫のタンパク質発現パターンを比較した。LC-MS/MS解析の結果、無翅虫選択的に発現するタンパク質を1つ、有翅虫選択的に発現するタンパク質を5つ同定した。後者の1つはアブラムシ由来のCarboxypeptidase vitellogenic-like(CPVL)であり、ブフネラのタンパク質分解に関わる実働分子の可能性が考えられた。そこでアブラムシCPVLの特性を解析するため、リコンビナントタンパク質を用いて抗体を作製し、イムノブロット解析を行なったところ、day 0有翅虫と

無翅虫の両者で 59 kDa のバンドが検出され、さらに有翅虫に特異的に 57 kDa のバンドが検出された。CPVL の哺乳類ホモログは数 kDa の分子量減少を伴うプロセッシングにより活性化される。従って、アブラムシ CPVL も有翅虫の菌細胞内で活性化され、ブフネラ密度の減少に働く可能性が考えられた。

以上の結果から、ブフネラ密度の減少機構として、宿主がその生理状態に応じて菌細胞のリソソームを発達させるとともに、CPVL の発現亢進と活性化を誘導することでブフネラを分解する、というモデルが提唱されている。ブフネラ密度が減少した時期 (day -2 から day 1) には、有翅虫の飛翔筋が急速に発達することから、一部のブフネラを分解することで、飛翔筋形成のための栄養源を得ている可能性が考えられた。本研究は細胞内共生系において、宿主の生理状態に応じて共生菌の存在様式を変化させる機構を示す世界初の例であり、今後の動物生理化学、共生生物学の進展に寄与するものと考えられる。

なお、本論文の研究は、森岡瑞枝助教(東京大学)・森岡清和博士(都立臨床研究所)・久保健雄・(東京大学)との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験を計画し、遂行したもので、論文提出者の寄与が十分であると判断できる。

従って、博士(理学)の学位を授与できると認める。