

論文審査の結果の要旨

氏名 大和 知永

本論文は、解明が遅れていたカイコの周気管腺の機能を、生化学的・分子遺伝学的に追究し、周気管腺さらには同器官を構成する細胞である *athrocyte* の生理機能を明らかにしたものであり、3章から構成される。

第1章では、形態学的手法を元に、過去の研究成果の再確認を行なった。その過程において *athrocyte* は体内の異物除去や生体防御に関与することを示唆する現象を見出した。さらに、周気管腺はカイコガ上科にのみ存在する器官であることを明らかにし、発育過程での変化や不結繭蚕の観察から変態時の幼虫組織の崩壊と関連して活発な機能をもつことを推測した。

第2章においては、周気管腺の分解機構に焦点を当てて研究を進めた。まず、蛍光プローブを用いて、幼虫諸器官のリソソームの状態を調べ、カイコの *athrocyte* である周気管腺、囲心細胞、食道下体では発達したリソソームがあるのに対し、筋肉など他組織では少ないことを観察した。次に、発育時期ごとに周気管腺を調べて、幼虫から変態期への発育経過とともに、リソソームの蛍光顆粒が徐々に増加し、蛹2日では、強い蛍光を発する膨張した顆粒が細胞質全体に充ちることを観察した。このことから、周気管腺では常時リソソーム系が機能しており、特に変態初期においてその機能が活発になると考えられた。次に、単離が可能な5齢幼虫の周気管腺を用いて、遺伝子発現解析を行なった。まず、血液タンパク質の遺伝子発現レベルを調べた結果、アリルフォリン、30K タンパク質、リゾチームの発現レベルは比較的低いことが示された。次に、異物分解との関連から、エンドサイトーシスとオートファジーの関連遺伝子の発現解析を行い、エンドサイトーシス系では *DjA2* の発現が、またオートファジー系では調べた4つの *ATG* 遺伝子全ての発現が、脂肪体や筋肉に比べて周気管腺において高いことを示した。これらの点より、周気管腺では、リソソームに関連したタンパク質分解システムが発達していると判断された。

第3章においては、周気管腺のタンパク質の取り込みと分解について検討した。異物タンパク質として IgG を体腔内に注射し、周気管腺への取り込みを調べたところ、他の時期に比べ蛹1日の周気管腺の取り込みが最大であり、組織化学的な観察で FITC 標識 IgG とリソソームが共局在することを示した。次に、周気管腺に IgG を取り込ませた後、体外に取り出して培養する *exo vivo* の実験を行なった。周気管腺に取り込まれた IgG は培養と共に濃度が減少する一方、分解物と思われる低分子のバンドが増えおり、取り込まれた異物タンパク質は、低分子に分解されていくと推定された。次に、血液タンパク質であり成虫組織形成のアミノ酸源になるアリルフォリンと周気管腺との関連を調べた。まず、精製したアリルフォリンを FITC で標識して投与し、組織への取り込みの様子を観察した。その結果、脂肪体では従来の報告のようにアリルフォリンは吐糸期に著しく

取り込まれて顆粒状になることが確認でき、他の時期では取り込みは認められなかった。一方、周気管腺においては、アシルフォリンの取り込みが常時認められ、特に蛹においてサイズの大きい顆粒が細胞周縁部に局在していた。蛹1日のカイコを使って分解について検討したところ、周気管腺では取り込まれたアシルフォリンが減少し、分解物と推定されるラダーバンドが増加した。一方、抗アシルフォリン抗体を用いて調べたところ、蛹の脂肪体では吐糸期に取り込まれていた内在性アシルフォリンが多量に存在し、このアシルフォリンが大きく5~6箇所分解されていくことが観察され、これは脂肪体の組織崩壊に伴う分解と考えられた。すなわち、アシルフォリンは脂肪体内で自己分解と共に低分子化されること、また周気管腺もアシルフォリン分解に関わっていることが示唆された。これらの結果より、周気管腺は内在性タンパク質についても取り込み、分解する機能を持ち、蛹初期において幼虫組織の分解に関与することが推察された。

以上、本研究においては、カイコ周気管腺はタンパク質分解系の遺伝子発現が高く、常時リソソーム系が機能し、特にそれが蛹初期で活発になっていること、また異物タンパク質のみならず内在性タンパク質についても取り込んで分解することを明らかにした。すなわち、*athrocyte* がタンパク質の分解を行うことに関し周気管腺によって実験的根拠を与え、さらに周気管腺が変態初期の幼虫組織の崩壊やタンパク質の分解処理にも関わる重要な器官であることを明らかにしている。

なお、本論文は、青木不学、永田昌男との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。