

(別紙様式第3号)

学 位 論 文 要 旨

氏名: 片 岡 直 也

題目: 昆虫の排泄・水分調節に関わるアクアポリンファミリーの分子生理学的研究
—Molecular Physiological Studies of Aquaporin Family in Lepidopteran Insects—

昆虫は開放血管系動物であるので、皮膚からの蒸散は体液のロスに直結する。陸上を主たる棲息環境としている多くの昆虫にとって体からの水分蒸散および体内水分のホメオスタシスは、成長・変態・生殖・休眠などを行う昆虫の一生を支える基幹的な機能である。昆虫に限らず動物の体成分の7割前後は水であり、体内ではダイナミックな水輸送が展開されている。水という生命に直結する分子の細胞膜通過路(水チャネル)が発見され、アクアポリン(aquaporin: AQP)と命名され、水分子についてもプロトンや各種イオンのように、原形質膜を介して輸送を行う分子が確定した。このアクアポリン分子が原形質膜に存在すると、水輸送が10~100倍速く進行し、また、そのチャネル分子の開閉(gating)やリン酸化の有無による調節によって、緻密な細胞制御が実行可能になっていることも哺乳類のAQP研究から明らかになってきている。ヒトでは13種あり、AQPO~AQP12と命名されているが、ショウジョウバエではゲノム情報から8つの遺伝子が推定されている。

昆虫のアクアポリン研究は植物汁液を吸汁する半翅目昆虫(Homoptera)の中腸(Filter chamber)からのcDNAクローニングで始まった(1996年)。それ以降、吸血性の双翅目昆虫(蚊やハエのなかま)から遺伝子としていくつか同定されている。吸血行動は一過性であり、一度に大量の高濃度の動物血液が腸管内に流入してくるので、(1)消化系・排泄系の機能と浸透圧調節のしくみを解明すること、(2)病原媒介性昆虫の害虫制御を開拓すること、この二つの視点からアクアポリン研究が今日まで進められている。本研究においては、鱗翅目昆虫(Lepidoptera)のカイコ(*Bombyx mori*)並びにナシヒメシンクイ(*Grapholita molesta*)からそれぞれクローン化した2種類のAQPについて(カイコ:AQP-Bom1, Bom2; ナシヒメシンクイ:AQP-Gra1, Gra2)、機能的な解析を中心にそれらの特徴付けを行った。

アフリカツメガエル卵母細胞(*Xenopus oocytes*)の遺伝子発現系へ、これらの昆虫種から単離したAQPのmRNA(capped RNA)を顕微注射して、カエル卵表層の原形質膜タンパク質として発現させた。卵母細胞膜表層に昆虫由来のAQPが発現した卵を低張液に移し、水流入によって膨潤する卵の体積変化から水輸送活性を定量化した。カイコ後腸で多量に発現しているタイプ(AQP-Bom1)の発現卵母細胞の水輸送能は極めて高い値($P_f=203.8 \times 10^{-4}$ cm/sec)を示した。一方、AQP-Bom2ではAQP-Bom1のその半分以下の輸送能($P_f=81.9 \times 10^{-4}$ cm/sec)であった。いずれの水輸送能も0.5mM HgCl₂存在下で可逆的に阻害され、AQPの特徴を示した。さらに、

AQP-Bom2 については、グリセロールや尿素輸送能 ($P_{\text{sol}} \sim 17 \times 10^{-4}$ cm/sec) を検出し、哺乳類の皮膚・脂肪組織や魚類のエラなどに分布する aquaglyceroporin タイプであることがわかった。AQP-Bom2 は中腸（消化管）やマルピーギ管（昆虫の腎臓）に分布するので、*in vivo* において中腸上皮組織は水に対しては限定的な通過を行っている可能性が考えられた。前者の AQP-Bom1 は、後腸を代表として幼虫体内の組織に広く分布していることから、幼虫個体の様々な組織での水輸送機能に関係している AQP であると推定される。ナシヒメシクイの AQP についても水輸送能について調査し、同様の結果を得た。すなわち、鱗翅目幼虫において AQP は、水分子のみを選択的に通過させる性質を持つタイプ 1（後腸型：water-specific AQP）と非電荷溶質（グリセロール・尿素）をも通過させるタイプ 2（中腸型：aquaglyceroporin-type）が存在していることが判明した。

カイコのような鱗翅目昆虫は植物葉を一過性ではなく断続的に、長期にしかも大量に摂取している (solid/plant feeder)。そのような飲水行動をとらない昆虫では、後腸に分布する AQP のはたらきによる水分の回収が重要であると考えられる。ナシヒメシクイ幼虫はバラ科果樹の新梢や果実を食害する主要害虫で、ナシ果実内は多くの糖やアミノ酸が存在し、非常に高浸透圧な環境になっている。カイコ幼虫とは餌や生活環境（湿度など）が異なっているが、AQP 分子に関してはそのアミノ酸配列から、AQP-Gra1 は AQP-Bom1 (73.1%) と、AQP-Gra2 は AQP-Bom2 (42.5%) とそれぞれ高い相同性を示し、鱗翅目昆虫の AQP は構造的かつ機能的に類似していると予想される。昆虫で分子として機能的に検証されている AQP は、専ら水分子のみを通過させるタイプ (aquaporin - water channel- または orthodox aquaporin と呼ばれる) のみであり、現在 (2008 年末) までのところ、aquaglyceroporin が昆虫にも存在することは否定的であったが、本研究によって aquaglyceroporin タイプの存在とその生理的役割について、昆虫研究の世界で初めて報告することができた。

一般に昆虫の体は小さい。ヒトからみれば一滴の水が昆虫にとってはかけがえのない場合もあり、それが少なくても多過ぎても支障をきたすであろう。小さな個体においても水分過多や不意の絶食に耐える準備、さらには乾燥に耐えるように設計された体制の中で、アクアポリンは機能している。昆虫のアクアポリン研究は、正常な細胞のすがたの説明が現時点で中心であるが、その分子機構の破綻（病理的症狀）も時として引き起こされるにちがいない。昆虫でのアクアポリン研究も 10 年以上が経過し、遺伝子同定のあとの機能解析を証明するステップに達しており、研究の幅を拓げてゆく努力がこれから必要とされている。