

学位論文審査の結果の要旨

氏名	片岡直也
審査委員	主査 東政明 (印)
	副査 河野強 (印)
	副査 小林淳 (印)
	副査 尾崎浩一 (印)
	副査 尾添嘉久 (印)
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)
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>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6～7割は水であり、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、AQP0～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。</p> <p>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) <u>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</u>、(2) <u>病原媒介性昆虫の害虫制御を開拓すること</u>、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。本学位論文においては、鱗翅目昆虫(Lepidoptera)のカイコ(<u>Bombyx mori</u>)並びにナシヒメシンクイ(<u>Grapholita molesta</u>)からそれぞれクローン化した2種類のAQP(カイコ:AQP-Bom1, Bom2; ナシヒメシンクイ:AQP-Gra1, Gra2)について、機能的な解析を中心にそれらの特徴付けに関する一連の研究結果の発表が行われた。概要は以下の2つの点にまとめられる。</p>	

(1) 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) を顕微注入して、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 ($P_{sol} \sim 17 \times 10^{-6}$ 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) の存在していることが判明した。

(2) 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た。昆虫で分子として機能的に実証されている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とも呼ばれる) 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であることやその分子特性についても概要が説明された。

以上のように、本学位論文は、昆虫の浸透圧調節機構に関わる水代謝の分子基盤・細胞基盤について追究し、昆虫生理学上の重要な一步を踏み出す知見を発信することができた。したがって、本審査会の判断として、博士学位として十分な価値を有すると判定した。