

(別紙様式第13号)

## 学 位 論 文 要 旨

氏 名: 丸 山 麻 理 弥

題目: 昆虫の水管理機構に関する細胞生理学的研究 – 昆虫アクアポリンファミリーの多機能性の解明 –  
(New insights into aquaporin physiology in insect cells)

昆虫の浸透圧調節に関する研究や卵形成機構の研究は、古く 1950~60 年代まで遡る。当時は生理学研究のモデル生物として昆虫は活用され、生物科学の発展を牽引していた。しかし、それらのプロセスにおける水やイオンのチャネルやトランスポーターの役割について、昆虫細胞の構造と機能の両面から研究が本格化したのは 1990 年代以降である。幼虫~蛹~成虫へのダイナミックな過程をたどる昆虫のからだの中で、食性や生息環境の変動に応じて生じる水分の過不足に対して、小さな昆虫でもホメオスタシスが必要とされる。昆虫個体の生命維持の根幹に関わる細胞機能を解明するために、本研究では、チョウ目幼虫のカイコにおける細胞内外での水輸送を担うアクアポリン水チャネル (AQP) の生理機能を調査し、組織特異的な発現を示す 3 つのカイコ AQP の生理的役割を追究した。博士学位論文骨子は以下に要約される。

(1) 昆虫は摂食 (吸汁) と排糞 (排尿) の動的なバランスを維持している。からだの成り立ちが開放血管系であるので、血液を介して組織間の相互作用だけでなく、細胞間の溶質交換、つまり原形質膜を介したやりとりもより直接的で単純である。カイコ幼虫の排泄器官である消化管最後部の直腸は、マルピーギ管 (腎臓の相同器官) の終末端が密着し、複合器官 (rectal complex) を構成する。ここでの単層上皮組織で、水選択的な輸送を担う 2 種類の AQP は、直腸上皮細胞やマルピーギ管細胞の原形質膜の極性ドメイン (頂端部: apical および 基底部: basal) にそれぞれ局在分布していたことから、水分子は組織構築する上皮細胞を transcellular (経細胞経路) で輸送されると推定された。イモムシ・アオムシの仲間では堅い固形粒状の糞を排泄することが多いので、後腸複合体での AQP の生理的役割は、食下物からの水の再吸収 (水リサイクル) 機能にあることが示唆された。チョウ目幼虫の多くは、通常直接の水飲み行動をとらないが、この消化管最末端、直腸での水輸送の細胞機能が、個体の水分維持に関与していると考えられた。

(2) カイコ雌蛹では、僅か1週間で卵形成が完了し、1匹の雌が約500粒程度の次世代を産生する。1ヶの細胞である卵(卵胞)が急速に発達する過程におけるAQPの存在意義を調査した。ここでも先の(1)で取り上げた水選択的輸送を司る二種類のAQPが膜タンパク質として存在していることを証明した。そのうちの一つ(幼虫後腸では基底部原形質膜に局在するAQP)は、卵胞が卵黄蓄積する時期、すなわち卵母細胞が膨潤する時期に発現していることがわかった。1950~60年代に昆虫卵の吸水プロセスが研究されていたが、その過程にはAQPが関与していることを実験的に証明した。もう一方(後腸では頂端部原形質膜に局在するAQP)は、卵殻形成され母体内で完成卵となる時期に、卵母細胞の辺縁部の卵黄顆粒内に集積することが判明した。こちらのAQPは卵母細胞の原形質膜には分布していなかったため、完成卵という閉鎖系の中での水輸送には直接関係していないと推定された。

(3) 上記の2種類のAQPとは別のAQPが、カイコ幼虫消化管の主要部分である中腸(midgut)で発現している。このAQPは水だけでなくグリセロールや尿素をも通過させるタイプ(アクアグリセロポリン:GLP)で、前述(1)の後腸には存在せず、その組織特異的機能について調査した。幼虫中腸上皮組織を構成している消化吸收における物質輸送・透過機能を担う円筒細胞において、GLPのmRNAが発現していることを*in situ*ハイブリダイゼーション法によって証明した。さらにこのGLPタイプのAQPは、円筒細胞の頂端側原形質膜だけに局在分布することも示した。このGLPは中腸でも後腸側に近い領域で特に偏って発現しており、水輸送とは別の尿素などの輸送に関与していることが示唆された。さらに、卵胞では卵母細胞表層に出現し、上記(2)で述べた2種類の水選択的AQPとは別の挙動を卵成熟過程で示すことから、グリセロールなどの卵黄蓄積への関与が示唆された。

カイコは比較的大型の昆虫であるので、AQPの組織特異的解析が可能であった。チョウ目幼虫では間断なく植物葉を摂取することによって個体内の水分を確保し、かつ、排泄前の再吸収で乾きに強い体制を維持していることが伺われた。また、卵形成という次世代への水分移譲にもAQPが一定の機能を有することも明らかとなった。吸血性昆虫において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するので、消化・排泄系の連動した機能と個体の浸透圧調節のしくみを解明する研究が、海外では進展している。昆虫で最初のAQPの同定と機能解析からまもなく20年が経過しようとしている。非モデル昆虫での遺伝子解析が比較的容易に行われるようになった現在において、AQP研究も単に遺伝子としての同定や機能解析に止まることなく、組織の中での生理的役割を実験的に明確にできる状況が整ってきた。重要な農業害虫や感染媒介昆虫の新しい制御への応用展開も期待される。