

氏名(本籍)	かね こ よう いち 金子陽一(千葉県)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博甲第5005号		
学位授与年月日	平成21年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	カイコ由来抗菌性タンパク質の機能と遺伝子発現機構の解明		
主査	筑波大学教授(連携大学院)	理学博士	山川 稔
副査	筑波大学教授	農学博士	本田 洋
副査	筑波大学准教授	農学博士	戒能 洋一
副査	法政大学准教授	農学博士	青柳 秀紀

論文の内容の要旨

昆虫は脊椎動物のような獲得免疫を持たず、専ら自然免疫のみで外敵から身を守っている。自然免疫は液性反応と細胞性反応の二つから成り立ち、抗菌性タンパク質は液性反応において重要な役割を果たしている。しかしながらその機能や遺伝子発現制御などまだ未解明の部分も多く、また100万種以上とも推測される昆虫種は多様に進化しており免疫の仕組みも一様ではないことが推測される。

本研究では、チョウ目の中でも唯一全ゲノムのデータベースが構築されているカイコ (*Bombyx mori*) を材料として未同定あるいは解析の十分に行われていない抗菌性タンパク質の機能と遺伝子発現制御を中心に調べた。抗菌性タンパク質遺伝子の探索としてゲノムデータベースを最大限利用し、ディフェンシン B、エンボシン及びグロベリン遺伝子の同定に成功した。ディフェンシン B はまだその機能が良く分かっていないので、大腸菌を利用してその遺伝子を発現させた組換えタンパクを用い調べてみた。その結果、酵母の増殖を抑える活性があることが明らかとなった。

ディフェンシン B、グロベリン及びエンボシン遺伝子は細菌の細胞壁構成成分であるペプチドグリカン (PG) やリポ多糖 (LPS) で活性化され、特に LPS やその一部である LipidA によって明らかに発現が誘導されることからこれらの因子により誘導されないショウジョウバエの免疫反応とは異なる遺伝子制御機構がカイコに備わっていることが明らかとなった。

上記遺伝子のプロモーター部位には免疫関連遺伝子の発現制御で重要な役割を担う NF- κ B 結合配列、GATA 様配列等があることから、すでに同定されている転写因子の BmRelA、BmRelB 及び BmRelish による活性化について培養細胞を用い調べてみた。その結果、これらの転写因子はすべての抗菌性タンパク質遺伝子のプロモーターを活性化し、その中でも BmRelB は特に強く活性化した。さらに、BmCactus を用いて大腸菌によるシグナル伝達にどの Rel タンパク質が関与するのかを調べたところ、BmRelish が関わるということが明らかとなり、カイコにおいて IMD 経路がショウジョウバエ同様機能していることが明らかとなった。

一方、抗菌性タンパク質遺伝子の 5' 上流発現制御部位を詳細に調べたところ、NF- κ B 結合様配列の近傍に C/EBP 結合様配列があることが明らかとなった。カイコにおいてはこの因子と関係のある BmC/EBP、BmCbZ が卵殻形成に働いていることが報告されており、これらの因子によるプロモーター活性化の変化を

調べたところ、哺乳類と異なり Rel による転写活性を抑制する機能が明らかとなった。その結果に基づき、IMD 経路による転写活性に BmC/EBP 及び BmCbZ が影響しているのかについて調べたところ、この因子によって大腸菌による転写が抑制されるというこれまでにない新しい知見が得られた。この結果は、BmC/EBP 及び BmCbZ は IMD 経路によって活性化された抗菌性タンパク質遺伝子の発現を抑制し、過剰な発現を制御していることを強く示唆した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

昆虫の免疫で最も研究の進んでいるものはハエ目のショウジョウバエであるが、チョウ目に属するカイコとは系統進化的にかなり離れているため比較免疫学の立場からの両昆虫種の検討は昆虫全体の免疫機構を理解するために重要である。本研究では、カイコの抗菌性タンパク質に焦点を絞り細菌感染によって引き起こされる遺伝子発現を詳細に解析し興味深い結果を得ている。まず、ショウジョウバエにおいてはトリガーにならないことが知られている LPS とその構成成分がカイコにおいては抗菌性タンパク質遺伝子を活性化することが本研究から明らかにされ、ショウジョウバエで提唱されている二つのシグナル伝達モデル (Toll 経路及び IMD 経路) で説明できない新しい経路がカイコに存在することを示唆した。次に、カイコの抗菌性タンパク質遺伝子の細菌による活性化においてショウジョウバエ同様、IMD 経路が働くことを証明した上で、そのシグナル伝達系がこれまで知られていた NF- κ B 結合様配列以外にこれまで昆虫免疫ではほとんど未解明の C/EBP 結合様配列を発見した。さらに、この配列が脊椎動物の免疫では免疫関連遺伝子の活性化に関与するという事実と異なり、カイコでは逆に強く抑制する機能を持つという全く予期しない新しい現象を明らかにした。この結果は、カイコにおいて C/EBP 結合様配列は IMD 経路によって活性化される抗菌性タンパク質遺伝子の過剰発現を制御する働きがあることを示唆している。

以上のように、本研究は昆虫免疫における新しい重要な知見を得ており昆虫全体の免疫現象を理解する上で大きく貢献することと思われ大変高く評価される。

よって、著者は博士 (農学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。