

「お化け」遺伝子呼び出す「こっくりさん」タンパク質の発見 ～昆虫のステロイドホルモン生合成に関わる新知見～

研究成果のポイント

1. キイロショウジョウバエを用いた研究から、ステロイドホルモン（注1）であるエクジステロイド（注2）（脱皮ホルモン）生合成器官での遺伝子の発現調節に重要な役割を担う新規タンパク質を発見しました。
2. ステロイドホルモン生合成に関わる1つの遺伝子のみの発現調節を担う転写因子（注3）の発見は、無脊椎動物で初めての事例です。
3. 動物のステロイドホルモン生合成メカニズムとその進化について新知見を与えると共に、昆虫のみに作用する農薬の開発ターゲットとなることが期待されます。

国立大学法人筑波大学生命環境系の丹羽隆介准教授、同生命領域学際研究センターの深水昭吉教授と廣田恵子助教、島田裕子研究員、同生命環境科学研究科の大学院生の小村（加和）達也と山内理恵子、国立研究開発法人農業生物資源研究所の篠田徹郎ユニット長らは、キイロショウジョウバエを用いて、昆虫の発育に必要なステロイドホルモンの生合成に重要な役割を担う新規タンパク質「Ouija board（ウィジャボード）」（注4）を発見しました。

ステロイドホルモンは、生物種を問わず、個体の発育や恒常性の維持、さらには性成熟に重要な役割を担います。ステロイドホルモンの生合成は、何段階かの酵素反応を経ることで実現されます。これまでの国内外の研究によって、ステロイドホルモン生合成酵素の同定と機能解析については解明が進み、これらの酵素はステロイドホルモンを生合成する器官でのみ働くことがわかっています。一方、特に昆虫を含む無脊椎動物において、生合成酵素が生合成器官に限定して存在するメカニズムは、ほとんど解明されていません。

本研究では、ウィジャボードが、昆虫ステロイドホルモン（脱皮ホルモン）の生合成に必要な酵素遺伝子の発現を調節することを明らかにしました。興味深いことに、ウィジャボードは、様々な生合成酵素遺伝子のうち、たった1つの遺伝子の発現のみ調節することがわかりました。また、ウィジャボードは、ハエ科昆虫にしか存在しません。以上の結果から、キイロショウジョウバエはたった1つの酵素遺伝子のためだけに特別な調節メカニズムを持っていることが強く示唆されました。今回の成果は、動物のステロイドホルモン生合成メカニズムとその進化について新知見をもたらすと共に、昆虫にのみ作用するような「環境にやさしい農薬」の開発にも新たな考え方を与えると期待されます。

本研究の成果は、日本時間2015年12月11日午前4時に「*PLoS Genetics*」で公開されます。

*本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業 個人型研究（さきがけ）の研究領域「生体における動的恒常性維持・変容機構の解明と制御」の研究課題「個体の発育の恒常性を調節する器官間液性因子ネットワークの解明」（研究期間：平成24～27年度）、内藤記念科学振興財団内藤記念科学奨励金の一環で実施されました。

研究の背景

ステロイドホルモンは、生物種を問わず、個体の発育や性成熟、また恒常性の維持に重要な役割を持つ生理活性物質です。ステロイドホルモンは、特定の内分泌器官において、コレステロールから何段階かの酵素反応を経て生合成されます。従って、それらの生合成酵素を指令する遺伝子群は、ステロイドホルモン生合成器官に限定した形で発現することが重要です。脊椎動物においては、こうした生合成器官に特異的な遺伝子発現を調節するタンパク質である「転写因子」として、Ad4BP/SF-1 と呼ばれる因子が重要な役割を果たすことがよく調べられています。一方、無脊椎動物においては、ステロイドホルモン生合成器官に限定された遺伝子発現を司るためのメカニズムはほとんど解明されていません。

動物として地球上で最も繁栄している昆虫において、主要なステロイドホルモンは「エクジステロイド」です。エクジステロイドは別名「脱皮ホルモン」とも呼ばれており、昆虫の脱皮や変態の誘導を司っています。幼虫期における脱皮ホルモンの生合成は、「前胸腺」と呼ばれる特別な内分泌器官で起こります。丹羽准教授の研究グループは、過去10年間、前胸腺での脱皮ホルモン生合成に関与する酵素群の同定で先駆的な業績を上げてきました。これまで同定されてきた脱皮ホルモン生合成酵素を指令する遺伝子は10種類近く存在しますが、歴史的経緯からそのほとんどにお化けや幽霊の名前が付けられており、一群を総称して「ハロウィーン遺伝子群」(注5)と呼ばれています(図1)。

ハロウィーン遺伝子群が前胸腺のみで発現するためには、脊椎動物のAd4BP/SF-1のように、脱皮ホルモン生合成器官でのみ働くような転写因子が昆虫にも存在するはずですが、この仮説に基づいて、本研究グループは3年前から、ハロウィーン遺伝子群の発現に関わる転写因子の解明を目指し、研究を進めていました。

研究内容と成果

今回、本研究グループは、モデル動物として広く用いられているキロシヨウジョウバエを用いて、前胸腺での発現量が高い転写因子を探索しました。その結果、ジンクフィンガー(注6)型転写因子と呼ばれる特徴を持つタンパク質「Ouija board (ウィジャボード)」を発見しました。ウィジャボードの機能を失った変異体を遺伝学的技術によって作り出したところ、変異体幼虫の発育が停止しました。脱皮ホルモンを幼虫に食べさせることによって発育が復活したことから、ウィジャボード変異体は脱皮ホルモン生合成能を失っているものと予想されました。そこで脱皮ホルモン生合成酵素遺伝子を調べたところ、ウィジャボード変異体では、「spookier (スプーキア)」と呼ばれる遺伝子がほとんど発現していませんでした(図2)。この結果から、ウィジャボードは、前胸腺において、脱皮ホルモン生合成酵素遺伝子スプーキアの誘導に必要であることがわかりました。ウィジャボードは、無脊椎動物においてステロイドホルモン生合成に特化した機能を持つ転写因子の最初の事例となります。

興味深いことに、ウィジャボード変異体の発育は、スプーキアを強制的に発現させることでも復活させることができました。この結果は、ウィジャボードが、ゲノム中に存在する14,000種類もの遺伝子のうちのたった1つの遺伝子、スプーキアの発現だけを調節することを示唆しています。これまでの研究では、1つの転写因子は多くの遺伝子の発現を調節すると考えられているのに対して、ウィジャボードは既知の転写因子とは異なるユニークな性質を持つといえます。

「スプーキア」という名称は、「幽霊のような」を意味するspookyという英単語に由来しています。今回発

見されたジンクフィンガー型転写因子は、スプーキアの発現を誘導する機能、すなわち「幽霊を呼び出す」機能を持ちます。そこで、西洋版「こっくりさん」ともいべき降霊術遊びで用いられる有名な道具「ウィジャボード」にちなみ、今回の転写因子を「ウィジャボード」と名付けました（図3）。

今後の展開

今回の研究では、ウィジャボードが脱皮ホルモン生合成酵素遺伝子スプーキアの発現調節を担うことがわかりました。脱皮ホルモン生合成に関わる酵素は、スプーキア以外にもあります。そこで現在、他の生合成酵素遺伝子にも特異的な転写因子が存在するかどうか研究を進めています。

一方、ヒトを含む脊椎動物で知られている Ad4BP/SF-1 は、ウィジャボードとは異なり、複数のステロイドホルモン生合成酵素群の発現をまとめて調節する機能を持ちます。今回の発見は、脊椎動物においても反応段階特異的な転写因子が存在するかどうかを検討する研究に影響を与えることが期待されます。

注目すべきことに、ウィジャボードと同等の機能を持つ遺伝子は、現在のところショウジョウバエ属昆虫にしか見いだせません。それに対して、スプーキアと同等の機能を持つ酵素はほぼ全ての昆虫に存在すると考えられています。この事実は、ショウジョウバエ以外の昆虫においては、ウィジャボードとは別の転写因子がスプーキア遺伝子を制御している可能性を示唆しています。今回ショウジョウバエで発見された転写メカニズムを足がかりに、他の昆虫ではどのような転写システムが存在するのかを検討していくことは、昆虫科学、内分泌学、そして進化学の観点から今後の重要課題となります。

上述の点と関連して、ウィジャボードの機能だけを選択的に抑制できる薬剤などが見つければ、ハエ科昆虫だけに有効な農薬として活用できることが期待されます。さらには、今後、ウィジャボードのように特定の昆虫グループに特異的な制御タンパク質や関連するメカニズムを見いだすことは、それぞれの昆虫グループを選択的に除去あるいは殺傷できるような、環境にやさしい農薬の開発に重要な知見を与える可能性があります。

参考図

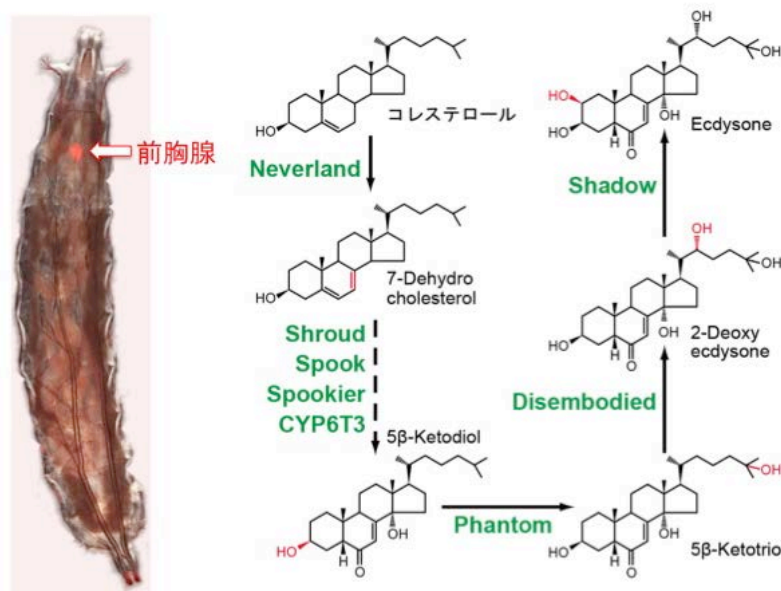


図1：(左) キイロショウジョウバエの3齢（注7）幼虫と前胸腺（赤色）。(右) 前胸腺におけるエクジステロイド生合成経路の模式図。餌の中に含まれるコレステロールを出発材料として、複数段階の化学反応を経て、脱皮と変態に必要なエクジステロイド（脱皮ホルモン）が生合成される。これまでにわかっているエクジステロイド生合成酵素を緑色で示す。

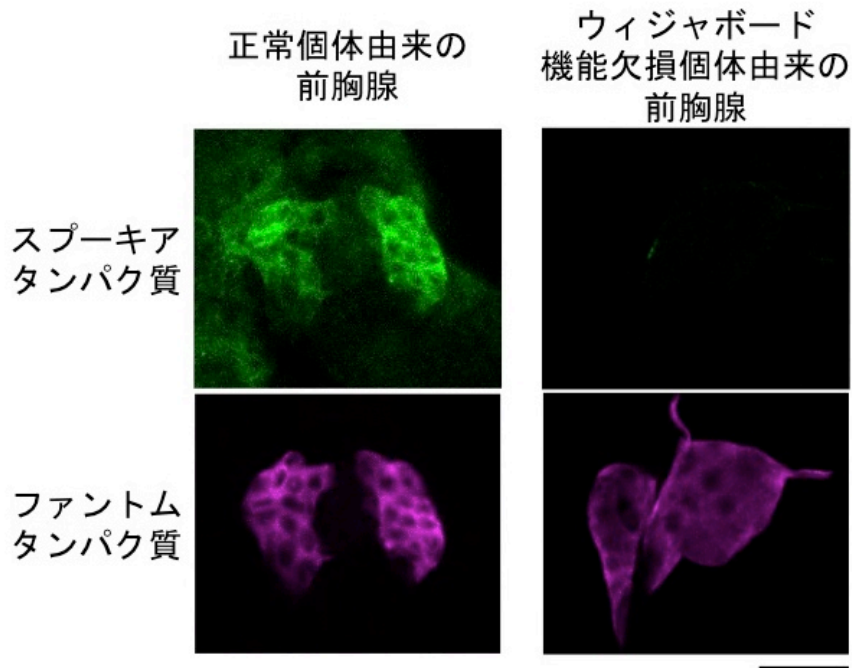


図2：正常個体あるいはウィジャボード変異体に由来する前胸腺での2種類のエクジステロイド合成酵素 Spookier（スプーキア）と Phantom（ファントム）の分布。免疫組織化学法によってタンパク質を可視化している。ウィジャボードの機能が失われた前胸腺では、スプーキアのタンパク質が検出されなくなる。一方、ウィジャボードによる制御を受けないファントムのタンパク質は変化しない。（スケールバー：25 μ m）



図3：「ウィジャボード」によって転写されるキイロシヨウジョウバエの脱皮ホルモン（20-hydroxyecdysone）生合成酵素スプーキア

用語解説

注1) ステロイドホルモン

化学構造的にステロイド核を持つホルモンの総称であり、細胞膜を透過して細胞内での遺伝子の発現を直接制御する性質を持つ。生物分類群ごとに固有のステロイドホルモンが存在するが、ヒトを含むほ乳類においては性ホルモンであるテストステロンやエストラジオールが有名である。

注2) エクジステロイド

昆虫における主要なステロイドホルモンの総称。昆虫の脱皮と変態を誘導する脱皮ホルモンとしての役割が有名であるが、免疫系の制御、成虫の記憶・学習、性成熟にも関与することが報告されている。幼虫期には「前胸腺」と呼ばれる特別な内分泌器官で生合成される。

注3) 転写因子

細胞の核の中に存在する DNA の配列に結合し、結合した領域の周辺に存在する遺伝子の配列をメッセンジャーRNA へとコピー（転写）する働きを持つタンパク質。ヒトにおいては約 1,800 種類もの転写因子が存在すると推定されている。転写因子は、それぞれに特有の下流遺伝子の転写を活性化あるいは逆に不活性化することで、細胞内の多くの反応で重要な役割を果たしている。

注4) ウィジャボード

ウィジャボードとは、日本の「こっくりさん」に相当する西洋の降霊術遊びで使われる道具である。発見した新規タンパク質の関連遺伝子群にはお化けや幽霊を意味する英名が付けられていることから命名した（注5を参照）。「こっくりさん」は、「はい」「いいえ」、鳥居の絵、五十音のひらがな、0~9 の数字などを記入した紙の上に硬貨を置き、参加者全員が人差し指を添えて、まるで「キツネの霊」に操られているかのように硬貨を動かす遊びである。

注5) ハロウィーン遺伝子群

エクジステロイド生合成に関与する酵素をコードする遺伝子の総称。これまでに同定された酵素の遺伝子の突然変異株はいずれも「ツルツル」の胚上皮構造を持つことから「つかみ所がない」ということで、「shroud（死者を覆う布）」「spook（幽霊）」「phantom（幻影、怪人）」「disembodied（肉体のない）」「shadow（影、亡霊）」「shade（亡霊）」など、英語でお化けや幽霊の意味を持つ名称が与えられた。これらの遺伝子を総称するために、お化けが集まる祭りである「ハロウィーン」の名が、本研究の共著者の一人であるミネソタ大学のオコナー（O' Connor）教授によって約 10 年前に提唱された。

注6) ジンクフィンガー

タンパク質の持つ特徴的な構造の1つで、DNA などの核酸に結合する性質を持つ。

注7) 齢

昆虫の幼虫の発育段階を脱皮を基準に区切った場合のそれぞれ時期のことを指す。ショウジョウバエは、1 齢幼虫から 2 回の脱皮をへて 3 齢幼虫に達し、その後には蛹になる。

掲載論文

【題名】 The *Drosophila* zinc finger transcription factor Ouija board controls ecdysteroid biosynthesis through specific regulation of *spookier*

(和文タイトル) ショウジョウバエのジンクフィンガー型転写因子ウィジャボードは、スプーキア遺伝子に対する特異的な制御を通じてエクジステロイド生合成を調節する。

【著者名】 Tatsuya Komura-Kawa (小村(加和)達也)、Keiko Hirota (廣田恵子)、Yuko Shimada-Niwa (島田(丹羽)裕子)、Rieko Yamauchi (山内理恵子)、MaryJane Shimmel、Tetsuro Shinoda (篠田徹郎)、Akiyoshi Fukamizu (深水昭吉)、Michael B. O' Connor、Ryusuke Niwa (丹羽隆介)

【掲載誌】 PLOS Genetics (DOI: 10.1371/journal.pgen.1005712)

問い合わせ先

<研究に関すること>

丹羽 隆介 (にわ りゅうすけ)

筑波大学 生命環境系 准教授

<JST 事業に関すること>

科学技術振興機構 戦略研究推進部