

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07159

研究課題名(和文) オス精液成分による妊性制御の分子機構解析

研究課題名(英文) Regulatory mechanism of male fertility by seminal fluid

研究代表者

中越 英樹 (Nakagoshi, Hideki)

岡山大学・自然科学研究科・教授

研究者番号：50314662

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ショウジョウバエのオス生殖器官である附属腺は精液をつくる。栄養環境に応じて生殖能力(妊性)を制御する際に、附属腺細胞が栄養センサーとして機能している可能性について検討を行った。主細胞(～1,000個)と第二細胞(～60個)のうち、発生期の栄養環境は第二細胞の数・大きさを変化させることで、妊性を最適化していることが明らかとなった。また、栄養環境依存的に遺伝子発現の制御を行う因子として、Dve, Abd-B を同定した。

研究成果の概要(英文)：The male reproductive organ accessory glands in *Drosophila* make components of seminal fluid. We examined the possibility that accessory gland cells function as a nutrient sensor when controlling reproductive ability (fecundity) in response to nutrient conditions. Of the main cells (～1,000) and the secondary cells (～60), we showed that the nutrient conditions during development change the number and size of secondary cells to optimize male fecundity. In addition, Dve and Abd-B were identified as factors that control gene expression in a nutrient-dependent manner.

研究分野：発生遺伝学, 栄養生物学

キーワード：ショウジョウバエ 妊性 精液 栄養 細胞死

## 1. 研究開始当初の背景

ショウジョウバエのオスが自分の子孫を残すためには、精子を正しく作ることに加えて、生殖戦略として以下の4つを実行している。(1) 異性(メス)に求愛して交尾を成功させる、(2) 同性(オス)への求愛を抑制する、(3) 交尾したメスが多くの卵を産むように産卵行動を促進する、(4) 交尾したメスが他のオスと再交尾しないように交尾拒否行動を誘発する。上記(1)、(2)のオス求愛行動は、転写制御因子 Fruitless (Fru) を発現する脳内神経回路によって制御されている。

一方、上記(3)と(4)を制御するのは精液成分である。オス生殖器官の附属腺で合成される附属腺タンパク質 (Accessory gland proteins: Acps) は精液中に分泌され、交尾・射精によってメス子宮内に移行して、メスにさまざまな交尾後応答(産卵、交尾拒否など)を引き起こす。

附属腺は2種類の細胞(～1,000個の主細胞、40～60個の第二細胞)から構成されており、交尾後応答の主要な作用を担う Acp70A (別名 sex peptide: SP) は主細胞で合成される。SP は精子と結合してメスの貯精器官内に保持され、そこから徐々に放出されることによって交尾後応答[上記(3)、(4)]を持続させる。このように、オスの生殖戦略において SP の活性は極めて重要であるが、他の附属腺タンパク質による妊性制御機構の詳細は不明である。

## 2. 研究の目的

大きな附属腺は多量の附属腺タンパク質を合成できるため、オスの生殖戦略には有利である。しかしながら、大きさの維持には多大なエネルギー消費が必要となるため、附属腺はある一定のサイズまでしか発達できない。また、富栄養環境では求愛行動が盛んになり、大きく発達した附属腺を持つオスほど高い繁殖能力(妊性)を獲得する。これらの知見は、オス附属腺が栄養環境を感知するセンサーとして機能し、富栄養環境では附属腺の遺伝子発現を「繁殖モード」に切り換えている可能性を強く示唆する。一方、貧栄養環境では、附属腺タンパク質の合成を中止してエネルギー消費を抑える「休止モード」に切り換えることが推察される。

附属腺で発現する転写制御因子 Defective proventriculus (Dve) は妊性維持に必須であることから、栄養環境の感知に関わっている可能性を検証し、Dve による妊性制御機構を明らかにする。

## 3. 研究の方法

### (1) 転写制御因子 Dve の分解阻害(脱抑制)を誘発する上流シグナルの解析

Wnt シグナルは、転写制御因子  $\beta$ -catenin/armadillo の分解阻害(脱抑制)を介して標的遺伝子の発現を誘導する。附属腺主細胞におけるタンパク質分解系(プロテアソーム)の阻害は Dve 脱抑制を誘導することから、同様の制御機構が予

想される。未知の外界刺激を感知した附属腺主細胞が Dve の分解阻害(脱抑制)を介して、標的遺伝子発現を制御している可能性が考えられる。

(a) Dve 脱抑制を誘発するシグナルの候補として栄養シグナルが最も有力であるため、主にインシュリンシグナル、TOR シグナルなどに着目して、それぞれの優性阻害型タンパク質を発現させた際の Dve 脱抑制、交尾後応答、妊性について調べた。また、Dve 脱抑制の生理的意義を明らかにするため、飢餓ストレス、酸化ストレス、塩ストレス、小胞体ストレス等についても同様の検討を行った。(b) 時期特異的な分解阻害を誘導して、Dve 脱抑制を誘導できる時期・感受性について調べた。

### (2) 栄養シグナルによる第二細胞の生理機能制御

低栄養のエサで飼育された個体は体サイズが小さくなり、附属腺も縮小する。この時、顕著な萎縮を示す第二細胞が存在し、これらの細胞の Dve 発現レベルは著しく低下していた。この現象を詳しく解析するため、栄養シグナル分子としてインシュリン受容体 (Insulin receptor: InR), Target of rapamycin (TOR) の優性阻害型タンパク質 (InR[DN], TOR[DN]), および InR の過剰活性化型タンパク質 (InR[act]) を細胞種特異的、時期特異的に発現させ、附属腺細胞および妊性に及ぼす効果を検証した。

## 4. 研究成果

### (1) 附属腺主細胞における小胞体ストレスが Dve 脱抑制を誘導する

栄養シグナル阻害や飢餓ストレスが Dve 脱抑制を誘導することはなかったが、小胞体ストレスによって Dve 脱抑制が生じることが明らかとなった。この脱抑制は発生段階の異常に依るものではなく、成虫期に誘導した小胞体ストレスでも主細胞に Dve 脱抑制を引き起こした。また、この時 Acp70A (SP) の発現も消失し、妊性が低下していた。つまり、成熟細胞のストレス応答として Dve 脱抑制が誘導され、妊性を低下させていることが明らかとなった。

モザイク解析の結果、小胞体ストレスによって Dve 脱抑制が生じる機構は細胞自律的ではなく、隣接細胞間の情報伝達に関与する可能性が示唆された。小胞体ストレスを感知した細胞が少数であれば、周囲の正常細胞からの影響によって応答反応は抑制されるが、小胞体ストレスを感知した細胞が広範囲に渡ると、Dve 脱抑制によって妊性低下が誘導されるものと考えられる。

### (2) 附属腺第二細胞は発生期の栄養環境を感知して妊性を最適化する

附属腺細胞において栄養シグナルを阻害すると第二細胞の顕著な萎縮が観察された。効果が強く現れた TOR 阻害個体においては、第二細胞の液胞がまったく形成されず、液胞形成に必要な転写制御因子 Abdominal-B (Abd-B) の発現も消失していた。この現象は蛹期の栄養環境に依存し、成虫期における栄養シグナル阻害は第二細胞の大きさや数にほとんど影響しなかった。一方、主細胞の

成長は成虫期の栄養環境（インシュリンシグナル）に大きく依存することも明らかとなった（図1）。第二細胞が萎縮したオスと交尾したメスの産卵数は減少し、別のオスと再交尾しやすくなっていたことから、栄養環境依存的な第二細胞の成熟によってオスの妊性が最適化されていることが明らかとなった。

また、附属腺細胞にインスリン受容体（InR）の過剰活性化型タンパク質を発現させた場合には、第二細胞の細胞死を阻害することで～100個程度まで細胞数が増えるとともに細胞も肥大した。このオスと交尾したメスは、産卵数を増大させ、別のオスとの再交尾を拒否する交尾後応答も長期間持続した。つまり、富栄養環境における第二細胞数の増加および肥大がオスの妊性を効率的に高めていると考えられた。

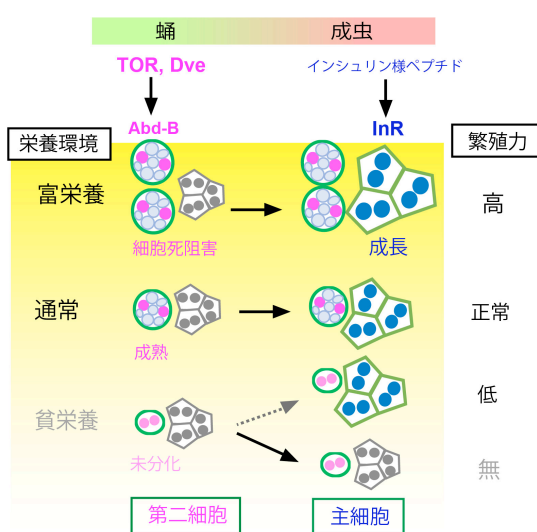


図1. 附属腺細胞が栄養環境に応じて妊性を最適化する制御モデル

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計2件）

① Kubo, A., Matsuka, M., Minami, R., Kimura, F., Sakata-Niitsu, R., Kokuryo, A., Taniguchi, K., Adachi-Yamada, T., and Nakagoshi, H.: Nutrient conditions sensed by the reproductive organ during development optimize male fecundity in *Drosophila*

**Genes Cells** (in press) 査読有

DOI: [10.1111/gtc.12600](https://doi.org/10.1111/gtc.12600)

② Sugimori, S., Hasegawa, A., and Nakagoshi, H.: Spalt-mediated *dve* repression is a critical regulatory motif and coordinates with Iroquois complex in *Drosophila* vein formation.

**Mech. Dev.** 141, 25-31 (2016) 査読有

DOI: [10.1016/j.mod.2016.06.004](https://doi.org/10.1016/j.mod.2016.06.004)

〔学会発表〕（計6件）

① Matsuka, M., Kubo, A., Taniguchi, K., Adachi-Yamada, T., and Nakagoshi, H.: Nutrient sensor in the reproductive organ regulates male fecundity in *Drosophila* (RIKEN CDB Symposium 2018, Kobe, Japan, March 26-28, 2018)

② 松家未来, 久保愛結子, 谷口喜一郎, 安達卓, 中越英樹: ショウジョウバエ生殖器官の栄養センサーはオスの妊性を制御する  
ConBio2017: 生命科学系学会合同年次大会（神戸）2017年12月6-9日

③ 高橋紗央里, 木村文香, 谷口喜一郎, 安達卓, 中越英樹: ショウジョウバエ附属腺での小胞体ストレスの制御  
日本分子生物学会第39回年会（横浜）2016年11月30日～12月2日

④ Kubo, A., Taniguchi, K., Adachi-Yamada, T., and Nakagoshi, H.: Nutrient condition modulates male fecundity through changes of accessory gland cells in *Drosophila*  
The 22nd International Congress of Zoology, Okinawa, Japan, Nov. 15-18, 2016

⑤ 高橋紗央里, 木村文香, 松家未来, 中越英樹: ショウジョウバエ附属腺におけるストレス応答と妊性の制御  
日本分子生物学会第38回年会（兵庫）2015年12月1-4日

⑥ 久保愛結子, 谷口喜一郎, 安達卓, 中越英樹: 栄養センサーとしてのショウジョウバエ雄の附属腺  
日本動物学会第86回大会（新潟）2015年9月17-19日

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

<https://sites.google.com/view/nakagoshi-lab-hp>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

中越 英樹 (NAKAGOSHI, Hideki)

岡山大学・大学院自然科学研究科・教授

研究者番号: 50314662

(2) 研究分担者：なし

(3) 連携研究者：なし

(4) 研究協力者

久保 愛結子 (KUBO, Ayuko)

松家 未来 (MATSUKA, Mirai)