

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：32606

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2013

課題番号：20570202

研究課題名(和文) ショウジョウバエにおけるヒト前立腺相同器官 = 附属腺の発生メカニズム

研究課題名(英文) Developmental mechanism of Drosophila male accessory gland analogous to mammalian prostate

研究代表者

安達 卓 (Adachi-Yamada, Takashi)

学習院大学・理学部・教授

研究者番号：20221723

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：昆虫のオスの内部生殖器官 = 附属腺は多種のペプチドを産生し、それらは交尾の際に精子と共にメスに送られ、食欲増進・産卵促進・交尾拒否をもたらす点で、オスの繁殖戦略上、重要である。ショウジョウバエ附属腺では、特有の二核細胞集団が形成され、精液貯蔵量に可塑性を与えることがわかった(Taniguchi et al. 2012)。また、附属腺の原基の細胞群は、蛹期に細胞周期を斉一化させ、同調的に二核化を行うことがわかった。二核状態を変化させる突然変異体またはRNAiシステムを検索した結果、微小管結合タンパク質の1つMud/NuMAのうち、特定のスプライシングバリエーションが中心的役割を果たすことが解明された。

研究成果の概要(英文)：The accessory gland of adult male Drosophila is analogous to the mammalian prostate which produces various components in the seminal fluid. More than 80 kinds of peptidergic components are known to be important for male reproductive strategy in stimulation of various female reproductive behaviors. The accessory gland cells show a unique cellular feature in which all of the epithelial cells are binucleate cells. We demonstrated that this morphology brings a cell shape flexibility to cells to directly affect the volume of the accessory gland cavity and the storage amount of seminal fluid (Taniguchi et al. 2012). We also demonstrated that the cell cycle in the developing accessory gland was unusually synchronized around cytokinesis skipping in the pupal stage, a process of binucleation. Furthermore, we sought causal factor(s) to create binucleate cells. As a result, a previously unknown splicing variant of a microtubule binding factor Mud/NuMA was responsible for this binucleation.

研究分野：生物科学

科研費の分科・細目：発生生物学

キーワード：ショウジョウバエ 附属腺/前立腺 二核細胞 繁殖戦略 立方/扁平上皮細胞 細胞周期制御 微小管結合因子 Mud/NuMA

1. 研究開始当初の背景

(1) 昆虫のオスがもつ内部生殖器官である附属腺は、精液の精子以外の構成成分を産生する点で、ヒトの前立腺に類似したもので、ある。ショウジョウバエでは、附属腺は 80 種以上のペプチドを産生することが知られ、それらはメスの交尾嚢に送られた後、メスに働きかけて卵巣成熟・食欲増進・産卵促進・交尾阻止などの性質変化をもたらす点で、オスの繁殖戦略上、重要な意義を果たしている。

(2) 多くの真核細胞に普遍的な特徴の 1 つとして、1 細胞につき 1 つの核をもって細胞内の遺伝子発現を担う性質が挙げられる。これにより、ほとんどの 2 倍体細胞では 2 つの対立遺伝子のみによって必要な遺伝子発現を達成している一方、高いレベルの遺伝子発現を要する状況に置かれても倍数化を起こさないことが、将来の細胞分裂能維持につながっていると考えられる。

(3) 一報、分化細胞においてしばしば見られる倍数化は、その形状からいくつかのパターンに類別でき、核分裂が進むが細胞質分裂を行わずに 1 細胞内の核が増える多核化 multinucleation (A) と、核の数が増えない endoreplication (B) とがある。更に B では、各染色体が分かれている場合 (Ba) と、相同染色体が対合する場合 polytenization (Bb) とがあり、A Ba Bb の順で、細胞分裂の competence が弱くなると考えられる。事実、ショウジョウバエの唾液腺等に代表される polytene 化した核をもつ細胞 (Bb) は決して分裂することが無く、また、腎がん細胞株 293 では多核化 (A) と癌化が連動する例が知られており、多核化と分裂能喪失とは必ずしも対応しない。

(4) さらに生物界を概観してみると、細胞内に二つの核を持つ生物はかならずしも稀ではなく、菌類では二核を常態とするものが普通に存在し、ゾウリムシでは二核が存在する上に両者の間に機能分化が生じている。ヒトなど 1 核が常態の高等多細胞生物においても、肝細胞やプラズマ細胞のように二核細胞が高頻度に出現する状況があるほか、破骨細胞は正常な状態が多核である。このように多核細胞の存在は稀ではないが、その形成機構に関する国内外の研究は十分に行われていない。一方、単独細胞として生きる分裂酵母では二核状態で増殖を行う株が知られ、その解析が国内で進行中である。

2. 研究の目的

代表らは、ショウジョウバエ附属腺の二核細胞集団が、二つの 1 核細胞の融合により生まれるのではなく、最終細胞周期の細胞質分裂

の放棄によって起きることを明らかにしていた。本研究では、この二核細胞集団の存在意義が何か、及びどのような因子の働きによって生じてくるのかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 予備実験の結果、スピンドルアセンブリ・チェックポイントの構成因子 Mad2 の突然変異体では、一核細胞がモザイク状に現れることが分かったので、その細胞において、附属腺特異的発現を行う各種の遺伝子 (Paired や Acp70A など) を観察し、二核細胞のそれと比較することによって、附属腺での遺伝子発現における二核化の重要性を検討する。一方、羽化直後でまだ未成熟な附属腺 (立方上皮細胞) と日数が経過して成熟した附属腺 (扁平上皮細胞) との間で、二核の配置を観察し、二核の配置と上皮細胞形態との相関性を検討する。また、上皮細胞のの違いによって附属腺内腔の体積に差異が生じるかどうかを、附属腺形態の数学的モデル化して計算することによって検討する。以上から、二核の配置と附属腺許容内臓量との関係を示すことができると期待した。

(2) 蛹期から附属腺の原基組織を採取し、リン酸化型ヒストン H3 抗体による染色で M 期の細胞の存在位置を可視化する。その際、同時に核膜タンパク質ラミン Dm0 を共染色して拡大撮影することによって、周囲の細胞の核が二核化しているのか否かを判別する。これを様々な蛹ステージにおいて行うことにより、2 核化が始まる位置や時期を特定し、進行過程の全容を明らかにする。

(3) 斉一化した二核化の際には 中央紡錘体の形成不全、細胞分裂極性の頂端基底方向への変化、細胞形態の非球形化などの細胞形態変化を伴っていたので、遺伝学的にそれらを変化させる各種の突然変異体系統や RNAi 系統において成虫附属腺の核を観察し、二核化ができなくなる状況を探して、二核化原因を担っている遺伝子を明らかにする。

4. 研究成果

(1) Mad2 突然変異体の一核において、附属腺特異的発現を行う各種の遺伝子 (Paired や Acp70A など) を観察したところ、二核細胞とは全く違いのない遺伝子発現をしていることが分かった。よって、二核化の効果は、遺伝子発現に影響を及ぼさないと結論付けた。一方、附属腺細胞は、二核の位置を鉛直方向に並べるか、水平方向に並べるかによって、細胞形態を立方上皮細胞か扁平上皮細胞に変更していることがわかった。これによって、細胞の断面積が変わるので、附属腺の表面積

ならびに許容内蔵量が変わり、精液貯蔵量に可塑性を与えられることがわかった。特に、羽化直後で附属腺の未発達な個体や、インスリンシグナルを抑制して栄養飢餓状態を模倣した個体では、二核が鉛直方向に並ぶ立方上皮細胞が多く、附属腺サイズが縮小されていた。しかしながら、上記の一核細胞が生じる突然変異体 *Mad2* の細胞においては、サイズの縮小割合は小さかったため、二核化が附属腺サイズに可塑性を与えていることがわかった (Taniguchi et al. 2011)

(2) 附属腺の原基を構成する上皮細胞群は、当初ランダムな細胞周期進行を見せるが、蛹期の特定の時期に組織全体として統一された細胞周期アレストを見せるようになり、その後、ほぼ一斉に二核化を行うことがわかったが、その進行にも、厳密に言えば極性が生じていた。即ち、二核化は附属腺の限られた領域で開始され、その後、隣接領域が追従するように二核化を進行させるが、短時間のうちにこの効果が全体に拡がるので、時間分解能を粗くすると、一斉に二核化しているように見えることが分かった。

(3) 中央紡錘体の形成不全、細胞分裂極性の頂端基底方向への変化、細胞形態の非球形化などの細胞形態変化を伴っていたので、遺伝学的にそれらを変化させる実験を行ったところ、の性質が二核化に最も重要であることが分かった。また、を変化させる様々な突然変異体または RNAi 系統を検索した結果、微小管結合タンパク質の1つである Mud/NuMA (Mushroom body defect) のうち、特定のスプライシングバリエントが重要な役割を果たすことが明らかとなった。この因子が失われると、附属腺細胞は二核化を起こしにくくなり、また通常の細胞分裂を行う細胞にこの因子を強制発現させると、異所的な二核化が起きた。この因子がどのようなメカニズムによって二核化を誘導しているのか、詳細な分子メカニズムについてはまだ解明されていないが、以上により現時点で、二核細胞形成のための因子が特定されたと結論できる (Taniguchi et al. submitted)。

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5件)

1. The homeodomain protein defective proventriculus is essential for male accessory gland development to enhance fecundity in *Drosophila*.
Minami, R., Wakabayashi, M., Sugimori, S., Taniguchi, K., Kokuryo, A., Imano T., Adachi-Yamada T., Watanabe, N. and

Nakagoshi, H.

PLoS One, 7, e32302 (2012)

2. Binucleation of *Drosophila* Adult Male Accessory Gland Cells Increases Plasticity of Organ Size for Effective Reproduction.
Taniguchi, K., Kokuryo, A., Imano, T., Minami, R., Nakagoshi, H. and Adachi-Yamada, T.
Biol. Syst., 1, e101 (2011)

[学会発表](計34件)

1. Isoform-specific functions of Mud/NuMA mediate binucleation of *Drosophila* male accessory gland cells
谷口, 國領, 今野, 南, 中越, 安達
55rd Annual *Drosophila* Research Conference (2014.3.26-30, アメリカ, サンディエゴ)
2. Acquisition of apoptosis-resistances in *Drosophila* accessory gland exocrine cells
谷口, 安達
新学術領域研究「上皮管腔組織形成」第1回国際シンポジウム (2013.6.22-23, 札幌)
3. Mud/NuMA はショウジョウバエ雄生殖器附属腺において細胞二核化を制御する
谷口, 國領, 今野, 南, 中越, 安達
第65回日本細胞生物学会大会 (2013.6.19-21, 名古屋)
4. Elimination of malfunctioning cells in *Drosophila* male accessory gland, a non-regenerative tissue
谷口, 安倍, 南, 今野, 國領, 中越, 安達
第35回日本分子生物学会年会 (2012.12.11-14, 福岡)
5. Cytokinesis-deficient binucleation in *Drosophila* accessory gland for providing plasticity of organ size
谷口, 國領, 今野, 坂田, 南, 中越, 安達
BSCB/BSDB/JSDB Joint Spring Meeting 2012 (2012.4.15-18, イギリス, コヴェントリー)
6. Cytokinesis-deficient binucleation in *Drosophila* accessory gland for providing plasticity of organ size
谷口, 國領, 今野, 坂田, 南, 中越, 安達
53rd Annual *Drosophila* Research Conference (2012.3.7-11, アメリカ,

- シカゴ)
7. Cytokinesis-deficient binucleation in *Drosophila* accessory gland for providing a higher level of plasticity of organ size
谷口, 國領, 今野, 坂田, 南, 中越, 安達
第 34 回日本分子生物学会年会 (2011.12.13-16, 横浜)
 8. ショウジョウバエ Dve は附属線の細胞死阻害によってオスの繁殖力を高める
南, 若林, 杉森, 谷口, 國領, 今野, 安達, 渡辺, 中越
第 34 回日本分子生物学会年会 (2011.12.13-16, 横浜)
 9. Cytokinesis-deficient binucleation in *Drosophila* accessory gland for providing plasticity of organ size
谷口, 國領, 今野, 坂田, 南, 中越, 安達
第 63 回日本細胞生物学会大会 (2011.6.27-29, 札幌)
 10. Cytokinesis-deficient binucleation in *Drosophila* accessory gland for providing plasticity of organ size
谷口, 國領, 今野, 坂田, 南, 中越, 安達
1st Asia-Pacific *Drosophila* Research Conference (2011.5.22-25, 台湾, 台北)
 11. Cytokinesis-deficient binucleation as a strategy for tissue enlargement in *Drosophila*
谷口, 國領, 今野, 南, 中越, 安達
第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会 (2010.12.7-10, 神戸)
 12. Cytokinesis-deficient binucleation of *Drosophila* accessory gland cells as a strategy for better reproductive success
谷口, 國領, 今野, 南, 中越, 安達
2nd Joint Meeting of the SFB and JSDB 2010 (2010.5.26-28, フランス, パリ)
 13. Male fertility depends on proper differentiation of accessory gland in *Drosophila*
南, 谷口, 國領, 今野, 安達, 中越
51st Annual *Drosophila* Research Conference (2010.4.7-11, アメリカ, ワシントン)
 14. Analysis of binucleation in *Drosophila* male accessory gland cell
谷口, 國領, 今野, 南, 中越, 安達
第 32 回日本分子生物学会年会 (2009.12.9-12, 横浜)
 15. Centrosome dynamics and binucleation in *Drosophila* adult male accessory gland
今野, 國領, 谷口, 南, 中越, 安達
第 32 回日本分子生物学会年会 (2009.12.9-12, 横浜)
 16. Normal development of accessory gland is crucial for male fertility in *Drosophila*
南, 谷口, 國領, 今野, 安達, 中越
第 32 回日本分子生物学会年会 (2009.12.9-12, 横浜)
 17. Polo is required for proper cell differentiation of main cells in adult male accessory gland
國領, 南, 今野, 谷口, 中越, 安達
日本ショウジョウバエ研究会第9回研究集会 (2009.7.6-8, 掛川)
 18. Male fertility depends on normal differentiation of accessory gland
南, 國領, 安達, 中越
日本ショウジョウバエ研究会第9回研究集会 (2009.7.6-8, 掛川)
- [図書](計2件)
6. 研究組織
(1)研究代表者
安達卓 (Takashi Adachi-Yamada)
学習院大学・理学部・教授
研究者番号: 20221723