

母親から子に伝播されるステロール類が初期発生過程に与える影響：ショウジョウバエを用いた研究

平野 陽太（筑波大学 生物学類） 指導教員：丹羽 隆介（筑波大学 生命環境系）

背景・目的

全ての多細胞生物は受精卵から発生が始まる。受精卵が適切に胚発生を遂行するためには、「母性因子」と呼ばれる様々な物質が母親から子（受精卵）に供給されることが重要である。従来の研究から、母性因子としては、転写因子やそれらをコードする mRNA などの発生調節因子がよく知られている。しかし、生命活動においてより根本的な栄養分がいかに母親から供給されるのか、またその母親由来の栄養分が次世代の発生においてどのような重要性をもつのかについては、未解明な部分が多い。

この疑問に答えるために私は、発生生物学的知見が豊富なキロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* (以下、ショウジョウバエ) を材料として、母親から供給される栄養成分の 1 つであるステロールに着目した研究を行った。ショウジョウバエを含む昆虫において、ステロールは、発生過程の進行を調節するステロイドホルモンであるエクジステロイドの前駆物質である^[1]。エクジステロイドは胚発生に必須であるが、胚エクジステロイド生合成における母性ステロールの意義はこれまでほとんど検討されていない。一方で、イエバエ *Musca domestica* を用いた先行研究において、ステロールを摂取させていない成虫が産んだ卵の孵化率が著しく低いという報告がある^[2]。この結果から、親のステロール栄養状態が子の発生に影響を与えることが示唆される。本研究では、ショウジョウバエを用いてこの先行研究の内容を再検討しつつ、母親から子へ供給される母性ステロールの胚発生および胚エクジステロイド生合成における重要性を追究した。

方法

(1) エサの調製とショウジョウバエの飼育

本研究では、メス成虫に与えるエサ中のステロール量を操作することが重要となる。そこで私は、微量のステロールしか含まない酵母粉末 (Sigma Yeast Autolysate) ^[3] で作ったエサおよびそれにステロールを添加したエサを実験に用いた。羽化直後のメス成虫を集め、同一のステロール量を含有したエサしか摂食できない環境で未交尾状態のまま 7 日間飼育した後、オスと交尾させ受精卵の回収を始めた。交尾後もステロール環境は維持した。ステロールとして、コレステロールおよび 7-デヒドロコレステロール (いずれも Sigma 製)、また練り酵母にそれぞれを混ぜたものを用いた。

(2) 産卵数、孵化率の計測

オスとの交尾後 24 時間周期で受精卵を回収し、それぞれのエサで飼育したメス成虫の産卵数を計測した。採卵後 24 時間以上経ってから孵化した幼虫の数を計測し、孵化率を計算した。

(3) 胚の発生段階の観察

交尾済みメスに 3 時間産卵させて受精卵を回収し、その受精卵に対して抗 FasIII モノクローナル抗体 7G10 (Developmental Studies Hybridoma Bank より入手) による免疫組織化学染色を行った。FasIII とは上皮構造に局在するタンパク質である^[4]。これにより胚の外形観察を容易にし、胚の発生段階の割合を計測

した。また、活性型エクジステロイドである 20-ヒドロキシエクジソン (20E; Enzo 製) は、正常発生時にその胚内の濃度がピークとなる時期に投与した。

(4) 各種ステロールを摂取したメス成虫が産んだ子の発生の観察
交尾済みメス成虫が産んだ受精卵を 24 時間周期で回収し、微量のステロールしか含まないエサで飼育して、発生を観察した。

結果

メス成虫の産卵数に関してはエサ中のコレステロールの有無によって著しい差は見られなかった一方で、孵化率に関しては劇的な差が見られた。コレステロールを与えたメス成虫の産んだ受精卵の孵化率は 90% 前後であったが、コレステロールを与えていないメス成虫の産んだ受精卵の孵化率は交尾後 2 日目以降で 10% 以下であった。

コレステロールを与えていないメス成虫が産んだ交尾後 3~5 日の受精卵の胚発生過程を観察したところ、胚性致死を示した胚 (N=315) の約 40% はエクジステロイド生合成酵素遺伝子の突然変異株と酷似した形態異常を示した。これらの胚に 20E を投与することによって、形態異常を示す胚の割合は大きく減少した。この結果は、母親から卵に供給されるステロールは、胚発生過程におけるエクジステロイド生合成に重要であることを示唆する。

また私は、各種ステロールを十分に与えたメス成虫が産んだ受精卵を、低ステロール環境で飼育し、その後の発生過程を調べた。その結果、孵化後にステロールを十分に摂取していないにもかかわらず、一部の個体が 2 齢幼虫まで進行し、さらにごく一部は蛹や成虫まで進行することが明らかになった。この結果は、母親から供給されるステロールは、子の発生を胚発生過程以降においてもある程度保証することを示唆する。

考察

今回の結果から、母親から子へと供給されるコレステロールがエクジステロイドの材料となり、胚発生を進行させるのに必要であると考えられる。今後は、コレステロールを与えた成虫と与えていない成虫のそれぞれが産んだ受精卵に、実際にどの程度のコレステロールが蓄積しているのかを調べる必要がある。

また、今回の私の研究から、ショウジョウバエは、母親から供給されるステロールのみで、胚発生のみならず孵化後の発生をもある程度進行させることが確認された。このことは、母性因子としての栄養は、発生過程を通じて広範な発生段階に影響を及ぼすことを示している。この発見は、母性因子の新たな一面を明らかにしたものであり、発生生物学的に重要である。

参考文献

- [1] Spindler et al. (2009) *Cell Mol Life Sci* 66: 3837-3850.
- [2] Monroe R.E. (1959) *Nature* 4697: 1213.
- [3] Carvalho et al. (2010) *Development* 137: 3675-3685.
- [4] Patel et al. (1987) *Cell* 48: 975-988