

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏 名	小野 雅弥		
審査委員	主査	佐賀大学	准教授 吉賀 豊司
	副査	佐賀大学	教授 早川 洋一
	副査	鹿児島大学	教授 津田 勝男
	副査	鹿児島大学	准教授 坂巻 祥孝
	副査	佐賀大学	准教授 徳田 誠
審査協力者	印		
題 目	The evasion mechanism of bacterial-feeding nematodes from insect immunity (線虫による昆虫免疫からの回避機構)		
<p>線虫のような多細胞生物に対して、昆虫は主に血球細胞による包囲化などの細胞性免疫を用いて対処する。そのため線虫が昆虫に寄生する際には、その細胞性免疫を回避・抑制することが必要不可欠であるが、線虫が包囲化を回避・抑制するメカニズムはまだはっきりとはわかっていない。本研究は、線虫が昆虫の細胞性免疫を回避・抑制するメカニズムの解明を目標に行われた。線虫をチョウ目のハチノスツヅリガ幼虫の血体腔に注入し、線虫に対する昆虫の細胞性免疫を調査したところ、死んだ線虫に対しては包囲化がみられたものの、生きた線虫に対しては昆虫病原性線虫だけでなく、<i>Caenorhabditis elegans</i> のような非寄生性の細菌食性線虫に対しても包囲化が起こらなかった。注入した <i>C. elegans</i> は昆虫血体腔内で成長・増殖し、やがて昆虫は死亡したことから血体腔内に侵入することができれば病原性を示すことが示唆された。また、線虫に対する血球反応を <i>in vitro</i> において観察したところ、ハチノスツヅリガ幼虫の血球は殺した線虫に対しては付着したが、生きた線虫に対しては昆虫病原性線虫だけでなく <i>C. elegans</i> の表面にもほとんど付着しないことが明らかとなった。</p>			

血球による付着や包囲化が生きた線虫で起こらないメカニズムを明らかにするために線虫が血球に及ぼす影響を調査したところ、*C. elegans*を血体腔内に注入しても昆虫の血球の死亡率は低かったが、血体腔内の血球量が減少した。In vitroでの線虫と血球の共存させると*C. elegans*が血球を摂食していることが観察され、血体腔内の血球減少は線虫の摂食によることが示唆された。*C. elegans*の摂食変異体を注入した場合には血球の減少も、宿主昆虫の死亡も認められなかったが、血球数が減少しなくても線虫の包囲化が生じなかったため、摂食による血球の減少によって線虫が包囲化を回避しているのではないと考えられた。免疫回避方法として、線虫の体表面物質が血球の付着を阻害していると考え、血球が異物に付着する際に必須な形態変化であるspreadingに着目し、線虫の体表物質によるspreading阻害効果を調査した。さらに、線虫を血体腔内に注入した際の血球のspreadingに及ぼす影響を調査した。*C. elegans*のヘキササン抽出物は血球のspreadingを阻害した。ヘキササン抽出物を2次元薄層クロマトグラフィーで分画することによってspreading阻害活性をもつスポットが検出され、これは精製したクチクラからの抽出物中にも検出された。また同スポットは昆虫病原性線虫や自活性線虫のヘキササン抽出物中にも認められたことから、この阻害物質は細菌食性線虫に共通して存在し、それはクチクラに存在することが示唆された。さらに、*C. elegans*を昆虫の血体腔に注入したときに、血球のspreadingは通常よりも遅れ、spreadingを引き起こす際の血球内のシグナル伝達経路に重要である血球内のリン酸化ERKが減少した。これらの結果は昆虫病原性線虫と同様に非寄生性の細菌食性線虫が前適応として細胞性免疫を回避・抑制する能力を有していることを示唆している。

以上のように、本研究は寄生性線虫だけでなく非寄生性の細菌食性線虫においても昆虫の細胞性免疫を回避する能力があることを初めて明らかにしたものである。また、その回避メカニズムにおいては、線虫の体表に血球のspreadingを阻害する効果のある物質が存在すること、さらに線虫は血球のspreadingを引き起こす際に必須なERKのリン酸化にも影響していることを初めて明らかにした。したがって、審査員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として十分な価値があるものと認定した。