

氏 名	う え ん で い ん は い い ん NGUYEN DINH HAI YEN
学位(専攻分野)	博 士 (学 術)
学 位 記 番 号	博 甲 第 1 1 0 1 号
学位授与の日付	令和 5 年 9 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 ・ 専 攻	工芸科学研究科 物質・材料化学専攻
学 位 論 文 題 目	Function of lipid metabolism-related proteins in developments of salivary gland and nervous system of <i>Drosophila melanogaster</i> (ショウジョウバエの唾液腺および神経系の発生における脂質 代謝関連タンパク質の機能)
審 査 委 員	(主査)教授 亀井加恵子 教授 堀内 淳一 准教授 吉田 英樹

論文内容の要旨

脂質は、生体のエネルギー源であるとともに、生体膜の構成成分、シグナル分子としても多様な機能を担う分子であり、脂質の合成、分解および貯蔵すなわち脂質代謝の調節は生命活動において必須であるが、その機能の全容は明らかとはなっていない。本学位論文は生命現象における脂質代謝の機能解明の一端を明らかにしたものであり、4章から構成されている。

第1章「General Introduction」では、本研究の背景と目的を述べている。背景として、まず本研究で対象としたショウジョウバエの脂質代謝関連因子である Lipid Storage Droplet (LSD)-2 と Lipin について概説した。さらに、ヒトのモデルとしてのショウジョウバエの有用性について解説するとともに、GAL4-UAS システムによって、特定の遺伝子をショウジョウバエの部位特異的にノックダウンあるいは過剰発現させることが可能になることを説明している。次に、本研究論文の目的が、ショウジョウバエの LSD-2 と Lipin についてそれぞれ唾液腺と中枢神経系における機能を解明することであると述べている。

第2章「Dysfunction of lipid storage droplet-2 suppresses endoreplication and induces JNK pathway-mediated apoptotic cell death in *Drosophila* salivary glands」では、唾液腺における LSD-2 の機能についての研究成果をまとめている。まず、実験の背景で脂肪滴について紹介している。脂肪滴は、脂質を貯蔵する、リン脂質一重膜に囲まれた細胞内小器官であり、細胞内輸送経路や炎症反応に関係するとともに、非脂肪細胞では脂質毒性からの細胞の保護を担っている。哺乳類のペリリピン2のホモログであるショウジョウバエ LSD-2 は、脂肪滴膜上に存在し、脂肪滴中の脂肪分解酵素を制御することが知られているが、発生過程における LSD-2 の機能は未解明である。本論文では、LSD-2 の機能を解析するために、GAL4-UAS システムを用いて唾液腺特異的に LSD-2 遺伝子をノックダウンした結果、3 齢幼虫の唾液腺が有意に小さいことを見出した。Lsd-2 ノックダウン系統の3 齢幼虫の唾液腺は、細胞数はコントロールとほぼ同じ(100~110 細胞/葉)であったが、分泌細胞の細胞核は有意に小さく、DNA 含量も減少しており、細胞骨格が破壊されていた。これらの結果は LSD-2 の枯渇は核内倍加を抑制し、ポリテニーレベルの低下をもたらしたことを示し

ている。さらに詳細にその機構を解析し、3 齢幼虫の初期の段階において **LSD-2** の枯渇は **CycE** の発現を誘導し、DNA 損傷を誘導することによって、唾液腺細胞の核内倍加サイクルへの進入を阻害し、遅延させることを明らかにした。また、**LSD-2** 遺伝子のノックダウンは、唾液腺における活性酸素種の産生を亢進し、**dMyc** の発現を抑制することによって **JNK** 依存性のアポトーシスを促進した。また、**LSD-2** 遺伝子ノックダウン系統では、3 齢幼虫後期において唾液腺の細胞構造が完全に破壊されていた。これらは、**LSD-2** が **Myc** の発現を制御することにより、ショウジョウバエの唾液腺における核内倍加と細胞死の両方を制御している可能性を示唆するものである。これらの結果より、ショウジョウバエ唾液腺の発生制御および核内倍加サイクルの進行における **LSD-2** の新たな機能を見出したと結論している。

第3章「*Lipin knockdown in pan-neuron of Drosophila induces reduction of lifespan, deficient locomotive behavior, and abnormal morphology of motor neuron*」では、神経の発生における **Lipin** の機能に関する研究成果を述べている。**Lipin** は、ホスファチジン酸からジアシルグリセロールへの変換を触媒するホスファチジン酸脱リン酸化酵素であり、トリグリセリドの形成に寄与している。さらに、**Lipin** は細胞核内へ移行し、転写共調節因子としてミトコンドリアにおける脂肪酸の β 酸化を制御する遺伝子の発現を制御する。本研究では、**Lipin** がショウジョウバエの中枢神経系の一部である大脳半球と腹神経節の神経細胞の細胞質に局在していることを発見した。**GAL4/UAS** システムを用いて神経細胞特異的に **Lipin** をノックダウンし、その行動と細胞の表現型を調べた。**Lipin** をノックダウンしたショウジョウバエ幼虫は、運動活性の低下、神経筋接合部における運動神経末端の形態異常、中枢神経系における脂質滴の数とサイズの減少を示した。さらに、神経細胞特異的な **Lipin** ノックダウンは、成体期における **ATP** レベルの減少を伴い、運動能力の欠陥と寿命の短縮をもたらすことを明らかにした。これらの表現型は神経変性疾患の症状と似ていることから、**Lipin** の機能破綻が神経変性疾患に関連している可能性を指摘している。

第4章「**Conclusion**」では、第2章および第3章で述べた研究成果をまとめている。

論文審査の結果の要旨

脂質は、生体のエネルギー源だけでなく、生体膜の構成成分、シグナル分子として多様な機能を担う分子であり、脂質代謝すなわち脂質の合成、分解および貯蔵の調節は生命活動において必須である。しかし、生命現象における脂質代謝の機能の全容は明らかとはなっていない。本学位論文は、ヒトのモデルとしての有用性が知られているショウジョウバエを用い、発生過程における脂質代謝の機能を解明することを目的とした研究成果をまとめている。

本論文では、脂質代謝に関連する因子の中から、ショウジョウバエの **Lipid Storage Droplet (LSD)-2** と **Lipin** を取り上げ、それぞれ唾液腺および神経における機能を解析している。**LSD-2** は、細胞に普遍的に存在する脂肪滴に存在し、脂質分解酵素の活性を調節することによって、脂質の分解と貯蔵を制御している。申請者は、核内倍加によって巨大な多糸染色体を形成するショウジョウバエ唾液腺に着目し、唾液腺特異的に **LSD-2** 遺伝子をノックダウンすると唾液腺分泌細胞の細胞核が有意に小型化し、その結果、小さな唾液腺が形成されることを見出した。その機構

を詳細に解析し、LSD-2 がショウジョウバエの唾液腺における核内倍加と細胞死の両方を制御している可能性を見出した。これは、ショウジョウバエ唾液腺の発生制御および核内倍加サイクルの進行における LSD-2 の新たな機能の発見である。

Lipin は、ホスファチジン酸脱リン酸化活性によってジアシルグリセリドを合成することによって、トリグリセリドの形成に寄与する。また、Lipin は細胞核内へ移行し転写共調節因子としてミトコンドリアにおける脂肪酸の β 酸化を制御する遺伝子の発現を制御する。本申請論文では、Lipin をショウジョウバエの神経細胞特異的にノックダウンすることによって、運動活性の低下、神経筋接合部における運動神経末端の形態異常、中枢神経系における脂質滴の数とサイズの減少が誘導されることを見出した。さらに、神経細胞特異的な Lipin の枯渇は、成体期における ATP レベルの減少を伴い、運動能力の低下と寿命の短縮をもたらすことを明らかにした。これらの表現型は神経変性疾患の症状と似ていることから、申請者は Lipin の機能破綻と神経変性疾患が関連している可能性を指摘している。

本申請論文は、LSD-2 は唾液腺、Lipin は神経の正常な形成に関与していることを見出し、発生過程における脂質代謝の重要性を明らかにした優れた研究成果をまとめたものである。また、Lipin と神経変性疾患との関連性を示唆している点においても、本申請論文は高く評価できる。

本論文の内容は、査読制度のある学術雑誌に掲載済みの下記 2 編の論文を基礎としている。

1. Tran Duy Binh, Yen D. H. Nguyen, Tuan L. A. Pham, Kenichi Komori, Thanh Q. C. Nguyen, Masahide Taninaka & Kaeko Kamei. Dysfunction of lipid storage droplet-2 suppresses endoreplication and induces JNK pathway-mediated apoptotic cell death in *Drosophila* salivary glands. Scientific Reports, 2022, 12, 4302. DOI: 10.1038/s41598-022-08299-6.
2. Yen D. H. Nguyen, Hideki Yoshida, Tran Thanh Men & Kaeko Kamei. Lipin knockdown in pan-neuron of *Drosophila* induces reduction of lifespan, deficient locomotive behavior, and abnormal morphology of motor neuron. NeuroReport, 2023, 34(12):629-637. DOI: 10.1097/WNR.0000000000001936.