

(様式第 3 号)

## 学 位 論 文 要 旨

氏名: 松永 洋平

題目: 線虫*Caenorhabditis elegans*の休眠・寿命制御機構に関する生物有機化学的研究  
( Bioorganically Chemical Studies on Control Mechanism of Diapause and Longevity in the Nematode *Caenorhabditis elegans* )

線虫(*Caenorhabditis elegans*) において、IIS (insulin/insulin-like growth factor-1 signaling) 経路は幼虫休眠ならびに成虫寿命を制御する重要な経路である。この経路には、線虫のインスリン受容体様タンパクである DAF-2 受容体、ならびに、FOXO (forkhead box O) 転写因子のホモログである DAF-16 転写因子が存在する。DAF-2 受容体の不活性化は IIS の減少を引き起こす。その結果、下流に存在する DAF-16 転写因子は核内へ移行し、幼虫休眠ならびに成虫寿命の延長が誘導される。この IIS 経路の活性化あるいは不活性化は DAF-2 受容体のリガンドであるインスリン様ペプチドによって調節される。このインスリン様ペプチドはアゴニスト(亢進剤)とアンタゴニスト(拮抗剤)に大別される。現在、*C. elegans* のインスリン様ペプチドはゲノム配列情報等から 40 種類存在すると推定されており、予想されるジスルフィド結合の様式から type- $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  の 3 グループに分類される。このうち、type- $\gamma$  に属するインスリン様ペプチドは哺乳動物と同様の 3 対のジスルフィド結合を保存している。当研究室では、type- $\gamma$  に属するインスリン様ペプチド、INS-11、INS-17、INS-18 をコードする遺伝子を世界に先駆けて同定した。INS-11 は脂質代謝の制御に関与するが、INS-17、INS-18 の機能は不明なままであった。一方、type- $\beta$  に属するインスリン様ペプチドは 4 対のジスルフィド結合を保存しており、INS-6、INS-7、DAF-28 がアゴニストとして機能し、幼虫休眠ならびに成虫寿命を制御することが報告されている。また、type- $\alpha$  に属するインスリン様ペプチドに関しては、INS-33 が生殖制御に関与するという報告のみで、生理機能に関する報告は少ない。

本研究では、幼虫休眠、成虫寿命を制御するインスリン様分子のうち、生理機能解析の進展が乏しい type- $\gamma$ 、 $\alpha$  に属するインスリン様ペプチドの生理機能の解明を目標とし、幼虫休眠、成虫寿命を中心とした表現型ならびに発現部位の解析を行った。本研究では、インスリン様ペプチドを基軸として *C. elegans* の幼虫休眠・成虫寿命制御機構の全容解明に迫ることを目的とする。

第 1 章では、INS-18 の①生理機能、②発現部位、③発現制御機構を中心に解析した。① INS-18 はアンタゴニストとして機能し、幼虫休眠ならびに成虫寿命の制御に関与することを明らかにした。②通常の生育段階では、INS-18 は頭部ならびに尾部神経細胞における発現が認められた。興味深いことに、幼虫休眠期ならびに成虫期においてのみ腹部神経細胞における特異的な発現が認められた。このような発現パターンを示すインスリン様ペプチドは INS-18 のみである。③IIS 下流に位置する転写因子 DAF-16 の機能抑制を行ったところ、頭部、尾部、腹部神経細胞における INS-18 の発現が減少した。*ins-18* プロモーター領域に DAF-16 認識配列(GTAAAt/cA)が存在することから、下流の転写因子 DAF-16 が上流のリガンド分子 INS-18 の発現制御を行うフィードバック機構が存在する可能性が考えられた。

第2章では、INS-17の①生理機能、②発現部位、③発現制御機構を中心に解析した。①INS-18と類似した構造を有するINS-17は、アンタゴニストとして機能し、幼虫休眠の制御のみに関与し、成虫寿命制御には関与しないことを明らかにした。②INS-17は頭部神経細胞における発現が認められ、幼虫休眠期においてのみAVG介在神経細胞における特異的な発現が認められた。介在神経細胞において発現するインスリン様ペプチドはINS-17のみである。③IIS下流に位置する転写因子DAF-16(-)条件下において、頭部神経細胞におけるINS-17の発現が減少した。*ins-17*プロモーター領域にDAF-16認識配列が存在することから、下流の転写因子DAF-16が上流のリガンド分子INS-17の発現制御を行うフィードバック機構が存在する可能性が考えられた。これは、INS-18の場合と同様である。

第3章では、type- $\gamma$ から幼虫休眠ならびに成虫寿命の制御に関与するインスリン様ペプチドとして、新たにINS-12を同定し、①生理機能、②発現制御機能について解析した。①INS-12はアンタゴニストとして機能し、幼虫休眠ならびに成虫寿命の制御に関与すると予測した。②*ins-12*プロモーター領域にDAF-16認識配列が存在し、DAF-16(-)条件下において*ins-12*転写量が減少したことから、下流の転写因子DAF-16が上流のリガンド分子INS-12の発現制御を行うフィードバック機構が存在する可能性が考えられた。INS-18の場合と同様である。

第4章では、type- $\alpha$ から幼虫休眠の制御に関与するインスリン様ペプチドとして、新たにINS-35を同定し、①生理機能、②発現部位を中心に解析した。①INS-35はアゴニストとして機能し、幼虫休眠の制御に関与することを明らかにした。加えて、成虫寿命の制御にも関与すると予測した。②INS-35は頭部神経細胞ならびに腸組織における発現が認められ、興味深いことに、幼虫休眠期においてのみ腸管内への集積が認められた。さらに、腸管内に蓄積したINS-35は経時的に消失した。これは、ペプチドホルモンによるシグナル伝達を終焉させる新たな機構を提示するものである。

総合討論では、上述の結果を踏まえて、【生理機能】、【生理機能と発現部位の関係性】、【転写制御機構】、【分泌・分解機構】を議論し、インスリン様ペプチドによる幼虫休眠・成虫寿命制御の全容解明に迫った。