

氏名	齋藤隆一		
学位の種類	博士（ 生物工学 ）		
学位記番号	博 甲 第 9075 号		
学位授与年月日	平成31年 3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Genetic Studies on the Quick Avoidance Behavior to <i>Pseudomonas aeruginosa</i> in <i>Caenorhabditis elegans</i> (線虫における緑膿菌に対する迅速な忌避行動の遺伝学的研究)		
主査	筑波大学准教授 (連携大学院)	博士(理学)	戸井基道
副査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉
副査	筑波大学教授	博士(工学)	野村暢彦
副査	筑波大学教授 (連携大学院)	博士(農学)	木村信忠

## 論 文 の 要 旨

本論文は、腸と神経系との相互作用を制御する分子機構に注目し、特にモデル生物線虫体内に取り込まれた腸内細菌による急性的な行動制御機構の解明を目的として研究を行い、その内容について記述したものである。

第1章では序論として、まず腸と神経系の相互作用機構についてのこれまでの研究と、それにより推定される細胞生理メカニズムについてその現状を記述している。特に、病原性細菌などの危険要因を取り込んだ際に想定される急性的な行動制御機構の理解が遅れていることを踏まえ、これまでの研究の問題点を論じている。引き続きこの問題解決に有効な方針として、モデル生物線虫 (*C. elegans*) の実験生物学的特徴を記述し、線虫における病原性細菌等に対する神経行動学的見地から行われた研究をまとめている。その結果、急性的な行動変化を詳細に解析した研究が欠如しており、その解析に向けた新たな解析系の開発と、急性的な行動変化の遺伝機構の解明を本論文の目的とすることを論じている。

第2章では、線虫が病原性細菌の摂取により引き起こす急性的な行動変化の存在と、それを検出するためのアッセイシステムの構築について述べている。著者はまず、病原性細菌である緑膿菌 (*P. aeruginosa*) の培養条件と、それを摂取する線虫の培養条件や成長ステージを検討している。様々な組み合わせの中から、線虫が緑膿菌に対して30分以内というこれまでに報告のない非常に速い時間で行動変化を起こすことを見出している。この急速な行動変化を引き起こすための緑膿菌の培養条件が低温であること、また線虫の成長ステージが成虫であることから、培養温度と成長ステージに特異的なリガンドと受容体の組み合わせが存在し、それにより急性的な忌避行動変化が誘起される可能性について考察している。

第3章では、構築したアッセイ系を用いて行った、迅速な忌避行動に異常を示す突然変異体の単離と、そこから得られた新規突然変異体の分子遺伝学的解析を行い、その結果について述べている。著者は、突然変異誘発した線虫集団の中から、F2/F3世代においても有意に弱い忌避応答を示す候補系統の単離に成功している。

その中から最も顕著な表現型異常を示す系統に注目し、ポジショナルクローニングによりその原因遺伝子を同定している。その結果、N末端にF-box領域を有する新規タンパク質をコードするfbxc-58遺伝子が、迅速な忌避行動を制御する遺伝子であることを判明している。fbxc-58遺伝子の発現パターン解析とその発現組織に対する組織特異的な機能回復実験を行い、その結果、腸におけるFBXC-58タンパク質が線虫の緑膿菌に対する迅速な忌避行動を制御していることを明らかにしている。さらに、線虫が有する病原性細菌に対する免疫応答系に焦点を当て、その免疫応答を制御するp38/MAPK経路とインシュリン経路を構築する遺伝子群それぞれについて解析し、両遺伝子経路の中の一部の遺伝子突然変異体のみが緑膿菌に対する忌避行動に異常を示しており、保存された遺伝子経路そのものが忌避行動を制御していないことを見出している。

第4章では総合討論として、第2章で構築した新規アッセイ系を用いたことで見出された急性的な神経活動変化（迅速な忌避行動）の生理的意義について考察している。また著者は、第3章から見出した忌避行動制御に関与する遺伝子群とその機能から、想定される分子メカニズムについて考察している。これらの研究内容をもとに、線虫腸・神経系の制御機構の解明から得られるヒト神経疾患への貢献について議論している。

## 審 査 の 要 旨

腸内環境、特に腸内細菌叢と神経機能や神経疾患との関連が盛んに議論されているが、腸内細菌による神経活動制御の詳細なメカニズムは依然として疑問点が多い。今回著者は、線虫と緑膿菌の組み合わせを用い、非常に急速に引き起こされる行動変化を見出すアッセイ系を世界に先駆けて構築している。このモデルを用いることで、新規の遺伝子同定のみならず、既存の分子パスウェイの中から、新たな分子機構が存在する可能性を見出している。本アッセイ系が構築された経緯とその独自性について審査・議論し、見られた行動変化が生じた原理を明確にしていると評価できる。したがって、本論文により構築されたアッセイ系の有効性は高く、様々な細菌培養状態との組み合わせや、線虫体内の腸内環境の詳細な解析と併せることで、腸内細菌集団と個体の行動変化について、従来解析では見出せられなかった新規の現象を明らかにすることも期待される。

平成 31 年 1 月 11 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。

その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（ 生物工学 ）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。