

氏名	井村 英輔		
学位の種類	博 士 (理学)		
学位記番号	博 甲 第 9 4 4 6 号		
学位授与年月日	令和2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	Identification and Functional Characterization of The Neuronal Pathway Regulating Insect Steroid Hormone Biosynthesis (昆虫ステロイドホルモン生合成を調節する神経経路の同定と機能解明)		
主査	筑波大学教授	博士 (理学)	丹羽 隆介
副査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学教授	理学博士	小林 悟
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	千葉 親文

## 論 文 の 要 旨

本論文で著者は、モデル動物キイロショウジョウバエ*Drosophila melanogaster*を用いて、動物の成長に関与する神経内分泌メカニズムについての研究を行い、コラゾニンと呼ばれる神経ペプチド、およびこの神経ペプチドを発現する神経細胞によって構成される神経経路が必須の役割を担うことを明らかにしている。

序論において著者は、動物の発生過程において、幼体から成体へと切り替わる成熟プロセスの制御メカニズムについて論じている。一般に、動物の成熟には、ステロイドホルモンが適切なタイミングで適切に生合成され、そして全身の組織・器官に作用することが重要である。また、ステロイドホルモン生合成のタイミング制御には、上位系として神経系および内分泌系が深く関与する。

キイロショウジョウバエは、ステロイドホルモン生合成の神経-内分泌制御を研究する優れたモデル系として用いられている。これまでの研究から、昆虫の主要なステロイドホルモンであるエクジソンは、幼虫から蛹への成熟プロセスに必須であること、前胸腺と呼ばれる内分泌器官で生合成されること、またエクジソンの生合成を制御する神経細胞として前胸腺刺激ホルモン (PTTH) 産生ニューロンとセロトニン産生 $SE0_{pg}$ ニューロンの2つが存在することが知られている。しかし著者は、エクジソン生合成が個体内外の様々な環境変動に応じて柔軟に調整される事実を鑑み、形態あるいは機能が未記載のエクジソン生合成制御神経の同定と機能解析を目指したと述べている。

結果において著者はまず、一般に公開されている米国のショウジョウバエ脳神経系画像データベースの情報を基づき、前胸腺に投射する神経細胞候補としてコラゾニン産生神経細胞を見出した。著者は、トランスジェニック技術および電子顕微鏡技術によって、このコラゾニン産生神経が前胸腺とシナプス結合を作形成していることを確認した。次に著者は、コラゾニン神経細胞の神経活動を抑制した場合には、ショウジョウバエ幼虫および蛹の体サイズが顕著に大きくなる一方で、蛹化タイミングには顕著な変化がないことを見出した。さらに著者は、コラゾニン産生神経細胞活動抑制個体におけるエクジソン産生量を検討し、コラゾニン神経はエクジソンの基礎的分泌に関与するが、蛹化直前のサージ分泌には大きな影響を与えないことを発見した。これらの結果から著者は、コラゾニン産生神経細胞は、エクジソンの基礎的分泌を調節することで、体サイズの制御に関与すると結論づけている。

次に著者は、コラゾニンの受容機構に注目し、コラゾニン受容体遺伝子の解析を行っている。予想外なことに著者は、コラゾニン受容体は前胸腺では発現しておらず、PTTH産生神経細胞で高発現することを見出した。これを受けて著者は、コラゾニンはPTTH産生神経細胞に受け取られ、コラゾニンによって刺激されたPTTH産生神経細胞がエクジソンの基礎的分泌を制御する可能性の検討を開始した。著者は、PTTH産生神経細胞におけるコラゾニン受容体機能低下が、コラゾニン産生神経細胞の機能低下時と同様に、体サイズ増加に影響を与えることを確認した。また著者は、コラゾニン受容体がエクジソンの基礎的分泌が起きる時期に発現しており、サージ分泌期には低下することを見出した。さらに著者は、脳培養系に対するコラゾニンペプチドの投与が、コラゾニン神経の活性化を基礎的分泌期には引き起こすが、サージ分泌期には引き起こさないことを発見した。一連の結果を受けて著者は、PTTH産生神経のコラゾニンに対する感受性は、コラゾニン受容体の発現レベルによって調節されており、ゆえにコラゾニンはエクジソンの基礎的分泌期にのみ作用する時期特性があると論じている。

キイロショウジョウバエを用いた近年の研究から、キイロショウジョウバエの蛹化の前に生じる体サイズ増加の過程には、昆虫ステロイドホルモンであるエクジソンの基礎的な分泌が必要であること、またこの基礎的分泌の調節には前胸腺刺激ホルモン(PTTH)産生ニューロンが関与することが判明している。しかし、PTTH産生ニューロンには、発育時期に応じて基礎的分泌とサージ分泌の制御という異なる2側面があるが、この切り替えを担う制御システムの存在は不明であった。本論文において著者は、コラゾニン産生神経が、この切り替えを担うエクジソン生合成のさらなる上位系であること提唱している。一方で著者は、コラゾニン産生神経が前胸腺とシナプス結合をする結果を踏まえ、コラゾニンがPTTHだけでなく前胸腺にも直接作用することでエクジソン生合成を制御する可能性にも触れているが、これは将来の検討課題であるとしている。最後に著者は、コラゾニンが哺乳動物の思春期の誘導に関与するゴナドトロピン放出ホルモン(GnRH)の相同分子であることを指摘し、今回の著者の発見が哺乳動物の成熟過程におけるステロイドホルモン生合成や体サイズの制御への関与の可能性を論じている。

## 審 査 の 要 旨

近年、キイロショウジョウバエの蛹化の前に生じる体サイズ増加の過程には、昆虫ステロイドホルモンであるエクジソンの基礎的な分泌が必要であること、またこの基礎的分泌の調節にはPTTH産生ニューロンが関与することが知られていた。しかし、このPTTH産生ニューロンの活性がさらにどのような上位系によって調節されることが必要なのかは全く解明されておらず、昆虫内分泌学における重要な未解明課題と認識されていた。このような中で著者は、昆虫ペプチドホルモンであるコラゾニンがまさにその上位系であることを、分子遺伝学、発生生物学、神経科学、イメージングなどの複合的な技術を駆使して明らかにしており、その内容は質・量ともに申し分ない。コラゾニンは、哺乳動物のGnRHの相同分子であることを考えると、本発見は、昆虫内分泌学のみならず動物生理学一般の発展に大きく寄与するものと評価できた。

令和2年1月27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(理学)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。