

氏名・本籍	高垣 菜式 (兵庫県)
学位の種類	博士 (理学)
報告番号	甲第 113 号
学位授与の日付	令和 2 年 3 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
論文題目	メカノ受容体 DEG-1 を介した温度受容による <i>C. elegans</i> の低温耐性の制御
審査委員	(主査) 教授 久原 篤 (副査) 教授 日下部 岳広 (副査) 教授 渡辺 洋平

論文内容の要旨

生物は環境の変化に応答することで、多様な環境下において生存・繁殖することができる。環境情報の中でも温度は常に地球上に存在するため、温度に対する応答の分子機構の解明は重要な課題である。本研究では、モデル動物である線虫 *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) の低温耐性現象を解析モデルとして、動物の温度応答機構の解析をおこなった。線虫の低温耐性とは、20℃や 25℃で飼育した個体は 2℃に置かれると死滅するのに対し、15℃で飼育した個体は 2℃に置かれても生存できるという現象である。本研究では、次世代 DNA シーケンサーなどを用いた遺伝学的解析から、低温耐性を制御する新規遺伝子 *xdh-1* を同定した。この遺伝子は、ヒトのキサンチンデヒドロゲナーゼ (XDH) に高い相同性を示す。XDH はプリン体代謝経路の下流で働き、ヒポキサンチンからキサンチン、キサンチンから尿酸への二段階の水酸化反応を触媒する酵素である。*xdh-1* 遺伝子の発現細胞解析と *xdh-1* 変異体の細胞特異的回復実験から、XDH-1 は AIN と AVJ のわずか 2 つの介在ニューロンで低温耐性を制御することが示唆された。AIN と AVJ は介在ニューロンであるため、それらの上流に温度を感知する感覚ニューロンが存在する可能性が考えられた。AIN と AVJ 介在ニューロンの上流には ASG 感覚ニューロンなどのメカノ受容体が発現している感覚ニューロンが複数存在していた。そこでメカノ受容体に焦点を当て、低温耐性解析をおこなった結果、Degenerin/epithelial sodium channel (DEG/ENaC) タイプのメカノ受容体 DEG-1 の変異体において顕著な低温耐性異常が見られた。*deg-1* 遺伝子は ASG 感覚ニューロンで発現しているため、Ca²⁺ イメージングにより ASG 感覚ニューロンの温度に対する生理的応答を測定した。

その結果、野生株では、ASG 感覚ニューロンは温度に対して細胞内 Ca^{2+} 濃度を変化させるのに対し、*deg-1* 変異体ではその変化が顕著に低下していた。つまり ASG 感覚ニューロンの温度応答に DEG-1 が関与していることが示唆された。DEG-1 が温度受容体として機能するのかわかるために、温度上昇に反応しない ASE 味覚ニューロンに DEG-1 を強制的に発現させ温度上昇刺激を与えて細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化を測定した。その結果、DEG-1 を発現させた ASE において温度応答が観察された。さらに直接的に DEG-1 の温度受容能を解析するために、アフリカツメガエルの卵母細胞 (*Xenopus oocyte*) を用いた電気生理解析をおこなった。線虫の DEG-1 とそのヒトホモログである MDEG1 をそれぞれ発現させた卵母細胞に温度変化を与えたところ、いずれにおいても温度に対する応答が見られた。つまり DEG-1 と MDEG1 は機械刺激だけではなく温度も受容していることが示唆された。以上の結果は、ヒトを含む動物においてメカノ受容体 DEG/ENaC が温度を受容し、個体の温度耐性を制御していることを示した初めてのケースである。

審査結果の要旨

高垣 菜式氏の研究は、動物における温度受容の新規の分子機構を同定することを目的として、線虫 *C. elegans* の低温耐性を解析モデルとしておこなわれた。新規の低温耐性変異体の原因遺伝子の解析から、キサンチンデヒドロゲナーゼが頭部の 2 対の介在ニューロンで機能することが低温耐性に必須であることを明らかにした。さらに、それらの介在ニューロンが主にメカノ受容ニューロンと接続していることから、メカノ受容体に着目し、低温耐性にメカノ受容体が関わっていることを示唆した。さらに、メカノ受容体のひとつである DEG-1 を温度上昇刺激に反応しない味覚ニューロンに発現させることで、味覚ニューロンが温度変化に反応するようになった。また、DEG-1 とそのヒトホモログである MDEG1 をアフリカツメガエルの卵母細胞に導入することで、電気生学的に DEG-1 と MDEG1 が温度受容に関与していることが示唆された。本研究から、DEG/ENaC 型のメカノ受容体が温度受容情報伝達に関与し、動物個体の低温耐性を制御しているケースが初めて示された。

本研究の成果は、「第 42 回日本分子生物学会年会(2019 年、福岡)」と「22nd International *C. elegans* Conference (2019 年、Los Angeles)」のワークショップで口頭発表され、他の学会でも多数発表されている。また、成果の一部は、権威ある査読付の国際学術誌である *EMBO reports* 誌(副論文 1 編)に受理され、国内外において高い評価を受けている。それらの成果により高垣 菜式氏は、日本遺伝学会 Best ペーパー賞、The 8th Asia-Pacific *C. elegans* meeting, Poster Award や The Genetics Society of America and the *C. elegans* Conference Travel Award などを受賞している。2020 年 1 月 30 日、甲南大学学位規程に従い公開講演を行い、本論文に関する説明と質疑応答を行った。申請者の説明は明快であり、応答内容も十分満足できるものであった。

以上により下記審査委員は本論文提出者(高垣 菜式)が、博士後期課程の修了に必要な所定の単位を修得し、かつ、必要な研究指導を受け、博士論文の審査及び最終試験に合格したので、博士(理学)の学位を授与せられるに充分なる資格をもつものであると認める。