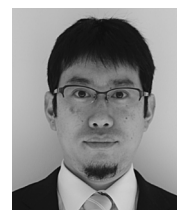


時間軸に注目した昆虫と線虫の発育調節機構の解明



筑波大学大学院生命環境科学研究科

「次代を担う若手大学人育成イニシアティブ」 助教 丹羽 隆介

はじめに

多細胞生物の発育の過程には、未成熟なステージから成熟に向けて、時間軸に沿った発育ステージが存在する。例えば完全変態昆虫であれば、卵から孵化した後に決まった時期に特定回の幼虫脱皮を繰り返し、その後蛹を経て成虫へと成長する。では、こうした各ステージから次のステージへの移行を決めるタイミングの分子機構、また幼虫なら幼虫特有の、蛹なら蛹特有の発育プログラムを実現させる分子機構は、どのようなものなのだろうか？ こうした多細胞生物の発育調節機構は、生物の進化（ヘテロクロニー）や、ヒトの疾患（発達障害、老化に伴う病気）にも大きな影響を持つことが古くから提唱されており、その分子的理解は重要な意味を持つ。しかしながら、時間軸に沿った発育過程のタイミングをどのような遺伝子が制御しているのか、その解明は大きく立ち後れている。

筆者らは、昆虫（キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster*, カイコ *Bombyx mori*）と線虫（*Caenorhabditis elegans*）という二つのモデル生物群を主たる研究材料として、生物発育のタイミング制御に関わる遺伝子の発掘と機能解析に従事してきた。昆虫と線虫は共に、時間軸に沿った発育段階の現象（幼虫段階、脱皮、変態、休眠、老化）が明確であるので発育段階の表現型の追尾が容易であるうえ、洗練された遺伝学的解析ツールやゲノム情報の利用システムが整備されているという利点がある。また、一つのモデル生物だけに集中せず、生活環の異なる複数の生物群での機能を可能な限り検討することで、発育調節の分子機構の進化的な共通性と差異性を理解することを長期的な目標としている。以下に、これまでの各研究成果の概要を紹介する。

1. 昆虫の脱皮と変態を司るエクジソンの生合成の研究

昆虫の発育の段階的な進行には、さまざまなホルモンが関与することが知られている。中でも、ステロイドホルモンであるエクジソンは、孵化、脱皮、変態、そして羽化のすべての発育ステップにおいて必須のトリガーとして機能している。多くの先行研究から、エクジソンは、食餌中のコレステロールを原材料として、複数段階の特異的な触媒ステップを経て生合成されることが知られている（図1）。しかし、エクジソン生合成の各触媒ステップを担う酵素の分子実体は、ほとんど解明されていなかった。

筆者らは、カイコのゲノム情報および突然変異株のリソース、そしてキイロショウジョウバエの遺伝学的解析ツールを組み合わせ、エクジソンの生合成に必須の役割を果たす遺伝子を探し、それらの機能解析を個体・酵素・遺伝子レベルにおいて統合的に進めた。そして、コレステロールからエクジソンへと至る触媒ステップに関与する複数の酵素の機能解明に成功した（図1）。例えば、Rieskeドメインを有する酵素 Neverland

が、エクジソン生合成経路の第1段階であるコレステロールから7-デヒドロコレステロールへの変換に必須であることを示した。また、アメリカのグループと同時期に、5 β -ケトジオールからエクジソンへと至る3段階の水酸化を担うシトクロームP450酵素群 CYP306A1, CYP302A1, CYP315A1 を同定した。さらに、いまだに正確な変換過程の化学的知見のない7-デヒドロコレステロールから5 β -ケトジオールへの変換ステップ（通称「ブラックボックス」）に関わる酵素として、P450である CYP307A1 と短鎖型脱水素・還元酵素である Non-molting glossy/Shroud を報告した。

2. 線虫の幼虫から成虫へのスイッチングに関わるマイクロRNAと下流の転写因子群の研究

線虫 *C. elegans* の *let-7* 遺伝子は、幼虫から成虫への細胞レベルでの発生運命を切り替えるスイッチとして必須の機能を持つ（図2）。*let-7* は進化的に保存されたマイクロRNAをコードしており、また脊椎動物を含む線虫以外の生物においても発育段階の幼若期から成熟期への移行を制御する。

筆者らは、*let-7* 依存的な発育制御機構の遺伝子カスケードの全容解明を目指し、*let-7* と遺伝的相互作用を示す遺伝子をゲノムワイドに探索した。同定された遺伝子の一つアルツハイマー病アミロイド前駆体タンパク質類縁遺伝子 *apl-1* は、線虫の幼虫から成虫への移行に必須であり、その発現は *let-7* によって制御されていた（図3）。アルツハイマー病の発症が加齢（時間）依存的であることはよく知られている。今回の発見は、発育時間軸の制御に関わる分子機構がアルツハイマー病関

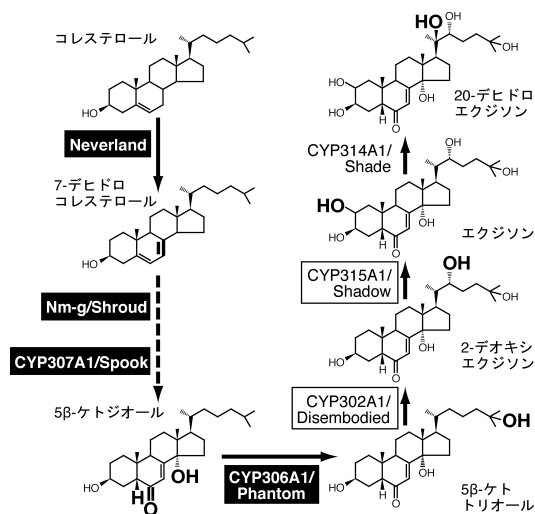


図1 エクジソンの生合成過程

エクジソン生合成酵素のうち、候補者が世界に先駆けて発見し、触媒ステップの解明に貢献したものを白黒反転文字で示す。黒枠をつけた分子についても、候補者は機能解析に携わった。

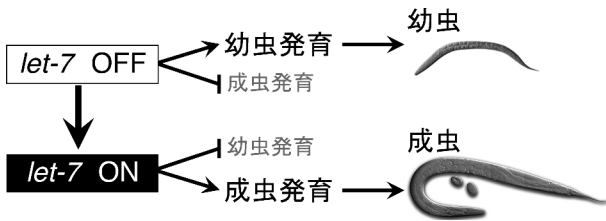


図2 幼虫→成虫スイッチングにおける *let-7* の機能模式図
C. elegans の図は、Altun and Hall (2008) Handbook of *C. elegans* Anatomy. In *WormAtlas* (<http://www.wormatlas.org/hermaphrodite/hermaphrodit homepage.htm>) より改変。

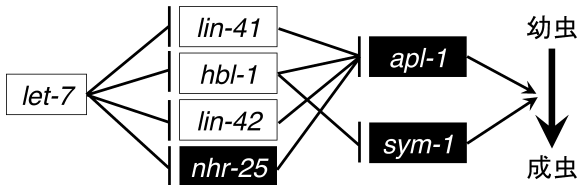


図3 *let-7* タイミング経路で働く遺伝子
 遺伝子間の上下関係について、「→」は正の制御を、「⊣」は負の制御を表す。候補者が発見に携わった分子 (*nhr-25*, *apl-1*, *sym-1*) を白黒反転文字で示す。細胞接着因子 *sym-1* については、スペースの関係で説明を割愛した。

連遺伝子を調節することを示唆する重要な成果である。さらに筆者らは、進化的に保存された核内受容体 NHR-25 が、*let-7* の下流で機能する転写制御因子であることを明らかにした (図3)。*nhr-25* の哺乳類オースログは、iPS 細胞作出時に細胞運命の若返りに関わると言われている。一連の発見は、高等動物を含めた細胞の分化状態が幼若から成熟化に切り替わるスイッチング機構の理解に当たり、モデル生物としての線虫の有用性を示すものとしても重要である。

3. 昆虫と線虫から同定された遺伝子オースログの他の多細胞動物における機能の追究

筆者らは、昆虫から同定されたステロイドホルモン生合成に関わる遺伝子が、また線虫から同定された成虫成熟化に関わる遺伝子が、異なった生活環を超えて進化的にどこまで保存された機能を担うのかについても追究をしている。特に本研究では、昆虫から見いだした Rieske 型酵素である Neverland に焦点を当てた。*neverland* オースログは、昆虫や節足動物のゲノム中のみならず、エクジソン生合成活性は認められない *C. elegans*, ウニ, ホヤ, 魚類, 両生類, そして鳥類のゲノムにも存在した。そして、これらの生物種から *neverland* 遺伝子を単離し、その遺伝子産物の酵素活性を検討したところ、いずれの種の Neverland においてもコレステロールから 7-デヒドロコレステロールへの変換活性が見いだされた。すなわち、Neverland は、動物種を超えて保存された新しいタイプのコレステロール代謝酵素であることを示した。現在、後口動物において *neverland* 遺伝子の機能を低下させた際の表現型を検討中である。

おわりに

発生過程における 3 次元空間内の形態形成の分子機構はこの

四半世紀で飛躍的に解明され、今や数理的なシミュレーションによって形態形成過程を構成的に理解しようとする段階にまできている。それに比して、時間軸に伴う生物の发育過程を支える分子機構については、それに関与する遺伝子の記載すらいまだに断片的である。よって現時点では、发育制御を下支えする遺伝子とそのネットワークをとにかく枚举することが先決である。その意味で、筆者らの研究は世界的にみても意義のある先鞭をつけるものであったと考えている。今後しばらくは、昆虫と線虫のモデル生物としての利点を最大限に生かして、個別の遺伝子発掘と丁寧な機能解析に従事したい。その先に、发育段階調節の生物種を超えた分子基盤の全容が見えてくるであろう。

一方、時間的发育調節メカニズムの進化的保存性の解明と同時に、昆虫あるいは線虫に特異的なメカニズムの解明も農芸化学的に極めて大きな意義がある。もしも昆虫あるいは線虫のみ存在する发育調節の分子機構を明らかにできれば、それは昆虫あるいは線虫に特異的な发育制御剤、すなわち農薬の創発においても重要な基礎的知見を提供できる。今後、发育調節機構の保存性と多様性の両方に目配りをした研究成果を発信できるよう努力したい。

本研究は、東京大学大学院新領域創成科学研究科 (2002 年 10 月~2004 年 12 月)、米国 Yale 大学分子細胞発生生物学部 (2005 年 1 月~2008 年 1 月)、そして筑波大学大学院生命環境科学研究科 (2008 年 2 月~現在) において行われたものです。東大と Yale 大のそれぞれの研究室において、博士研究員として在籍の機会をいただき、ご指導ご助言をいただきました片岡宏誌先生と Frank J. Slack 先生、そして両研究室のメンバーに感謝申し上げます。また、科学技術振興事業団「若手研究者の自立的研究環境整備促進プログラム」に基づく筑波大学のプロジェクト「次代を担う若手大学人育成イニシアティブ」を組織いただいている白岩善博先生をはじめとする諸先生方、さらにメンターとしてご指導いただいております沼田治先生と古久保-徳永克男先生には、私の筑波大学での独立した研究環境を支えていただき、厚く御礼申し上げます。そして、この 3 年間、筑波大学の私のグループにおいて共に本研究の推進に関わってくれた川端孝一博士、波田一誠博士、島田(丹羽)裕子博士、吉山(柳川)拓志博士、塩谷天君、恩田美紀さん、Maramzina Jevgenija さんに感謝いたします。筑波大学での本研究の実施に当たり、本学会と関連の深い (財)農芸化学研究奨励会から研究助成をいただき、深謝いたします。本研究は、国内外のさまざまな共同研究によって大きく進展させることができました。ここですべての方々のお名前を挙げることはできませんが、本研究に携わったすべての共同研究者の方々に厚く御礼申し上げます。最後になりましたが、私の研究について常にご懇篤なるご助言と温かい激励をいただきました京都大学の村上匡先生と (独)農業生物資源研究所の篠田徹郎先生、そして伝統ある本奨励賞にご推薦くださいました片岡宏誌先生に厚く御礼申し上げます。