

審査の結果の要旨

氏名 藤永 大輝

本論文の題目は「IGF 様ペプチドと 20-ヒドロキシエクジソンによる成虫器官発達制御機構の解析」で、序論と本編が第 1～5 章から、第 6 章が総括、第 7 章が実験材料と方法、および謝辞、参考文献から構成されている。

本編の第 1 章から第 5 章の内容は、以下のとおりである。

まず、第 1 章の「生殖器原基の成長発達を制御するホルモン作用の解析」では、IGF 様ペプチド (IGFLP) と 20-ヒドロキシエクジソン (20E) による成長促進作用を解析するためのカイコガ雄性生殖器原基の培養系について述べられている。その培養系を用いて、IGFLP は①原基のサイズと重量を増加させ、②原基のタンパク質合成を促進し、③DNA 合成を促進することを示した。一方、20E は①原基の伸長成長 (形態形成) を誘導し、②タンパク質合成を促進し、③DNA 合成を促進し、④細胞分裂を促進することを示した。さらに、20E と IGFLP を同時に添加し、原基を培養すると、タンパク質量と重量はさらに増加することを明らかにした。また、IGFLP 作用はインスリンシグナルの阻害剤で阻害され、20E 作用は MAPK 経路の阻害剤で阻害されることから、IGFLP はインスリンシグナルを、20E は MAPK 経路を活性化することで、生殖器原基の発達を誘導することを明らかにした。さらに、GPCR の阻害剤は 20E による原基の成長促進と MAPK 経路の活性化を阻害したことから、20E 作用には GPCR が関わることを示唆された。その一方で、20E は核内受容体である EcR を介して遺伝子発現を制御したことから、20E には GPCR を介した応答と EcR を介した応答の 2 つの作用経路があることを示した。

第 2 章の「IGFLP と 20E 作用の協調作用の解析」では、20E はインスリンシグナルの構成因子の発現を促進し、IGFLP によるインスリンシグナルの活性化を調節することを示した。また、IGFLP による成長促進作用は TOR 経路の阻害剤で阻害されることを見いだした。さらに、IGFLP は TOR 経路を活性化し、この活性化はインスリンシグナル阻害剤で阻害されたことから、IGFLP はインスリンシグナルを介して TOR 経路を活性化し、原基の成長を促進することを明らかにした。TOR 経路阻害剤は 20E 作用を阻害しなかったが、20E は TOR 経路の構成因子の発現量を調節したことから、20E は IGFLP による TOR 経路を介したタンパク質合成を促進する可能性を示した。

第 3 章の「IGFLP 遺伝子欠損変異体の解析」では、CRISPR/Cas9 法を用いて IGFLP 遺伝子欠損変異体を作成し、変異体では体重が低下することを示した。特に、成虫の触角や脚の長さや雄性生殖器の重量が低下すること、さらに、卵巣の移植実験により蛹期の血中 IGFLP によって卵巣が劇的に発達することを示し、IGFLP は生体内でも成虫原基の成長を促進することを明らかにした。

第 4 章の「IGFLP と 20E が翅原基に与える影響の解析」では、翅原基では 20E によって MAPK 経路が抑制されたが、*e75a* の転写が促進されたことから、20E は EcR を介して

作用することを示した。20E によるシグナル伝達経路の構成因子の転写制御パターンは生殖器原基と異なっており、20E は高濃度の IGFLP によるインスリンシグナルの活性化をさらに促進していた。

第 5 章の「細胞膜局在型 20E 受容体の検証」では、生殖器原基において、20E 作用に関与する GPCR を探索した。20E 作用に関与する既知の GPCR は生殖器原基に発現しておらず、その GPCR 特有の細胞応答も見られないことから、これらは関与していないと推測した。また、生殖器原基には複数の 7 回膜貫通型 GPCR 遺伝子が発現しているほか、EcR が細胞膜に局在する可能性を見いだした。この細胞膜局在 EcR が 20E による MAPK 経路の活性化に関わる可能性を示した。

本研究の総括の第 6 章で、本論文における統合的な考察が議論されている。すなわち、生殖器原基では 20E は MAPK 経路を介して形態形成を誘導し、IGFLP はインスリンシグナルと TOR 経路を介してサイズを増大させること、変態期には少なくともこれら 2 種類のホルモンが協調して成虫原基の発達を制御するという研究成果がまとめられている。

なお、本論文の一部は共同研究による実験結果も含まれているが、いずれも論文提出者が主体となって行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上、本論文は、IGF 様ペプチドと 20-ヒドロキシエクジソンによる成虫器官発達制御機構を明らかにしたもので、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

(以上 1,925 字)