

氏 名 吉 田 悟

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第556号

学位授与の日付 平成13年9月28日

学位授与の要件 生命科学研究科 分子生物機構論専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 A study on tissue specificity of DBL-1 signaling pathway that regulates body length in *Caenorhabditis elegans*

論 文 審 査 委 員	主 査 教授	諸橋 憲一郎
	教授	野田 昌晴
	教授	上野 直人
	助教授	森 郁恵 (名古屋大学)

論文内容の要旨

Size control is one of the fundamental subjects of biology. In nematode *Caenorhabditis elegans*, a TGF- β -like signaling pathway, Sma pathway, which is composed of the ligand DBL-1, serine/threonine protein kinase receptors SMA-6 and DAF-4, and cytoplasmic signaling components SMA-2, SMA-3, and SMA-4, regulates body length of the worm. To further address the molecular mechanism of body length regulation in the nematode by the TGF- β -like signaling pathway, he examined the regional requirement for the type I receptor SMA-6. Using a SMA-6::GFP (green fluorescent protein) reporter gene, he found *sma-6* to be highly expressed in the hypodermis in addition to pharynx and intestine, while the type II receptor DAF-4 is reported to be more broadly expressed. He then examined the ability of SMA-6 expressed in different regions of the *C. elegans* body to rescue the *sma-6* phenotype (small) and found that hypodermal expression of SMA-6 is most important and sufficient for the growth and maintenance of body length. He also shows that GATA sequences in the *sma-6* promoter contribute to the hypodermal expression of *sma-6*. Finally, he shows that the DBL-1 signaling in middle larval stage is significant to control body length.

論文の審査結果の要旨

生物個体の大きさがどのように決定されるのかは生物学の基本的な、また重要な問題である。自然界にはさまざまな大きさの動物が存在するが、一般的に生物の大きさは細胞数に依存して決定されるものと考えられている。線虫 *C. elegans* は野生型で 1.2 mm 程度であるが、近縁種間で長さに 2 倍程度の長さの違いが見られることから、遺伝学的に個体の大きさ(長さ)の制御メカニズムを探るために格好のモデルであるといえる。学位申請者はこの遺伝学が可能な *C. elegans* をモデル動物として用いて生物の長さ調節の問題について研究した。

生物の発生過程においては、多種多様な成長因子や細胞内シグナル伝達因子がダイナミックに機能して生物固有の形や器官の構造を形成している。なかでも TGF- β スーパーファミリーに属する TGF- β , activin, BMP などは、細胞増殖, 分化誘導, 背腹軸決定, 骨形成など多彩な生理活性を有している。TGF- β スーパーファミリーの作用機構は線虫, ショウジョウバエ, アフリカツメガエル, マウスなどで詳細に研究されており, その基本経路は種を越えて良く保存されていることが明らかとなっている。とくに, 先行研究により *C. elegans* における TGF- β リガンド DBL-1 はその遺伝子破壊によって個体の体長が 0.8 mm 程度に短くなることが明らかにされており, 細胞増殖因子と体長調節機構の関連が示唆されていた。DBL-1 は amphid neuron, canal-associated neuron (CAN), ventral nerve chord (VNC) など主に神経細胞で発現しているが, このように主に神経系で発現する液性因子がどのように体長を制御しているのかについては不明なままであった。したがって, 申請者は本研究において *C. elegans* における体長調節のメカニズムを探る一つの鍵は, DBL-1 シグナルの標的細胞を同定し, その作用点を明らかにすることであると考え, DBL-1 のシグナル伝達を介在する受容体 SMA-6 に着目した。同受容体はその機能欠損変異によって DBL-1 変異と同様に体長が短くなることから, DBL-1 シグナルによる体長調節に必要な受容体であることがわかっている。申請者は同遺伝子の上流域約 3 kb を緑色蛍光タンパク質(GFP)遺伝子と融合させたレポーター遺伝子を用いて, 受容体 *sma-6* 遺伝子は咽頭筋, 腸, 上皮細胞に発現することを見いだした。したがって, これらのいずれかの組織での DBL-1 シグナルが体長調節に必須であると考えられた。次に, 体長が短い表現型を示す *sma-6* 突然変異体に対して SMA-6 をさまざまな組織特異的プロモーターで発現する遺伝子導入個体を作成し, SMA-6 発現領域と変異体の体長に対する救助効果を検討し, その結果, 上皮細胞で発現した時のみ野生型に近い体長まで回復することを明らかにした。したがって DBL-1 の標的細胞は SMA-6 の発現細胞のうち上皮細胞であると結論付けた。また, 同遺伝子の制御領域の詳細な解析の結果, 3 つの GATA 配列が連続する領域を見だし, 同配列が SMA-6 の上皮細胞での発現, 体長の回復を指標としたシグナル伝達に必要なかつ十分であることを明らかにした。

本研究は体長調節という生物の基本的な問題に迫る研究であり, *C. elegans* の DBL-1 シグナルの標的細胞が上皮細胞であることを初めて明らかにした点は高く評価される。これらの研究成果は体長調節の全貌解明, および *C. elegans* やその近縁種における体長の多様性獲得の謎に迫るものであり, 国際専門誌にすでに印刷中であることから学術的な意義が大きいと判断される。また審査会での質疑に対しても申請者は的確に応答したことから, 関連分野において十分な知識を有しているものと判断し, 学位授与にふさわしいと判断した。

学位論文として提出された研究成果について口頭発表させた後, 審査委員が論文内容および関連分野の一般知識, 及びその背景となる基礎知識に関して口頭試問を行った。これらの質問に対

する申請者の応答はいずれも的確なものであった。また、提出された学位論文は英語で書かれており、すでに国際専門誌に印刷中であることから英語に関する能力についても十分であると思われた。これらの結果をもとに、審査委員会は申請者のもつ研究能力、及び学力は学位取得に値するものと判断した。