

# 動物の低温耐性の分子生理メカニズム

甲南大学 理工学部 生物学科 生体調節学 久原研究室  
久原 篤

## 1. はじめに、目的

温度は、体内の化学反応に変化をもたらす重要な環境情報であるため、動物は温度環境の変化に対する順応機構をもっている。温暖化が地球規模で進行する現代において、生物の温度変化への順応メカニズムの解明は重要な課題のひとつである。しかし、温度環境への応答順応の分子機構には未知な部分が多い。そこで、本研究では、線虫 *C. elegans* をモデル動物として、動物の 温度応答と適応の分子機構の解明を目指した。

## 2. 方法

温度環境への耐性として、*C. elegans* は高温に耐性をもつことが報告されている。通常、*C. elegans* の生育温度は 13~27°C であり、それよりも高温では耐性幼虫となる。一方、当研究室において、耐性幼虫を経ない温度耐性が見つかった。具体的には、25°C で飼育された個体が 2°C におかれると死滅してしまうのに対して、15°C で飼育された個体は 2°C でも生存できることを見出した。この現象は、線虫が生育温度の低下にともない、より低温に順応できる機構 すなわち、「低温耐性」をもつことを示唆する。本研究では、飼育温度依存的に獲得される低温耐性を実験系として、変異体の解析や分子遺伝学的解析の手法を組み合わせ、低温耐性に関わる細胞ネットワークと遺伝子経路を同定した。

## 3. 結果、研究成果

低温耐性に関与する組織を同定する目的で、まず、すべてのニューロンで発現している *unc-104* (キネシン) 遺伝子の変異体について低温耐性を解析した結果、顕著な異常が観察された。このことから、低温耐性が少なくとも神経系で制御されていることが示唆された。そこで、つぎに頭部神経系の温度情報伝達の変異体について低温耐性を解析した結果、特にカルシニューリンの変異体 (*tax-6*) で顕著な異常が観察された。*tax-6* 遺伝子は神経や筋肉細胞を含む組織で発現しているため、*tax-6* 変異体の特定の細胞で *tax-6* 遺伝子を発現させた系統をつかい、関連する細胞の同定を試みた。その結果、感覚ニューロンで *tax-6* 遺伝子を発現させた場合に低温耐性の異常が強く回復した。また、頭部感覚ニューロンの感覚情報伝達に関わる cGMP 依存性チャネル (*tax-4*) と TRP チャネル (*osm-9*) の変異体において低温耐性の異常が観察された。以上の結果から、*C. elegans* がもつ 12 対の頭部感覚ニューロンのいずれかが低温耐性に関わっていると考えられた。低温耐性に関わる感覚ニューロンを同定するために、単一のニューロンのみで遺伝子発現を誘導するプロモーター-DNA 配列をもちいて、*tax-4* cDNA を *tax-4* 変異体の特定の細胞で発現させる解析を行なった。その結果、光を受容することが知られていた感覚ニューロンで、

tax-4cDNA を発現させた時に、tax-4 変異体の低温耐性異常が回復した。

低温耐性の分子情報伝達系をより詳細に明らかにする目的で、既存の変異体を用いて低温耐性実験を行なった。その結果、耐性幼虫形成に関わるインスリン情報伝達経路に含まれるインスリン様分子 *daf-28* と、インスリン受容体 *daf-2*、PI3 キナーゼ *age-1*、PI 依存タンパクキナーゼ *pdk-1*、AKT/PKB キナーゼ *akt-1* の変異体において、低温耐性が増強する異常が観察された(図 1, 2)。一方、感覚神経でのみ発現する cGMP 開口チャネル tax-4 変異体でも、低温耐性が高くなる異常が観察された。次に、インスリン受容体 *daf-2* が機能する組織を同定するために、*daf-2* 変異体の組織特異的に *daf-2* 遺伝子を発現する系統を解析したところ、腸で *daf-2* cDNA が発現している *daf-2* 系統で低温耐性の異常が強く回復した。また、神経系で発現させた系統でも部分的に回復が見られた。以上の生理学的解析と遺伝学的解析から、線虫 *C. elegans* には、低温に対する耐性機構が存在し、インスリンが少なくとも腸と神経系で受容されること、cGMP 経路が感覚神経で機能することが重要であることが明らかとなった。

さらなる低温耐性遺伝子を同定するために、飼育温度に依存して発現変動する遺伝子を解析したところ、*M60.2* (エンドヌクレアーゼ)、*cpr-1* (システインプロテアーゼ)、*dmd-7* (doublesex 型転写因子)、*gpa-7* (G $\alpha$  タンパク質)、*cgt-1* (グルコシルセラミド合成酵素)、*C47A4.2* (ヌクレオシド輸送体)、*gpdh-1* (グリセロール-3-リン酸脱水素酵素)、*dhs-4* (hydroxysteroid 17 $\beta$  脱水素酵素) の変異体において低温耐性の異常が観察された。

#### 4. 考察、まとめ

線虫の低温耐性には、従来、光を受容することが知られていた感覚ニューロンが必須であることが明らかとなった。一般的に、温度耐性は個々の細胞における熱ショックタンパク質などの機能で、細胞レベルで制御されていると考えられているため、本結果は、単一の感覚ニューロンの機能により、個体全体の温度耐性が制御されるという興味深い結果であった。また、インスリンが腸で受容されることで低温耐性が制御されることから、高等動物においても腸の機能と、個体の温度適応に関係性がある可能性が考えられる。低温耐性は、わずか数時間の温度シフトで獲得や喪失されることも予備実験から見えて来たため、現在、温度耐性メモリーの分子機構の解析にも力をいれている。

#### 5. 発表論文、参考文献

Akane Ohta & Atsushi Kuhara

Molecular mechanism for G protein-coupled thermosensation and synaptic regulation in the temperature response circuit of *Caenorhabditis elegans*

*Neuroscience Research*, 2013