

農學博士鈴木昭憲君および理學博士石崎宏矩君の「カイコ脳神經ペプチドに  
關する化學的・分子生物學的研究」(共同研究) に対する授賞審査要旨

昆虫の生活史を特徴づけているのは脱皮・変態の現象であつて、このダイナミックな機構の解明は、古くから生物學者の主要な研究對象となつていた。一九二二年、ポーランドのカベッチは、マイマイガの変態が、脳から分泌されるホルモン様の「物質」によつて誘導されることをはじめて示唆した。その後、多年にわたる生物學者の努力を通じて、昆虫の脱皮・変態現象が脳の分泌細胞から分泌される前胸腺刺激ホルモンと、その刺激によつて前胸腺から分泌されるエクジソン、及びアラタ体から分泌される幼若ホルモンの相互關係によつて制御されていることが確認された。これら三種のホルモンのうち、エクジソンは一九六五年、幼若ホルモンは一九六七年に、それぞれ外國の研究者によつて化學構造が決定されたが、脱皮・變態現象に於いて中樞的な役割を果たしている前胸腺刺激ホルモンの單離、構造決定は、生体内含量の極微さ、精製の困難さなどから、遅々として進まなかつた。

このような状況のなかで、一九七〇年、有機化學者としての鈴木君と、生物學者としての石崎君は前胸腺刺激ホルモンの單離、構造決定を目指して、共同研究を開始した。彼らは、わが國において大量入手が比較的容易なカイコ蛾頭部を用い、十数年間、粘り強く精製・單離実験を進め、一九八七年、ついにカイコ前胸腺刺激ホルモンを純粹に單離することに成功した。ついで、彼らは、化學的ならびに分子生物學的手法を結合させて、一九九〇年、その一次構

造を決定するに至った。

さらに、鈴木・石崎両君は、この研究の過程で、カイコ脳内に含まれるインスリン族ペプチドとしてのボンビキシン、羽化ホルモン、性フェロモン生合成活性化神経ペプチド、ヨトウガ幼虫体色黒化物質、脂質動員ホルモンなど、さまざまな生理活性ペプチドを単離、構造決定した。前胸腺刺激ホルモンを含め、これらのペプチド類のカイコ体内における含量は極微で、本研究の材料に使われたカイコ蛾の数は、実に三千万匹以上の多きに達している。

以下に、鈴木・石崎両君の主要な研究成果について概述する。

#### I カイコ前胸腺刺激ホルモンに関する研究

鈴木・石崎両君は、カイコ蛾頭部を材料として、一九七〇年以降、長期にわたり幾多の試行錯誤を繰り返したのち、一九八七年、ついに十六段階からなる精製過程を確立し、目的とする前胸腺刺激ホルモンを純粋に単離することに成功した。その収量は、五〇万個のカイコ蛾頭部について、わずか数マイクログラムであった。このホルモンの活性は、除脳によって変態が抑制されたカイコ休眠蛹に注射した場合、〇・一〜〇・二ナノグラムでその成虫化を誘導するほどに強力で、注目すべきことに、それは、カイコに対してのみ前胸腺刺激ホルモン活性を示し、他の昆虫に対しては活性を示さなかった。この事実は、それまで想定されていたところと異なり、それぞれの昆虫の前胸腺刺激ホルモンが、高い種特異性を持っている可能性を示唆している。

ついで彼らは、化学的なアミノ酸配列分析、及びcDNAのクローニングによる塩基配列分析等の結果から、この

前胸腺刺激ホルモンが図1(A)に示すような一〇九残基からなるアミノ酸配列を有する。二本の相同なペプチド鎖から構成され、両者がジスルフィド結合を介して二量体構造を形成していること、及び四一番目のアスパラギン残基に短い糖鎖の結合している可能性を明らかにした。さらに、両君は、このホルモンをコードしている遺伝子を大腸菌に組込み、生成物の生物活性を確認したのち、それを用いて、分子内のジスルフィド結合様式を図1(B)のように決定した。かくして、カペッチにより、その存在が示唆されてからおよそ七〇年を経て、昆虫前胸腺刺激ホルモンの一つの構造が、世界に先駆けて明らかになったのである。

## II カイコ脳内に含まれるインスリン族ペプチド、ボンピキシンに関する研究

鈴木・石崎両君は、カイコ蛾頭部より前胸腺刺激ホルモンを単離する過程で、カイコ除脳休眠蛹に活性を示さず、エリカイコ除脳休眠蛹に対して〇・一〜〇・五ナノグラムという極微量で活性を示すペプチドを単離し、ボンピキシンと命名した。一九八七年、両君は、化学的手法によって、このペプチドのアミノ酸の全一次配列を図2に示すように決定するとともに、その化学合成にも成功した。

ついで、両君は、遺伝子解析及びコンピュータ・グラフィックによる三次元構造解析等の結果から、ボンピキシンの脊椎動物に含まれるインスリン等と起源を同じくする、いわゆるインスリン族ペプチドであることを明らかにした。さらに、彼らは、ボンピキシンに対するモノクローナル抗体を用いる組織化学及び *in situ* ハイブリッド形成によって、このペプチドがカイコ脳内中央部に存在する数対の神経分泌細胞において、インスリンの場合と同様に、先駆体

(アレプロ体) の形で転写、翻訳されたのち、プロセッシングを受けて生合成されることを明らかにした。

これまでも、インスリン族ペプチドが、無脊椎動物の体内に存在する可能性が定性的に示唆されてきたが、現実インスリン族ペプチドを無脊椎動物から単離・構造決定したのは、本研究が最初であって、分子進化学的な観点からも注目される。

### Ⅲ カイコ脳神経系に含まれるその他の脳神経生理活性ペプチドに関する研究

近年、昆虫においては、脱皮や変態ばかりでなく、代謝や行動など多くの生理現象が、脳神経ペプチド類により調節、制御されていることが示唆されているが、それらの化学的実体は、これまでほとんど不明であった。鈴木君らは、カイコの蛹から蛾が羽化してくる際の、いわゆる羽化行動の引き金になる羽化ホルモン、メスのカイコ蛾体内で性フェロモン(性誘引物質)の生合成を促進する性フェロモン生合成活性化神経ペプチド、及びカイコ蛾の体液中の脂質濃度を高める脂質動員ホルモン等を単離し、それらの全一次構造を図3、4、5に示すように決定した。なお、彼らはカイコ蛾頭部より抽出、構造決定したヨトウガ幼虫の体色黒化物質が、上述の性フェロモン生合成活性化神経ペプチドと一致するという興味ある事実も見いだした。これら一連の研究成果は、昆虫の代謝や行動を物質レベルで追求する途を拓いたものであると言って差し支えない。

以上に述べたように、鈴木・石崎両君の研究は、昆虫生理学者が長年にわたって求めていた前胸腺刺激ホルモンの一つを、カイコを材料として、世界に先駆け単離、構造決定したほか、さまざまなカイコ脳神経生理活性ペプチドを

(A)

1                    5                    10                    15  
 [H-Gly-Asn-Ile-Gln-Val-Glu-Asn-Gln-Ala-Ile-Pro-Asp-Pro-Pro-Cys-  
 20                    25                    30  
 Thr-Cys-Lys-Tyr-Lys-Lys-Glu-Ile-Glu-Asp-Leu-Gly-Glu-Asn-Ser-  
 35                    40                    45  
 Val-Pro-Arg-Phe-Ile-Glu-Thr-Arg-Asn-Cys-Asn-Lys-Thr-Gln-Gln-  
 50                    55                    60  
 Pro-Thr-Cys-Arg-Pro-Pro-Tyr-Ile-Cys-Lys-Glu-Ser-Leu-Tyr-Ser-  
 65                    70                    75  
 Ile-Thr-Ile-Leu-Lys-Arg-Arg-Glu-Thr-Lys-Ser-Gln-Glu-Ser-Leu-  
 80                    85                    90  
 Glu-Ile-Pro-Asn-Glu-Leu-Lys-Tyr-Arg-Trp-Val-Ala-Glu-Ser-His-  
 95                    100                    105  
 Pro-Val-Ser-Val-Ala-Cys-Leu-Cys-Thr-Arg-Asp-Tyr-Gln-Leu-Arg-  
 109  
 Tyr-Asn-Asn-Asn-OH] x 2

(B)

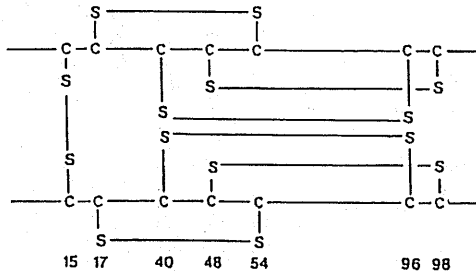


図1. カイコ前胸腺刺激ホルモン

(A) アミノ酸配列

(B) ジスルフィド結合様式

ボンベキシン-II:

1                    10                    20  
 H-Gly-Ile-Val-Asp-Glu-Cys-Cys-Leu-Arg-Pro-Cys-Ser-Val-Asp-Val-Leu-Leu-Ser-Tyr-Cys-OH  
 23                    25                    30  
 pGlu-Gln-Pro-Gln-Ala-Val-His-Thr-Tyr-Cys-Gly-Arg-His-Leu-Ala-Arg-Thr-Leu-Ala-Asp-Leu-Cys-  
 23                    25                    30  
 -Trp-Glu-Ala-Gly-Val-Asp-OH

ヒトインスリン:

1                    10                    20  
 H-Gly-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Thr-Ser-Ile-Cys-Ser-Leu-Tyr-Glu-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn-OH  
 4                    10                    20  
 H-Phe-Val-Asn-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-  
 23                    30  
 -Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Thr-OH

図2. ボンベキシン-II とヒトインスリンとの相同性

(注) ボンベキシンには数種の分子種が発見されているが、いずれもインスリンに高い相同性を有している。

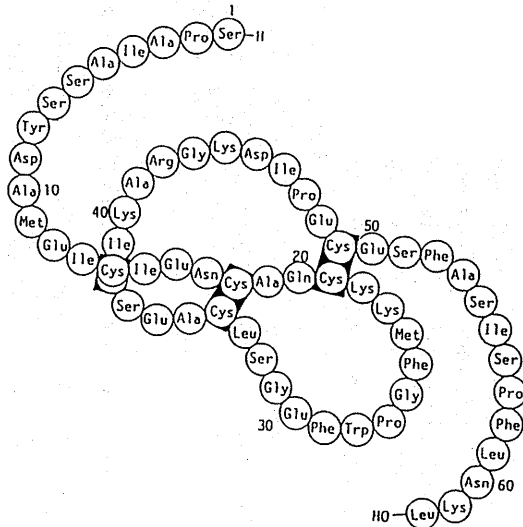
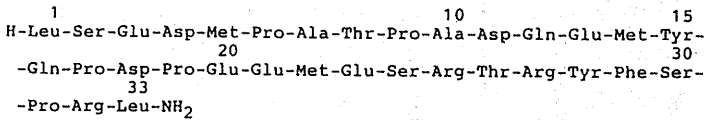


図3. カイコ羽化ホルモン

PBAN-I:



PBAN-II:

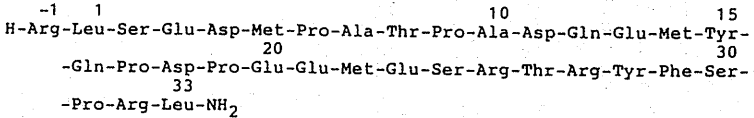


図4. カイコ性フェロモン生成活性化神経ペプチド

(注) カイコ蛾頭部から単離されたヨトウガ幼虫体色黒化物質は、このペプチドと同一の構造をもっている。

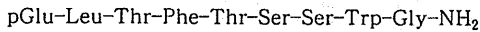


図5. カイコ脂質動員ホルモン

抽出・単離し、それらの実体を化学的・分子生物学的的手法により明らかにしたもので、昆虫生理学を分子レベルにおいて展開し得る基盤を確立したものととして、きわめて高く評価される。なお、この研究が、わが国の伝統的な養蚕業を背景にして初めて可能になった点も特記されるべきであろう。

これらの業績によって、両君は昭和五八年、連名で日本動物学会賞を授与され、さらに鈴木君は昭和六三年に日本農芸化学会賞を、石崎君は昭和六三年に第四一回中日文化賞を贈られている。

#### 主要な論文目録

##### I 前胸腺刺激活性を有する脳神経ペプチドに関する原著論文

1. Brain hormone of the silkworm, *Bombyx mori*. *Nature*, 191, 933-934 (1961). M. Ichikawa and H. Ishizaki.
2. Protein nature of the brain hormone of insects. *Nature*, 198, 308-309 (1963). M. Ichikawa and H. Ishizaki.
3. Purification of the brain hormone of the silkworm *Bombyx mori*. *Biol. Bull.*, 133, 355-368 (1967). H. Ishizaki and M. Ichikawa.
4. A simple procedure for partial purification of silkworm brain hormone. *Agric. Biol. Chem.*, 39, 2157-2162 (1975). A. Suzuki, A. Isogai, T. Horii, H. Ishizaki and S. Tamura.
5. Isolation and characterization of prothoracicotropic hormone from silkworm, *Bombyx mori*. *Agric. Biol. Chem.*, 46, 1107-1109 (1982). S. Suzuki, H. Nagasawa, H. Kataoka, Y. Hori, A. Isogai, S.

- Tamura, F. Guo, X. Zhong, H. Ishizaki, M. Fujishita, A. Mizoguchi and H. Ishizaki.
6. Amino-terminal amino acid sequence of the silkworm prothoracicotropic hormone: homology with insulin. *Science*, **226**, 1344 - 1345 (1984). H. Nagasawa, H. Kataoka, A. Isogai, S. Tamura, A. Suzuki, H. Ishizaki, A. Mizoguchi, Y. Fujiwara and A. Suzuki.
  7. Amino acid sequence of a prothoracicotropic hormone of the silkworm *Bombyx mori*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 5840 - 5843 (1986). H. Nagasawa, H. Kataoka, A. Isogai, S. Tamura, A. Suzuki, A. Mizoguchi, Y. Fujiwara, A. Suzuki, S. Takahashi and H. Ishizaki.
  8. Prothoracicotropic hormone has an insulin-like tertiary structure. *FEBS Lett.*, **219**, 419 - 425 (1987). H. Jhoi, A. N. McLeod, T. L. Blundell, H. Ishizaki, H. Nagasawa and A. Suzuki.
  9. A monoclonal antibody against a synthetic fragment of bombyxin (4 K-prothoracicotropic hormone) from the silkworm, *Bombyx mori*: characterization and immunohistochemistry. *Molecular and Cell. Endocrinol.*, **51**, 227 - 235 (1987). A. Mizoguchi, H. Ishizaki, H. Nagasawa, H. Kataoka, A. Isogai, S. Tamura, A. Suzuki, M. Fujino and C. Kitada.
  10. Isolation and partial characterization of a prothoracicotropic hormone of the silkworm, *Bombyx mori*. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 1067 - 1076 (1987). H. Kataoka, H. Nagasawa, A. Isogai, S. Tamura, A. Mizoguchi, Y. Fujiwara, C. Suzuki, H. Ishizaki and A. Suzuki.
  11. cDNA structure and expression of bombyxin, an insulin-like brain secretory peptide of the silkworm *Bombyx mori*. *J. Biol. Chem.*, **264**, 7681 - 7685 (1989). T. Adachi, S. Takiya, Y. Suzuki, M. Iwami, A. Kawakami, S. Takahashi, H. Ishizaki, H. Nagasawa and A. Suzuki.
  12. Structure and organization of four clustered genes that encode bombyxin, an insulin-related brain



- secretory peptide of the silkmoth *Bombyx mori*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 6843 - 6847 (1989).
- A. Kawakami, M. Iwami, H. Nagasawa, A. Suzuki and H. Ishizaki.
13. Synthesis of bombyxin-IV, an insulin-like heterodimeric peptide from the silkworm, *Bombyx mori*. *Peptides*, 11, 169 - 171 (1990). K. Maruyama, H. Nagasawa, A. Isogai, S. Tamura, H. Ishizaki and A. Suzuki.
  14. Molecular cloning of the *Bombyx mori* prothoracicotropic hormone. *Science*, 247, 1333 - 1335 (1990). A. Kawakami, H. Kataoka, T. Oka, A. Mizoguchi, M. Kimura-Kawakami, T. Adachi, M. Iwami, H. Nagasawa, A. Suzuki and H. Ishizaki.
  15. Prothoracicotropic hormone of the silkworm, *Bombyx mori*: Amino acid sequence and dimeric structure. *Agric. Biol. Chem.*, 55, 783 - 786 (1991). H. Kataoka, H. Nagasawa, A. Isogai, H. Ishizaki and A. Suzuki.
- 他十七編
- II その他のカモノミズ科の蛾類の幼虫の生理
1. Amino acid sequence of pheromone-biosynthesis-activating neuropeptide (PBAN) of the silkworm, *Bombyx mori*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 163, 520 - 526 (1989). A. Kitamura, H. Nagasawa, H. Kataoka, T. Inoue, S. Matsumoto, T. Ando and A. Suzuki.
  2. Ecdyson hormone of the silkworm *Bombyx mori*. Expression in *Escherichia coli* and location of disulfide bonds. *FEBS Lett.*, 263, 358 - 360 (1990). T. Kono, H. Nagasawa, H. Kataoka, A. Isogai, H. Fugo and A. Suzuki.

3. A monoclonal antibody against a synthetic carboxyl-terminal fragment of the eclosion hormone of the silkworm, *Bombyx mori*: Characterization and application to immunohistochemistry and affinity chromatography. *Zoo. Sci.*, 7, 47-54 (1990). T. Kono, A. Mizoguchi, H. Nagasawa, H. Ishizaki, H. Fugo and A. Suzuki.
4. Functional diversity of a neurohormone produced by the suboesophageal ganglion: Molecular identity of melanization and reddish coloration hormone and pheromone biosynthesis activating neuro-peptide. *J. Insect Physiol.*, 36, 427-432 (1990). S. Matsumoto, A. Kitamura, H. Nagasawa, H. Kataoka, C. Orikawa, T. Mitsui and A. Suzuki.
5. Isolation and complete amino acid sequences of eclosion hormone of the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem.*, 21, 185-195 (1991). T. Kono, H. Nagasawa, A. Isogai, H. Fugo and A. Suzuki.

他 一 六 號