

## (論文内容の要旨)

老化や寿命は、環境的要因と遺伝的要因とで制御されている。老化に伴い、異常なタンパク質など様々な物質の蓄積が見られるようになる。そのため、これらの蓄積に対して影響を及ぼすような因子は、老化にも影響を及ぼすのではないかと考えられる。オートファジーは、真核生物に保存された主要な分解経路の一つで、タンパク質やオルガネラを膜で包み込み、リソソームへ輸送し、それらを分解、リサイクルする機構であり、オートファジーに関与する多数の遺伝子が同定されている。オートファジーは、非選択的な分解だけでなく、タンパク質の凝集体やオルガネラの選択的な分解にも関与する。これまでに、オートファジーが寿命を延長させるような効果を持つことが、線虫やハエなどで報告されている。申請者は、寿命制御におけるオートファジーの役割に着目した。線虫やハエなどの生物において、多数のオートファジー遺伝子に対して、体系的に寿命への効果を検討する研究は行われていなかった。そこで、申請者は、寿命制御におけるオートファジーの役割を詳細に解明するため、線虫のオートファジー遺伝子を同定し、それらの寿命制御における機能を解析した。同定した14個の線虫のオートファジー遺伝子について、まず野生型においてマターナル RNAi を行い、寿命を測定した。その結果、約半数の遺伝子の抑制により寿命が1、2割程度短縮し、他の遺伝子の抑制では寿命を有意には変化させなかった。*daf-2*変異体は、インスリン/IGF-1受容体の機能が低下した変異体で、寿命が延長することが知られている。この*daf-2*変異体において、マターナル RNAi によりオートファジー遺伝子を抑制したところ、発生異常が観察された3個の遺伝子を除く11個の遺伝子のうち、7個の遺伝子 *unc-51*(酵母 *ATG1* の線虫オーソログ)、*atg-3*、*atg-5*、*atg-7*、*atg-9*、*lgg-3*(酵母 *ATG12* の線虫オーソログ)、*atg-16.2* の抑制により寿命が15から25%延長し、残りの4個の遺伝子の抑制では寿命を有意には変化させなかった。次に、発生への影響を避けるため、発生後から RNAi を開始し、寿命への影響を検討した。その結果、野生型において、2個の遺伝子の抑制により寿命が短縮したが、4個の遺伝子 *unc-51*、*bec-1*(酵母 *ATG6*、ヒト *beclin 1* の線虫オーソログ)、*atg-7*、*atg-9* の抑制により、寿命が約10%延長した。*daf-2*変異体においても、1個の遺伝子の抑制により寿命が短縮したが、野生型において抑制により寿命が延長した4個の遺伝子のうち、1個を除く3個の遺伝子 *unc-51*、*bec-1*、*atg-9* の抑制により、寿命が10から15%延長した。次に、この3個の遺伝子の抑制による寿命延長が、寿命制御に関与すると既に知られている遺伝子や経路に依存しているかを検討したところ、フォークヘッド型転写因子 *daf-16* や NAD<sup>+</sup>依存性脱アセチル化酵素 *sir-2.1*、ミトコンドリアの機能に関与する遺伝子に依存していないことが示唆された。これらの結果は、線虫において、オートファジーは、必ずしも寿命を延長させるような効果を持つのではなく、むしろ寿命を制限する働きを持つことを示している。

## (論文審査の結果の要旨)

本研究において申請者は、生物が老化につれて分解機構が低下し、タンパク質の凝集体等の物質の蓄積が見られることから、分解機構の寿命制御への関与に着目し、オートファジーについて解析を行った。オートファジーと寿命制御の関係として、これまでオートファジーは寿命を延長させるような効果を持つと考えられてきたが、申請者は、線虫 *C. elegans* においてオートファジー遺伝子の寿命に対する影響を RNAi により体系的に解析し、むしろ寿命を制限する働きを持つことを初めて示した。線虫 *C. elegans* は、腸や神経を持つ多細胞生物で、ゲノム解読が完了しており、また老化、寿命研究のモデル生物としてよく用いられている。申請者は、線虫 *C. elegans* のゲノム中からオートファジー遺伝子の探索を行い、線虫のオートファジー遺伝子を同定した。同定した 14 個の遺伝子について RNAi を行い、寿命への影響を体系的に解析した。野生型においてマターナル RNAi を行った結果では、これまでの報告と同じように寿命を短縮する傾向であったが、*daf-2* 変異体 (インスリン/IGF-1 受容体の機能低下変異体で寿命が延長する) においてマターナル RNAi を行った結果では、発生異常を示さなかった 11 個の遺伝子のうち 7 個の遺伝子の RNAi により寿命が延長した。また発生後から RNAi を行った結果においてオートファジー遺伝子の抑制により寿命を変化させる場合は少なく、むしろ寿命を延長し得ることを示した。さらに申請者は、発生後から RNAi を行うことにより野生型および *daf-2* 変異体において寿命を延長させた 3 個の遺伝子について、その寿命延長の機構について検討を行った。その結果、老化、寿命制御に関与すると既に知られている遺伝子や経路の変異体においても、オートファジー遺伝子の抑制により寿命が延長し得ることを示した。多数のオートファジー遺伝子について体系的に寿命への影響を解析する研究はほとんど行われておらず、本研究は興味深いものである。また、オートファジー遺伝子の抑制により、寿命が短縮するもしくは変化を与えないという報告はあったが、オートファジー遺伝子の抑制により寿命が延長するという結果は初めてであり、価値ある報告である。以上のように、本論文で述べられた成果は非常に重要であり、本論文は博士 (生命科学) の学位論文として価値あるものと認めた。さらに、平成 21 年 4 月 10 日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。