

(続 紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏 名	宇 野 雅 晴
論文題目	断続的飢餓による寿命延長におけるストレス応答性MAPK KGB-1の役割		
(論文内容の要旨)			
酵母から哺乳類に至る真核生物の寿命を、遺伝子を操作せずに延長する強固な方法として食餌制限が知られており、食餌制限は老化に伴う癌や心疾患といった老化疾患の発症を抑制することも知られている。しかし、食餌制限による抗老化作用の分子機構については多くのことが分かっていない。申請者は、食餌制限の方法の一つである断続的飢餓を用いて研究を行った。飢餓刺激によって引き起こされる遺伝子発現の変化と寿命延長が密接にかかわりあっていると考え、DNA マイクロアレイを用い、飢餓刺激による転写変化の包括的解析から、寿命延長に関わる新たな因子の同定を試みた。解析の結果、飢餓刺激により早期に発現の上昇する遺伝子群に寿命やストレス応答に関係する遺伝子が濃縮していることが分かった。そこで、この早期に応答する遺伝子群を制御する転写因子を予測するためにプロモーター解析を行った。その結果、候補の転写因子として FOXO と AP-1 が予測された。線虫 FOXO である DAF-16 が断続的飢餓による寿命延長に関与していることは既に分かっていたので、AP-1 に着目し解析を進めた。転写因子 AP-1 を構成する線虫 c-Jun ホモログ <i>jun-1</i> と線虫 c-Fos ホモログ <i>fos-1</i> をそれぞれノックダウンして寿命を測定した結果、共に断続的飢餓による寿命延長を抑制することが分かった。次に、AP-1 の上流で働くシグナル伝達経路を探索するために、c-Jun を活性化することが知られているストレス応答性 MAP キナーゼ JNK(c-Jun N-terminal kinase)に着目した。線虫 JNK である KGB-1, KGB-2, JNK-1 それぞれの機能欠失型変異体を用いて寿命測定を行った結果、KGB-1 の変異体においてのみ断続的飢餓による寿命延長が抑制された。さらに、MAPKK の MEK-1 や MAPKKK の MLK-1, NSY-1 の機能欠失型変異体においても同様に断続的飢餓による寿命延長の抑制が観察された。また、KGB-1 は、飢餓刺激により活性化し、AP-1(JUN-1 と FOS-1)を直接リン酸化できることが分かった。遺伝子発現の網羅的解析から、飢餓刺激依存的に発現上昇する遺伝子の大半が、KGB-1/AP-1 経路によって制御されていることが分かった。以上のことから KGB-1/AP-1(JUN-1/FOS-1)経路が、飢餓刺激による転写制御と寿命延長において、中心的役割を果たしていることが示された。また、飢餓刺激への関与が既に分かっている DAF-16 とは、核内で協調的に働くことによって標的遺伝子を制御しているという結果を得た。KGB-1/AP-1 経路と、DAF-16 が共通に制御している遺伝子として、Skp1-Cullin-F-box protein E3 ubiquitin ligase 構成因子を同定した。飢餓刺激による Skp1-Cullin-F-box protein E3 ubiquitin ligase の遺伝子発現上昇は、飢餓期間のタンパク質のユビキチン化を亢進させ、また老化に伴って蓄積されるカルボニル化タンパク質の蓄積を軽減させ、断続的飢餓による寿命延長に関与することが分かった。以上をまとめると、飢餓刺激は、飢餓応答性シグナル伝達経路を介してタンパク質恒常性を向上させることによって寿命を制御していることを明らかにした。			

(論文審査の結果の要旨)

申請者は、線虫をモデル生物として用い、飢餓によりKGB-1シグナル伝達経路が活性化され、その下流で転写因子AP-1が遺伝子発現変化を引き起こすことによって、抗老化作用を活性化し、寿命を延長させていることを明らかにした。これまでに、断続的飢餓による寿命延長にはエネルギー感知に関わるRheb/TOR経路が必要であり、Rheb/TOR経路の下流でインスリン/IGF-1シグナル伝達経路のエフェクターのフォークヘッド型転写因子DAF-16による遺伝子発現の変化が誘導されることが寿命の延長に関わっていることが報告されていた。しかし、DAF-16の寿命延長における役割は部分的であった。申請者は、断続的飢餓による寿命延長に關与するDAF-16以外の新規因子を同定するため、飢餓による遺伝子発現の変化に着目し、解析を行った。遺伝子発現変化の網羅的解析から、飢餓により寿命制御やストレス応答に関する遺伝子群が、飢餓刺激後12時間以内に誘導されることを明らかにした。さらに、in silico解析により、その遺伝子群の発現誘導を制御する可能性のある転写因子としてAP-1を見出した。線虫AP-1である、JUN-1及びFOS-1をノックダウンし、寿命測定することにより、遺伝子発現の網羅的解析とin silico解析から予測されたAP-1が断続的飢餓による寿命延長に關与していることを明らかにした。AP-1の上流で働く因子としてJNKを予測し、変異体を用いて調べた結果、3つの線虫JNK(JNK-1, KGB-1, KGB-2)のうちKGB-1のみが断続的飢餓による寿命延長に必要であることを明らかにした。また、申請者は、生化学的実験により、KGB-1が飢餓により活性化し、さらにはKGB-1がAP-1を活性化することを見出した。続いて、申請者は、KGB-1の上流のMAPKK、MAPKKの探索を行った。その結果、断続的飢餓による寿命延長時に働くKGB-1シグナル伝達経路が、MAPKKとしてMLK-1とNSY-1、MAPKKとしてMEK-1、MAPKとしてKGB-1によって構成されることを明らかにした。申請者は、飢餓刺激に反応するKGB-1/AP-1経路と、インスリン/IGF-1シグナル伝達経路のエフェクターDAF-16の関係を、詳細に調べた結果、二つの経路が、核内での遺伝子の発現制御レベルで協調的に働くことを明らかにした。次に、申請者は、マイクロアレイを用い、これら飢餓刺激に応答するシグナルネットワークの下流で誘導される抗老化作用の分子メカニズムの解明を目指した。その結果、寿命を制御する遺伝子の候補として、Skp1-Cullin-F-box protein (SCF) ubiquitin E3 ligase complexを同定した。その後の生化学的解析から、SCF ubiquitin E3 ligase complex依存的に、飢餓刺激によりタンパク質のユビキチン化の亢進と、老化と共に蓄積される酸化タンパク質の一つであるカルボニル化タンパク質の蓄積の減少が起こっていることを明らかにした。そして、構成因子のノックダウンの実験から、SCF ubiquitin E3 ligase complexが断続的飢餓による寿命延長に必要であることを明らかにした。以上の結果から、KGB-1/AP-1経路が断続的飢餓による寿命延長にとって重要なシグナル伝達経路であることと共に、断続的飢餓による寿命の延長機構の一端を明らかにしている。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。また、平成25年1月28日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、申請者を合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日