

京都大学	博士 (医学)	氏 名	畠中 史幸
論文題目	Genome-wide profiling of the core clock protein BMAL1 targets reveals strict relationship with metabolism. (転写因子 BMAL1 のゲノム網羅的研究による概日リズムと代謝の連関の解明)		
(論文内容の要旨)			
ヒトをはじめとする哺乳類において、概日リズムは睡眠、代謝、摂食など様々な生理機能に影響し、ホメオスタシスの維持と密接に関与している。概日リズムは、bHLH-PASドメインを有する転写因子BMALとCLOCK (NPAS2) のヘテロ二量体と、PER、CRY遺伝子群による転写・翻訳のフィードバックループによって調節され、精巧な遺伝子発現システムにより制御されている。本研究では、概日リズムにおける階層的システムの分子機構をゲノムワイドに理解するために、全ゲノムクロマチン免疫沈降シーケンス法 (Chromatin immunoprecipitation;ChIP-seq) およびマイクロアレイ法 (ChIP-chip) を用いて、BMAL1のゲノム上結合部位の網羅的研究を行った。 その結果、ChIP-seq解析により172箇所 (連続する Tag>10) 、ChIP-chip解析により32箇所 (Fold change>5) のBMAL1結合領域を同定した。両解析ともに強いシグナルが見られた遺伝子には、既にBmal1による調節が報告されているPer1, 2、Cry1, 2、Rev-erbα、Dbp、Tefが含まれ、さらに新規Bmal1制御遺伝子であるGm129が含まれていた。Gm129はBMAL1/CLOCKにより増強される転写活性を抑制する機能を有しており、概日リズムシステムの新規因子を担う可能性が示唆された。またChIP-seq解析により得られた配列からモチーフ検索を行った結果、BMAL1の結合配列として知られているCACGTGエレメント (E-box) に加え、CATTGGエレメントを同定した。hDbpプロモーターを用いて、各エレメントの役割を検討した結果、CACGTGエレメントは転写リズムの発振を、CATTGGエレメントは転写活性を調節する役割を担っていた。しかしながら、BMAL1は直接的にCATTGGエレメントを介して転写活性を調節しているのではなく、間接的に調節している可能性が示唆された。また、Bmal1制御遺伝子の発現パターンは、野生型およびBMAL1ノックアウトマウスの肝臓において2つのグループに分けられた。1つはBMAL1ノックアウトマウスで完全に発現が消失する遺伝子群であり、Rev-erbα、Dbp、Gm129などが含まれていた。もう1つはBMAL1ノックアウトマウスにおいても発現が消失せず、リズム位相が変化する遺伝子群でありPer1, 2、Cry1, 2などが含まれていた。これは、前者ではBmal1が主に転写を支配し、後者ではBmal1は他の転写因子と協調して転写を制御していると考えられた。Gene Ontology解析の結果、Bmal1制御遺伝子は有意な代謝プロセスとの関連性が確認された。そこで、野生型およびBMAL1ノックアウトマウスの肝臓において、DNAマイクロアレイ解析を行った結果、グリコーゲン合成やコレステロール代謝に関わる遺伝子において顕著な発現パターンの差が見られた。			

以上のことから、本研究はBMAL1のゲノム網羅的な制御部位を明らかにし、遺伝子発現制御に重要な新たなエレメントを同定した。さらに、概日リズムの階層的システムと代謝との密接な関係を見出した。これらの結果は、概日リズムにおける遺伝子制御ネットワークのみならず、概日リズムと様々な生理的機能の分子の関連性に重要な知見を与えると考えられる。
(論文審査の結果の要旨) 本研究は、概日リズムの分子機構をゲノムワイドに理解する目的で、ChIP-seq法およびChIP-chip法を用いて、BMAL1のゲノム上結合部位の網羅的解析を行ったものである。本論文により、ChIP-seq解析より172箇所、ChIP-chip解析より32箇所のBMAL1結合領域を同定した。両解析に共通する8遺伝子は既知のPer1、Per2、Cry1、Cry2、Rev-erbα、Dbp、Tefと新規BMAL1制御遺伝子Gm129が含まれていた。レポーター解析から、Gm129はBMAL1/CLOCKにより増強される転写活性を抑制する機能を有し、概日リズムシステムの新規因子を担う可能性が示唆された。またChIP-seqより得られた配列からモチーフ解析を行った結果、リズム発振に重要なCACGTG配列（E box）に加え、転写活性に重要なCATTGG配列を同定した。さらに、Gene Ontology解析から、BMAL1が直接制御する遺伝子群には代謝プロセスに関わる遺伝子が有意に含まれ、また野生型とBmal1KOマウスの肝臓を用いてDNAマイクロアレイ解析を行った結果、グリコーゲン合成やコレステロール代謝に関わる遺伝子において顕著な差が見られた。 以上の研究はBMAL1が介する遺伝子制御メカニズムの解明に貢献し、概日リズムと様々な生理的機能との分子の関連性の理解に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成23年1月18日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。
要旨公開可能日： 年 月 日以降