

| | |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏名(本籍) | さか まき じゅん いち 坂 巻 純 一 (千葉県) |
| 学位の種類 | 博士(農学) |
| 学位記番号 | 博甲第5744号 |
| 学位授与年月日 | 平成23年3月25日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 審査研究科 | 生命環境科学研究科 |
| 学位論文題目 | A Novel Regulatory Pathway for FOXO1-mediated Cell Cycle Arrest and BAD-dependent Apoptosis (FOXO1を介した細胞周期停止とBAD依存的なアポトーシスの新規制御機構) |
| 主査 | 筑波大学教授 農学博士 深水昭吉 |
| 副査 | 筑波大学教授 農学博士 馬場忠 |
| 副査 | 筑波大学教授 博士(薬学) 柳澤純 |
| 副査 | 筑波大学准教授 博士(農学) 谷本啓司 |

論文の内容の要旨

細胞の増殖や生存/死は成長因子やDNA損傷、活性酸素種などの様々なストレスといった細胞内外のシグナルに応答して厳密に制御されているが、この制御の破綻は個体発生の異常やガンの原因となる。細胞の増殖や生存/死に関与する遺伝子の制御機構を明らかにすることは、個体発生の異常やガン発症のメカニズムの理解につながる。著者は、細胞周期の停止やアポトーシス誘導に関与する転写因子FOXO1の新規制御因子PARP-1を同定した。さらに、アポトーシス制御因子BADのアルギニンメチル化修飾が、その機能調節に重要であることを明らかにした。

転写因子FOXO (forkhead box O) は細胞周期やアポトーシス、DNA修復、糖新生に関与する遺伝子の発現を制御し、がん抑制や血糖値の維持に重要な働きをしている。FOXOの機能はリン酸化、アセチル化、メチル化、ユビキチン化などの翻訳後修飾やPGC-1 α 、 β -cateninなどの転写共役因子との結合により制御されることが報告されている。FOXOの生理機能は、細胞の増殖・生存から糖代謝の調節まで多岐にわたるが、詳細な制御機構の解明には至っていない。先行研究において、FOXO1の制御機構を明らかにするためにFOXO1の複合体精製が行われ、新規相互作用因子としてPARP-1 (poly (ADP-ribose) polymerase-1) が同定された。PARP-1はNAD (nicotinamide adenine dinucleotide) を基質として、タンパク質にADPリボースを付加重合する(ポリ(ADP-リボシル)化)酵素であり、DNA修復や転写制御に関与することが知られている。著者は、PARP-1がFOXO1をポリ(ADP-リボシル)化することを明らかにした。一方で、PARP-1はFOXO1標的遺伝子のプロモーター上でFOXO1に結合することで、酵素活性非依存的にFOXO1の転写活性化能を抑制した。その結果、FOXO1の標的遺伝子で細胞周期の停止を誘導するp27^{Kip1}の発現が低下し、細胞増殖が亢進することを示した。著者は、PARP-1によるFOXO1の新規抑制機構、及びその細胞増殖における役割を明らかにし、FOXO1の新規翻訳後修飾としてポリ(ADP-リボシル)化が関与する可能性を示唆した。

PRMT1 (protein arginine methyltransferase 1) は、S-アデノシルメチオニンをメチル基供与体として、タンパク質のアルギニン残基にメチル基を転移する酵素である。基質として、ヒストンや転写調節因子、RNA

輸送因子、シグナル伝達因子、DNA 修復因子などをメチル化して、その機能を制御することが知られている。先行研究において、PRMT1 が FOXO1 の Akt リン酸化コンセンサス配列 (RxRxxS/T, x は任意のアミノ酸) 内の 2 ヶ所のアルギニン残基をメチル化すること、また、このメチル化が Akt によるリン酸化を阻害することが発見された。著者は、FOXO1 の Akt リン酸化コンセンサス配列が PRMT1 によるメチル化の標的となる点に着目し、RxRxxS/T モチーフをもつ他の Akt 基質タンパク質も PRMT1 によるメチル化修飾を受け、Akt 依存的なリン酸化が阻害されるのではないかと考えた。そこで、この可能性を検討し、アポトーシス制御因子である BAD が PRMT1 によりアルギニンメチル化されることを明らかにした。BAD はミトコンドリア膜上で機能するアポトーシス促進因子であるが、通常は Akt によってリン酸化を受け、細胞内局在がミトコンドリアから細胞質へと移行し、その機能が抑制されている。著者は、PRMT1 が BAD の Akt リン酸化コンセンサス配列中の 2 カ所のアルギニン残基をメチル化し、Akt による BAD のリン酸化を阻害することを明らかにした。さらに、このアルギニンメチル化によるリン酸化の抑制が BAD のミトコンドリア局在とアポトーシス誘導能に重要であることを示した。以上、本研究により、アルギニンメチル化による BAD の新規制御機構が明らかになり、さらに、Akt コンセンサス配列内のアルギニンメチル化が Akt によるリン酸化を阻害するという、新たな Akt シグナル伝達制御機構が示された。

審査の結果の要旨

本研究において、著者は PARP-1 による FOXO1 の新規抑制機構を検証し、これが細胞増殖に重要な役割を果たすことを明らかにした。さらに、BAD のアルギニンメチル化が Akt 依存的な BAD の抑制を防ぐことで、アポトーシス誘導に働くことを示した。ノックアウトマウスを用いた解析により、PARP-1、FOXO1、BAD や PRMT1 がガン抑制や個体発生に必須な働きをしていることが報告されている。著者が明らかにした PARP-1 による FOXO1 の機能制御、PRMT1 による BAD の機能制御が、ガン抑制や個体発生に重要な働きをし、それらの制御の破綻が個体発生の異常やガンの原因となり得ることが予想される。以上のように、著者は PARP-1 による FOXO1 の新規抑制機構、そしてアルギニンメチル化による BAD の新規制御機構を明らかにした独創的な研究を行い、個体発生の異常やガンの分子機構の理解に貢献する知見を発見したと判断される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。