

氏名(本籍)	たが はし ゆう た 高橋悠太(北海道)			
学位の種類	博士(生物工学)			
学位記番号	博甲第5749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	Asymmetric Arginine Dimethylation Determines Lifespan in <i>Caenorhabditis elegans</i> by Regulating Forkhead Transcription Factor DAF-16			
	(線虫 <i>Caenorhabditis elegans</i> において、非対称性アルギニンジメチル化がフォークヘッド型転写因子 DAF-16 を制御し、寿命を決定する)			
主査	査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉
副査	査	筑波大学教授	農学博士	馬場忠
副査	査	筑波大学教授	農学博士	小林達彦
副査	査	筑波大学教授	博士(薬学)	柳澤純

論文の内容の要旨

アルギニンメチル化は、protein arginine methyltransferases (PRMTs) によって、タンパク質のアルギニン残基にメチル基が付加される修飾である。現在までに、様々な因子がアルギニンメチル化により機能制御されることが報告され、この化学修飾が多くの細胞内機構に関わっていることが明らかにされつつある。しかしながら、生体内における PRMTs の機能は未解明な部分が多い。そこで著者は、PRMTs の生理機能を理解するために、遺伝学を行う上で優れたモデル生物である線虫 *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) を用いて、本研究を遂行した。

これまで、*C. elegans* における PRMTs のメチル基転移活性については、報告がなされていなかった。まず著者は、線虫のゲノムデータベース上からヒト PRMTs と相同性を持つ *C. elegans* PRMT を検索し、クローニング後に精製を行った。ヒストンを基質として PRMT-1 の活性を評価すると、モノメチル化アルギニン (monomethylated arginine: MMA) に加え、非対称性ジメチル化アルギニン (asymmetric dimethylarginine: ADMA) を産生する酵素であることが示された。また、PRMT-5 は MMA 及び対称性ジメチル化アルギニン (symmetric dimethylarginine: SDMA) の産生を触媒した。さらに、PRMT-3 がモノメチル化のみを触媒する酵素であることを見いだした。

次に、著者は *C. elegans* PRMT-1 欠損変異体の解析を行い、PRMT-1 の生体内における機能を解明した。PRMT-1 欠損変異体において ADMA が検出されなかったことから、PRMT-1 が線虫における主要な ADMA 産生酵素であることが明らかとなった。マウスやショウジョウバエの PRMT1 欠損変異体は発生段階で致死になるのに対し、*C. elegans* PRMT-1 欠損変異体は発生及び成長段階で顕著な異常は観察されなかった。これにより、他のモデル生物と異なり、線虫 PRMT-1 欠損変異体の成虫は表現型解析が可能であり、PRMT1 の新しい生理機能が見いだされると期待された。表現型解析の過程で、著者は PRMT-1 欠損変異体の寿命が野生型に比べ、有意に短縮することを見いだした。さらに、PRMT-1 はその酵素活性依存的に、線虫の寿命を

制御することが明らかになった。線虫において、インスリンシグナル伝達経路とそれにより負に制御される Forkhead 型転写因子 DAF-16 が寿命を制御することが報告されてきた。インスリン受容体 / *daf-2* の機能欠損変異体は *daf-16* に依存して長寿命を示すことから、DAF-16 による転写活性化が寿命延長を引き起こすとされている。著者は、線虫の寿命を指標にした遺伝学的な解析により、PRMT-1 が転写因子 DAF-16 の機能亢進を介して、寿命延長に寄与していることを明らかにした。

さらに、生化学的な解析から、PRMT-1 による DAF-16 の機能制御機構が解明された。DAF-16 は、インスリンシグナル伝達因子であるキナーゼ AKT によりリン酸化を受け、その転写活性化能が抑制される。興味深いことに、PRMT-1 は AKT の認識モチーフ (R-X-R-XXS/T) 内に存在するアルギニン残基をメチル化し、そのメチル化が AKT を介した DAF-16 のリン酸化を阻害することが明らかとなった。また、PRMT-1 欠損変異体において、DAF-16 のリン酸化が亢進し、DAF-16 標的遺伝子の mRNA 量が低下していることが確認された。以上の結果から、PRMT-1 はアルギニンメチル化により DAF-16 の AKT を介したリン酸化を阻害し、DAF-16 を活性化させることで寿命の延長を引き起こすことが明らかになった。

審査の結果の要旨

本研究は、モデル生物である線虫を用いた遺伝学的及び生化学的解析を駆使し、PRMT-1 とそれが触媒するアルギニンメチル化が生物の寿命を制御することを示した革新的な知見である。また、本研究によりアルギニンメチル化と AKT リン酸化の修飾間クロストークが個体レベルで検証された。ヒトにおいて AKT シグナル経路の異常は糖尿病の発症やガンの進展に深く関与することから、本研究成果はこうした病態解明の新たな切り口を提示するとともに、将来的には創薬研究の一助となる可能性を秘めているものと期待している。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。