

氏名	劉 彬彬		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博甲第 7846 号		
学位授与年月	平成 28 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	人間総合科学研究科		
学位論文題目	The role of ATF7 in the maintenance of stress-induced telomere shortening (ストレスによるテロメア短縮の維持における ATF7 の役割)		
主査	筑波大学教授	医学博士	久武 幸司
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	入江 賢児
副査	筑波大学教授	博士 (医学)	島野 仁
副査	筑波大学講師	医学博士	竹内 薫

論文の内容の要旨

(目的)

テロメアは染色体末端に存在する反復配列からなり、環境ストレスによって短縮することが明らかにされている。ヒトでは、子宮内で受けたストレスが出生後のテロメアの長さに関連し、また両親の生活歴が子供のテロメアの長に影響を及ぼすことも知られている。しかし、子宮内でのストレスや両親のストレスが子供のテロメアの長さに影響を及ぼすかどうかを直接的に示した研究はない。

ストレスに反応する転写因子の一つとして ATF/CREB ファミリーの ATF7 が知られておりストレス存在下では、ATF7 は p38 によりリン酸化される。例えば、TNF- α はストレスにより誘導され、p38 を活性化し、ATF7 をリン酸化することが知られている。ATF7 がリン酸化されると、ATF7 とテロメラーゼの複合体がテロメアから解離し、テロメアの短縮が引き起こされる。また、ATF7 は Suv39H1 を介してテロメア領域の H3-K9 のメチル化を促進し、ヘテロクロマチンの形成や維持に関与することも知られている。さらに、ショウジョウバエの研究から、ストレスによるテロメア短縮が、ATF7 のホモログである dATF2 を介して引き起こされ、次世代に遺伝することが分かっている。

本研究では、親マウス、特に雄親マウスの受けたストレスが、その仔マウスでテロメア短縮を引き起こすかどうか、またその際に ATF7 がどのような役割を果たすかを明らかにすることを目的とした。

(対象と方法)

野生型および ATF7 遺伝子を欠損した妊娠雌マウスの腹腔内に TNF- α を投与し、仔マウスのテロメア長を qPCR で解析した。また、野生型および ATF7 遺伝子を欠損した雄マウスに同様に TNF- α を投与し、交配後に仔マウスのテロメア長を qPCR で解析した。さらに、各マウスから細胞を分離し、TERRA (telomere repeat-containing RNA) の発現量を RT-PCR で、テロメア上での ATF7 および TERRA の存在量、H3-K9 のメチル化の程度をクロマチン免疫沈降法にて解析した。

(結果)

雌マウス (F₀) に TNF- α を投与し、子宮内の胎児マウスにストレスを与えると、生後 3 週齢の仔マウス (F₁) で、一過性にテロメア短縮が認められた。このテロメア短縮は骨髄、脾臓及び肝臓など限られた組織でのみ観察された。ATF7 遺伝子を欠損した雌マウスで同様の実験を行うと、仔マウスでのテロメア短縮は観察されなかった。

雄マウス (F₀) にストレスを与えると、その雄マウス (F₀) のテロメア長は変化しなかったが、仔マウス (F₁) では、生後 6 週齢でテロメア短縮が観察された。ATF7 遺伝子を欠損した雄マウス (F₀) に同一のストレスを与えても、仔マウス (F₁) でテロメア短縮は観察されなかった。

TNF- α 投与後に雄マウス (F₀) の生殖細胞を解析すると、ATF7 がリン酸化され、その結果テロメア及び TERRA プロモーターでの ATF7 の結合と H3K9 のメチル化は減少し、TERRA RNA の発現が増加した。しかし、その仔マウス (F₁) では H3K9 のメチル化は雄親マウス (F₀) とは逆に増加したが、TERRA RNA の発現は減少せず、むしろ増加した。

(考察)

雌および雄マウス (F₀) にストレスを与えると、一過性かつ一部の組織のみであるが、仔マウス (F₁) のテロメア短縮を引き起こすことが明らかとなり、この過程に ATF7 が関与することが分かった。特に雄マウス (F₀) での解析から、このテロメア短縮では、ATF7 リン酸化により TERRA 遺伝子近傍の H3K9 のメチル化が低下し、TERRA RNA が精子細胞内で誘導され、その結果として仔マウス (F₁) のテロメア長を制御されていることが示唆された。

本研究は、マウスの受けたストレスが、生殖細胞内のエピジェネティックな変化とともにテロメア長にも影響を与え、その影響が次世代に遺伝することを明らかにした。この結果は、エピジェネティックな変化が世代を超えて遺伝するメカニズムを解明する一助となることが期待される。

審査の結果の要旨

(批評)

本研究は、ATF7 遺伝子欠損マウスを用いて、マウスの受けたストレスが、ATF7 のリン酸化を介して次世代マウスのテロメア長に影響を及ぼすことを明らかにした。特に精子細胞内のテロメア領域に対する ATF7 や TERRA RNA の作用を解析し、親マウスの受けたストレスが仔マウスに影響を及ぼすメカニズムの一端を明らかにした点で、本研究は高く評価できる。

平成 28 年 1 月 18 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

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