

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	氏名	椿山 諒平
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論 文 題 目			
Studies on the regulatory mechanism of cell growth and life span in budding yeast (出芽酵母の細胞増殖と寿命の制御機構に関する研究)			
論文審査担当者			
主 査	准 教 授	水 沼 正 樹	印
審査委員	教 授	土 屋 英 子	印
審査委員	教 授	山 下 一 郎	印
審査委員	教 授	平 田 大	印
〔論文審査の要旨〕			
<p>本論文では、真核細胞の細胞増殖および寿命の制御機構について、ヒトのモデル細胞として単細胞真核生物である出芽酵母を用いて、本系に関わる主要シグナル伝達経路を同定し、その機構を解析することにより論じている。細胞内シグナル伝達経路の研究により、免疫、発生、癌などの様々な生命現象の詳細が分子レベルで明らかにされてきた。癌を含む多くの疾患は、シグナル伝達経路における異常が原因であることが報告されている。また、普遍的な生命現象である寿命・老化もシグナル伝達経路によって制御されていることが示唆されており、寿命制御の分子メカニズムが明らかになりつつある。本論文では、シグナル伝達経路の細胞増殖における新規機能と寿命制御に注目した。</p> <p>緒言では、まず、シグナル伝達経路に関わる細胞増殖機構について概説し、本論文で使用したモデル細胞である出芽酵母について、重要性と有用性を述べている。次に、シグナル伝達系のなかでもとりわけ真核生物の主要シグナルメディエータである Ras/cAMP 依存性プロテインキナーゼ PKA および Ca²⁺シグナルに注目し、それらに関わる細胞機能および現在の問題点について、説明している。本論文では、以下の2章に、その研究成果をまとめている。</p> <p>第1章では、Whi3による多様な生理現象について PKA によるリン酸化に注目し、その解析を通して論じている。これまでに Ca²⁺シグナルによる増殖制御機構の全容を明らかにするために、<i>Δhog1</i> 株が示す Ca²⁺感受性を抑圧する変異株 <i>sgH</i> を多数取得し、その解析が行われた。遺伝的解析から、<i>sgH4</i> の原因遺伝子として、RNA 結合タンパク質をコードする <i>WHI3</i> が同定された。Whi3 は、細胞サイズ、G₁/S 期進行および偽菌糸形成や減数分裂などの細胞分化を制御することが報告されているが、これら様々なシグナル応答における Whi3 の上流因子については</p>			

不明であった。まず、Whi3 は PKA によりセリン残基 568 番目(Ser-568)がリン酸化されていることに注目し、その役割の解明を目的に同部位の非リン酸化模倣株 (Whi3-S568A)およびリン酸化模倣株 (Whi3-S568D)を構築した。それら変異株を用いた解析から、PKA による Whi3 のリン酸化は Whi3 の機能を阻害することが示唆された。さらに、このリン酸化は G₁/S 期進行に必要で、一方、細胞分化 (偽菌糸形成や胞子形成)への移行は阻害することがわかった。また、Whi3-S568D 株では、CLN3 mRNA との結合が減少していた。以上より、PKA は Whi3 のリン酸化によりその機能を制御し、PKA による Whi3 の制御は細胞運命の決定に重要な役割を担うことが示唆された。

第 2 章では、Ca²⁺シグナルと寿命について論じている。Ca²⁺シグナルに関わる生理機能を明らかにするためにΔ*zds1* 株が示す Ca²⁺感受性を抑圧する変異株 *scz* を取得し、原因遺伝子のひとつとして、寿命制御に関与することが報告されている *SIR3* を同定した。そこで、本章では Ca²⁺シグナルが関与する寿命制御機構に注目した。Ca²⁺シグナルと寿命との機能的関係を調べた結果、Ca²⁺の添加により野生株の複製的寿命 (RLS : Replicative Life Span)が有意に短縮した。この結果から、細胞内 Ca²⁺の上昇ならびに、それによるカルシニューリン(CN : Ca²⁺/カルモジュリン依存性ホスファターゼ)の活性化によって寿命の短縮がもたらされることが予想された。実際、細胞内 Ca²⁺レベルが上昇し、CN が活性化しているΔ*zds1* 株では、野生株に比べ寿命が短縮した。また、CN 破壊株においても寿命の短縮が観察され、CN の適切な活性制御が寿命制御に重要であることが示唆された。以上の結果から、細胞内 Ca²⁺ホメオスタシスならびに Ca²⁺シグナル伝達が出芽酵母における寿命延長に重要であることが示唆された。

以上、本研究による解析から、酵母から高等生物にまで保存された機能分子の新規生理機能が明らかにされ、特に PKA が Whi3 を介して細胞増殖と細胞分化を調節する新規機能を発見し、また、Ca²⁺シグナルによる寿命制御の一端を明らかにした。本成果は、高等生物における複雑なシグナル伝達経路のネットワークの理解のみならず、疾患原因の究明、ひいては医薬品の研究開発、予防医学など多岐にわたる重要な研究分野の推進に寄与することが期待される。

以上より、本論文の著者は、博士 (理学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと判断する。