

論文内容の要旨

申請者氏名 高橋 桂子

本研究では、GHL (Gyrase B, Hsp90, MutL) ATPase family 蛋白、MORC3 (Microrchidia3) が p53 の PML body への局在化を制御し、細胞老化の誘導に関与していることを明らかにした。

1) MORC3 の高発現は細胞老化を誘導する。

ヒト正常繊維芽細胞に MORC3 を高発現させたところ、著しい増殖の抑制、細胞老化特異的な形態変化が見られ、細胞老化マーカー SA- β -gal 活性を示す細胞が顕著に増加していた。また細胞老化に特異的な p16 の発現上昇も見られたことから、MORC3 の発現が細胞老化を誘導することが示唆された。Wt の MEF では、ヒトの場合と同様に細胞の増殖抑制や形態変化が観察されたが、p53^{-/-}の MEF では確認されなかったことから、MORC3 が p53 依存的に細胞老化を誘導することが示唆された。

2) MORC3 は p53 の転写活性を制御する。

p53 結合領域のレポーターアッセイの結果、MORC3 の発現により p53 の転写活性が上昇していることがわかった。一方、ATPase 不活性変異型 MORC3 ではこのような上昇が見られなかったことから、MORC3 が ATPase 活性依存的に p53 の転写活性を制御していることが示唆された。また、MORC3^{-/-}の MEF では Wt と同様に p53 がリン酸化やアセチル化され安定化されていたにもかかわらず、p21 の発現上昇が抑制されていることがわかった。MORC3 が p53 の PML body への局在化に関与していることが推察された。

3) MORC3 は ATPase 活性依存的に PML body に局在する。

免疫染色の結果、MORC3 は、恒常的に PML body に局在することが知られている PML や Sp100 と共局在することがわかった。ATPase 不活性型変異分子、あるいは細胞内から ATP を枯渇させた場合に、MORC3 は核内に拡散した。以上の結果は、MORC3 の局在が自身の ATPase 活性依存的に制御されていることを示唆しており、MORC3 の局在が p53 の転写活性を制御することが予測された。

4) MORC3 は p53 や Sp100 の PML body への局在化を制御する。

MORC3 を高発現させた細胞では、通常は核全体に存在する p53 が PML body に集積していた。MORC3 をノックダウンした細胞では、このような集積は見られなかった。さらに、PML body に局在することが知られる Sp100 も核内で拡散していることがわかった。これらの結果は、MORC3 が p53 や Sp100 の PML body への局在化を制御していることを示唆する。

このように、本研究は、脂質膜を持たない核内ドメインへの蛋白の局在化メカニズムに関する初めての報告であり、シグナル応答における PML body を介した転写制御メカニズムの解明に貢献できるものと考えられる。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 高橋 桂子

細胞質にミトコンドリアや小胞体などのオルガネラが存在するように、核内にもいくつかの機能ドメインが存在し、蛋白やDNAがそれぞれに正しく配置されている。このような機能ドメインの一つとして知られるPML bodyには、シグナルに応じて様々な転写調節因子が集合することが知られている。本研究は、MORC3がp53のPML bodyへの局在化を制御し、細胞老化の誘導に関与していることを、主に以下の知見に基づき、明らかにしたものである。

1) MORC3 の高発現は細胞老化を誘導する。

MORC3 を高発現させた細胞では、増殖の抑制、形態変化、強い細胞老化マーカー活性が観察された。また、細胞老化に特異的な p16 の発現上昇も見られたことなどから、MORC3 の発現が細胞老化を誘導することを明らかにした。細胞老化における鍵分子の一つとして転写因子 p53 が挙げられる。そこで、申請者は、*p53*^{-/-}の MEF を用いて、MORC3 による細胞老化への影響を調べ、少なくともマウスにおいて、MORC3 が p53 依存的に細胞老化を誘導することを示す結果を得た。

2) MORC3 は p53 の転写活性を制御する。

次に、レポーターアッセイにより、MORC3 により内在性 p53 の転写活性が上昇していること、しかし、MORC3 の ATPase 不活性型変異体ではこのような上昇は見られないことから、MORC3 が ATPase 活性依存的に p53 の転写活性を制御していることを明らかにした。また、*MORC3*^{-/-}の MEF では Wt と同様に p53 がリン酸化やアセチル化され安定化されていたにもかかわらず、p21 の発現上昇が抑制されていた。

3) MORC3 は ATPase 活性依存的に PML body に局在する。

MORC3 は PML body に局在すること、一方、p53 を活性化しない ATPase 不活性化 mutant は核全体に拡散して存在していた。MORC3 の局在が自身の ATPase 活性依存的に制御されていることを示唆しており、MORC3 の局在が p53 の転写活性を制御することを示唆する結果を得た。

4) MORC3 は p53 や Sp100 の PML body への局在化を制御する

MORC3 をノックダウンした細胞では、p53 や Sp100 の PML body への集積は見られなかった。これらの結果は、MORC3 が p53 や Sp100 の PML body への局在化を制御していることを示唆する。

このように、本研究は、脂質膜を持たない核内ドメインへの蛋白の局在化メカニズムに関する初めての報告であり、シグナル応答における PML body を介した転写制御メカニズムの解明に貢献できるものと考えられる。

以上のように、本論文は細胞老化の制御機構に関わる分子メカニズムを明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。