

## 別紙 2

### 論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 荒井 珠貴

転写因子 FOXO1 は、肝臓における糖新生酵素遺伝子 *PCK1* の転写を、血糖値が低い時には正に制御し、血糖値が上昇した時には、インスリン依存的に負に制御している事が知られている。現在急速に増加している 2 型糖尿病では、この肝臓におけるインスリン依存的な *PCK1* の転写抑制が破綻している事で、血糖値が上昇し、病態を誘起している事が知られている。よって、肝臓におけるインスリン依存的な *PCK1* の転写抑制機構の解明は、その機構に基づく新薬や治療法を開発するにあたって重要である。これまでに、*PCK1* の転写抑制は、インスリン依存的な FOXO1 の核外移行に起因する現象だとするモデルが提唱されている(核外移行モデル)。しかし、この提唱されたモデルが FOXO の過剰発現によって解析された事に起因し、様々な問題点や矛盾する結果が報告されてきている。よって、インスリン依存的な FOXO1 による *PCK1* の転写抑制には、核外移行モデルの他にも制御メカニズムがある可能性が考えられる。本研究では、FOXO1 による *PCK1* の転写抑制に新たな制御機構がある事を明らかにした。

本研究ではまず、内在性の FOXO1 がインスリン依存的に核膜へと移行し、核膜孔タンパク質 NUP98 と相互作用する事を明らかにした。そして、FOXO1 の核膜移行を阻害すると、インスリン依存的な *PCK1* の転写抑制が阻害される事を示した。そして、FOXO1 が *PCK1* のプロモーター領域に結合したまま、*PCK1* 遺伝子領域と共に核膜近傍へと核内で空間的配置変換をする事を示した。さらに、インスリン依存的な FOXO1 の核膜移行に伴い、*PCK1* 遺伝子のプロモーター領域のヒストン H3 の 9 番目のリシンのジメチル化(H3K9Me2)と、ヒストン H3 の 9 番目、14 番目のリシン(H3K9/14Ac)の脱アセチル化が誘起される事を明らかにした。そして、インスリン依存的に FOXO1 がヒストンジメチル化酵素 EHMT2 と複合体を形成する事を示し、EHMT2 によって *PCK1* 遺伝子のプロモーター領域のヒストン H3 の 9 番目のリシンのジメチル化(H3K9Me2)制御と、*PCK1* の転写抑制が制御されている事を明らかにした。これらにより、本研究では、インスリン依存的な *PCK1* の転写抑制が、FOXO1 の核膜移行に伴う、*PCK1*

プロモーター領域のヒストンの化学修飾変化によって制御されるという機構を初めて示した。

本研究ではまた、DNA ダメージストレスや細胞周期チェックポイントを活性化させるストレス依存的に FOXO1 が NUP98 と核膜で共局在化する事を明らかにし、そのストレス依存的な核膜共局在化が、ストレスに応じた細胞周期停止と DNA ダメージ修復を担う *p21* と *GADD45A* の発現を誘起し、ストレスによって誘起された DNA ダメジマー $\gamma$ H2AX の減少を誘起する事を明らかにした。これらにより、本研究で初めて FOXO1 の核内での空間配置変換が、DNA ダメージ修復遺伝子の発現及び、DNA ダメージストレスの減少に寄与している事が示された。ストレスに応じた、細胞周期停止や DNA ダメージ修復を担う遺伝子は、細胞のストレス耐性と生存に重要であり、個体の寿命との関係性も考えられる。よって本研究によって示された *p21* や *GADD45A* の転写制御メカニズムは、ストレス耐性や個体の長寿化に寄与する事が報告されている FOXO1 の機能を解析する上で重要な知見となる事が期待される。

さらに、本研究では初めて核膜孔タンパク質の遺伝子制御への機能の差異に関して有力な仮説を提唱した。核膜孔タンパク質が遺伝子の発現に関与しているとの報告はこれまでにいくつか報告されているが、核膜孔複合体が転写活性化に寄与しているという報告と、反対に転写抑制に寄与しているとの報告があり、どのような場合に転写活性化に寄与し、どのような場合に転写抑制機構に寄与するのかについてはこれまでのところ明らかにされていない。本研究では、緊急発現要求性が高い遺伝子である *p21* や *GADD45A* は核膜孔タンパク質によって転写活性化され、緊急発現要求性の低い遺伝子である *PCK1* は核内部で転写され、むしろ転写抑制の方がより生体にとって重要な *PCK1* などの遺伝子の場合は、核膜周辺構造体を足場として確実な転写抑制を行うという「緊急要求性遺伝子制御モデル」を提唱した。緊急性のある遺伝子を、核膜孔 NUP98 を使用して転写活性化する事は、mRNA を素早く核外に移行させて発現させるのに非常に有利に働く事が考えられる。本研究は、緊急性・役割の異なる遺伝子が異なる目的で核膜孔タンパク質を使用している事を初めて示したものであり、核膜周辺構造と遺伝子制御メカニズムを解明していく上で重要な知見となると考えられる。

以上、本研究の明らかにしたところは極めて重要であり、したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。