

# 論文審査の結果の要旨

氏名 今村 聖路

本論文は、哺乳類における概日時計機構が細胞ストレスに応答すること、およびその応答の鍵となる分子について論じられており、全4章で構成されている。

第1章では当該分野における研究背景について概説している。概日時計機構のもつ特性や生理的意義について詳述されており、個々の細胞における時計発振の分子機構については、転写・翻訳を介した負のフィードバックループと、このループを構成する時計タンパク質のリン酸化修飾の重要性を強調している。ここで学位申請者は、リン酸化シグナルを惹起する細胞ストレスに着目し、細胞ストレス応答と概日時計機構の連関の有無および、両者を結びつける鍵分子の同定を研究目標に据えている。

第2章では、ストレス応答性 MAPK である JNK が概日時計の発振において果たす役割についてまとめられている。学位申請者は主として培養細胞に対する JNK の機能阻害実験を展開し、JNK が時計タンパク質 BMAL1 のリン酸化修飾を担う責任キナーゼであることを突き止めた。また、この BMAL1 リン酸化にともなって、細胞時計の概日リズム周期が制御されることを明らかにした。JNK の複数のアイソフォーム間の違いにも着目しており、少なくともマウス由来の線維芽細胞である NIH3T3 の時計発振においては、JNK1 の寄与が大きいことを示した。この章の最後では、BMAL1 以外の時計タンパク質も JNK によってリン酸化される可能性や、JNK と並ぶストレス応答性キナーゼである p38 の時計機構への寄与について、先行知見と併せながら議論している。

第3章では、ストレス応答性 MAP3K である ASK による細胞ストレス依存的な時計制御についてまとめられている。学位申請者は前章での結果を受けて、細胞ストレス応答が概日時計機構を制御する可能性について検証した。最初に、培養細胞の時計を長期にわたって測定すると、細胞時計の概日リズムが徐々に長周期化することを見出した。この発見を皮切りに、培養培地の浸透圧変化などの細胞ストレスが細胞時計の周期や位相を制御することを明らかにした。この時計応答を制御する鍵分子として、細胞ストレスに対して活性が柔軟に変化することが知られている MAP3K である ASK ファミリーに着目した。ASK を欠損したマウス由来細胞においては、細胞ストレスによる概日時計の応答が消失した。すなわち、ASK は細胞ストレスによる時計の応答に必須な分子であることが明らかになった。つづいて、ASK がマウス個体の行動リズムに与える影響を調べるために、光条件を制御できるチャンバー内に回転輪を設置して、マウスの輪回リズムを測定した。ASK 欠損マウスにおいては、光による概日時計の応答が減弱し

た。一日を通して様々な時刻にマウス肝臓を摘出し、*Ask* 遺伝子の発現プロファイルを解析したところ、*ASK* 遺伝子は概日時計の制御を受けて発現量がリズム的に制御されていた。この発現リズムは、時計遺伝子 *Bmal1* を欠損したマウスにおいて消失した。すなわち、*ASK* は細胞ストレスや光に応答して概日時計を制御するだけでなく、概日時計の支配を受けてリズム的に制御されていることが明らかになった。この章の最後では、*ASK* が細胞内のレドックス環境と概日時計を繋ぐ鍵分子である可能性について、先行知見を引用しつつ議論されている。

第 4 章では、第 2 章及び第 3 章の研究結果をふまえた総括と総合的な議論が述べられている。

以上の一連の研究は、分子生物学・細胞生物学・生化学・動物行動学など幅広い分野に渡った手法を用いて遂行されており、細胞ストレス応答と概日時計機構が連関する生理的意義や分子機構に迫っている。また近年明らかになってきた、転写・翻訳に依らない細胞内レドックスリズムと概日時計を結びつける分子的な糸口を突き止めた点において、重要な知見を含む成果となっている。

なお、本論文の第 2 章は吉種光氏、深田吉孝氏との、第 3 章は吉田賢人氏、吉種光氏、深田吉孝氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を立案・実行したもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

審査時点での本論文は、実験データの統計処理の誤りや、4 章（総括）における議論の不足が認められたため、審査委員会では論文の改訂を要求した。これらを受けて学位申請者は、統計処理を正しく行い、総括において適切な議論を展開した。

したがって、審査委員会は博士(理学)の学位を授与できると認める。