

論 文 要 旨

2023 年 1 月 11 日

※報告番号	甲第329号	氏 名	大場 柊樹
主論文題名 オートファジー抑制因子 Rubicon の加齢に伴う翻訳後修飾変化の解析 Age-related changes in Rubicon post-translational modifications			
内容の要旨 オートファジー活性は加齢に伴い低下すること、また寿命延長経路で共通してオートファジー活性の亢進が見られることから、生理的老化および寿命制御におけるオートファジーの重要性が示唆されている。我々はこれまでに、野生型ショウジョウバエの雌において、オートファジー抑制因子である Rubicon (Run domain protein as Beclin-1-interacting and cysteine-rich containing) のハエオーソログ dRubicon (<i>Drosophila</i> Rubicon) が加齢に伴い増加すること、また dRubicon を発現抑制することで寿命延長することを報告している。しかし、dRubicon 増加のメカニズムは明らかになっていない。そこで本研究ではショウジョウバエにおける加齢に伴う dRubicon の増加メカニズムを解明することを目的とした。野生型ハエの雌における内在 dRubicon の発現変動は mRNA レベルで変化せず、タンパク質レベルでのみ増加が見られたことから、dRubicon の増加メカニズムとして翻訳後修飾による dRubicon タンパク質の安定性向上を仮説とし、本研究を進めた。 はじめに、内在 dRubicon の発現変動は雌雄共通の現象であるか、野生型ハエの雄を用いて検討した。その結果、野生型ハエの雌と同様に mRNA レベルで変化せず、タンパク質レベルでのみ加齢に伴う増加が認められた。野生型ハエにおける内在 dRubicon の発現量は低く、内在 dRubicon を用いた翻訳後修飾の網羅的な解析は難しいと考え、次に dRubicon 過剰発現ショウジョウバエを作製した。我々は以前、神経変性疾患の一種であるポリグルタミン (PolyQ) 病モデルショウジョウバエにおいて dRubicon の発現抑制が脳内 polyQ タンパク質蓄積を抑制することで運動機能障害を改善させることを示している。そこで dRubicon を過剰発現させることで polyQ 病モデルハエの症状が悪化するかを検討し、発現させた dRubicon が機能しているかを確認した。その結果、polyQ 病モデルハエに dRubicon を共発現させることで運動機能の低下が認められ、ハエの生体内において外来 dRubicon が機能していることが示唆された。dRubicon 過剰発現ハエにおける dRubicon の発現は雌雄ともに野生型ハエと同様に、タンパク質レベルでのみ増加することが認められた為、LC-MS/MS (liquid chromatography-tandem mass spectrometry) による dRubicon の翻訳後修飾を解析した。その結果、雄において加齢に伴い顕著に変化する修飾として、リン酸化を見出した。雄では加齢によりリン酸化部位が増加する一方、雌ではリン酸化部位の変動が認められなかった。加齢に伴う dRubicon の増加は雌雄で同様である一方、リン酸化変動には性差が見られ、加齢に伴う dRubicon の増加メカニズムとしてリン酸化は関与しないことが示唆された。			

※印欄記入不要

論 文 要 旨

2023 年 1 月 11 日

※ 報告番号	第 号	氏 名	大場 柊樹
加齢に伴う dRubicon のリン酸化変動性差が見られたことから、オートファジー機能に性差がある可能性を考えた。そこで加齢に伴い変動する dRubicon リン酸化の意義を明らかにすることを目的に本研究を行った。まず、dRubicon を全身で発現抑制したハエを用いてオートファジー機能および寿命を解析した。オートファジー機能はオートファジー特異的に分解される Ref2P 量で評価した。全身ライセートにおいて加齢による Ref2P 量の変化は、雄で増加傾向であった一方、雌では減少傾向であった。また dRubicon を全身で発現抑制することで雄では寿命の短縮が見られ、雌では寿命の延長が認められた。これまでに神経特異的な dRubicon 発現抑制により、雌で寿命が延長することを報告している。そこで全身と同様、頭部におけるオートファジー機能にも性差があると考えた。dRubicon を全身で発現抑制したハエの頭部ライセートを用いて解析した結果、全身ライセートと同様の Ref2P 量の変化が見られた。ハエの脳内オートファジー活性においても同様に、雄では低下するが、雌では亢進が認められた。さらに神経特異的な dRubicon 発現抑制により雄では寿命の短縮が認められ、dRubicon の機能は特に神経系で重要であることが示唆された。 以上をまとめると、雄では dRubicon の発現抑制によりオートファジー活性が低下することから、複数部位がリン酸化された dRubicon はオートファジー活性の亢進に必要であり、雄では加齢に伴うリン酸化部位の増加はオートファジー機能の維持に関与していることが示唆される。本研究から、dRubicon の量的変動のみならず質的変動も寿命制御に重要だと考えられる。			