

論文内容の要旨

申請者氏名 Ardaning Nuriliani

細胞老化は、不可逆的な細胞分裂停止などを特徴とする正常な生理的条件下でも引き起こされる現象である。加齢に伴って、生物の臓器・組織の中に老化細胞が蓄積し、それが老化関連疾患、個体老化の一因となることが知られている。細胞老化は、細胞分裂の繰り返しによるテロメア短縮に起因する複製老化と、種々の内因性および外因性ストレス暴露によるストレス誘導性細胞老化の2種類に分類される。

加齢に伴うニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD⁺) の減少は、臓器および個体老化の一因であることが近年明らかになった。これら一連の報告より、細胞内 NAD⁺維持が老化予防に重要であると考えられている。申請者の所属研究室では、以前に細胞内 NAD⁺合成経路の律速酵素 NAMPT を安定的に高発現するトランスジェニック (Tg) マウス胚由来の初代マウス胎児線維芽細胞 (MEF) 細胞は、野生型初代 MEF 細胞と比較して、複製老化の開始が遅れることを報告した。しかし、もうひとつの細胞老化であるストレス誘導性細胞老化に対する NAMPT および NAD⁺の効果については不明のままであった。

本研究では、*Nampt* 高発現 Tg マウス胚由来の初代 MEF 細胞 (*Nampt* Tg-MEF) に酸化ストレスまたは小胞体ストレスを暴露し、細胞老化が誘導される割合を検証した。酸化ストレスとして過酸化水素処理、小胞体ストレスとしては、小胞体内での糖鎖修飾を阻害するツニカマイシン処理を行った。まず細胞増殖能を検証した結果、両ストレスに対して *Nampt* Tg-MEF 細胞は野生型 MEF 細胞より増殖能が高かった。すなわち、*Nampt* Tg-MEF 細胞は両ストレスに対して抵抗性があることが示唆された。さらに老化細胞の割合を調べたところ、*Nampt* Tg-MEF 細胞は野生型細胞より老化細胞の割合が低かった。これらの結果は、酸化および小胞体ストレスに対して NAMPT/NAD⁺経路はストレス抵抗性に働くことを示している。

所属研究室の先行研究として *Nampt* Tg-MEF 細胞が抗酸化遺伝子 *Catalase* および *Sod2* を高発現することを報告している。酸化ストレス誘導性細胞老化の抵抗性においても上記遺伝子発現増加が一因と考えられたので、本研究では、小胞体ストレス抵抗性の分子機序解明のため、小胞体ストレス関連遺伝子の発現変化を検証した。その結果、*Xbp1* mRNA のスプライシング効率および *Bip* や *Chop* をはじめとする多くの小胞体ストレス関連遺伝子の発現がツニカマイシン処理後 3 時間で野生型細胞より *Nampt* Tg-MEF 細胞で上昇していること、しかし、処理後 24 時間では両遺伝子型で有意な差が無くなることを見出した。すなわち、*Nampt* Tg-MEF 細胞は、ツニカマイシン誘導性の小胞体ストレスに対してより素早く対応していることが示唆された。

以上の結果は、NAMPT/NAD⁺経路はストレス誘導性細胞老化に対しても保護的に働くこと、さらには、生体内での NAMPT 活性化または NAD⁺増加が、老化細胞の蓄積を抑制する可能性を示唆しており、個体レベルでの老化進行抑制の研究につながる可能性を示した。

やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【 該当する事由に 印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Ardaning Nuriliani

NAD⁺は、電子伝達体として様々な酵素の補酵素として働くのみでなく、エネルギー代謝やタンパク質、DNA の翻訳後修飾にも関わる多機能な低分子化合物であることが知られている。さらに近年、加齢に伴い細胞内 NAD⁺が減少することがマウスやヒトの細胞および臓器で報告されている。申請者の所属研究室の先行研究として、MEF 細胞でも細胞の継代に伴い細胞内 NAD⁺が減少すること、さらには細胞内 NAD⁺合成経路の律速酵素 NAMPT を高発現させた MEF 細胞 (*Nampt*Tg-MEF) では細胞内 NAD⁺量が大きく維持され、細胞老化のひとつである複製老化の開始が遅れることを報告している。生体内老化細胞の多くは、複製老化由来ではなく、種々の内因性および外因性ストレス暴露に起因するストレス誘導性細胞老化であると言われている。そこで申請者は、生体内での老化細胞蓄積抑制に対する NAMPT/NAD⁺の可能性を検証する前段階の研究として、NAMPT/NAD⁺経路が複製老化だけでなくストレス誘導性細胞老化の進行も遅延させるのかを *Nampt*Tg-MEF 細胞を用いて検証した。

申請者は、所属研究室で樹立された *Nampt* 安定的発現トランスジェニックマウス胚由来の初代 MEF 細胞に細胞老化を誘導するストレスとして最も一般的な酸化ストレスと近年報告され始めた小胞体ストレスを用いた。その結果、両ストレスによる老化細胞誘導が野生型 MEF 細胞よりも *Nampt*Tg-MEF 細胞で抑制されていることを見出した。

さらに申請者は、小胞体ストレス処理後 3 時間と 24 時間の *Xbp1*RNA スプライシング効率および遺伝子発現量を *Nampt*Tg-MEF 細胞と野生型 MEF 細胞で比較した結果、処理後 3 時間の *Nampt*Tg-MEF 細胞でのみ有意にスプライシング効率および遺伝子発現が高いことを発見した。さらに、*Bip* や *Chop*、*Gadd34* など種々の小胞体ストレス応答遺伝子の発現も処理後 3 時間の *Nampt*Tg-MEF 細胞で増加していることを見出しており、その分子機序は不明であるものの、NAMPT/NAD⁺経路が小胞体ストレス応答に関与する可能性を示した。論文では、NAMPT/NAD⁺経路と小胞体ストレス関連因子との関連性も議論もされており、今後、*Nampt*/NAD⁺経路による小胞体ストレス応答のさらなる解明、ひいては小胞体ストレス誘導性細胞老化の分子機序の解明が期待できる。

以上のように、本論文は *Nampt*/NAD⁺経路がストレス誘導性細胞老化遅延にも関与すること、さらに生体内老化細胞蓄積の抑制に *Nampt*/NAD⁺経路が関与する可能性も示したものであり、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。

やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【 該当する事由に 印をすること】