

論文審査の結果の要旨

氏名 羽鳥 恵

概日時計は約 24 時間の周期で自律的に発振するのみならず、自らの位相を光刺激などの外界の環境変化に応じて調節することができる。本来夜にあたる時間帯（主観的夜）の前半（夜の始まり）に光刺激を受けると時計の位相は後退し、主観的夜の後半（夜明け前）の光刺激では位相は前進する。このような時刻依存的な位相調節は概日時計の重要な特性の一つであるが、その分子メカニズムに関する知見は非常に乏しい。論文提出者は、概日時計の光位相調節機構を解明する目的で、光感受性を持つ時計組織であるニワトリの松果体を用いて研究を行った。本論文では、松果体において主観的夜の後半に光誘導される遺伝子 *Lcg* の解析、および時刻特異的に光活性化される分子経路の発見について述べられている。

論文提出者は主観的夜の後半の光刺激によって発現量が顕著に上昇する機能未知遺伝子に注目して解析を行い、その内容は本論文の前半部分に述べられている。この遺伝子の発現は時刻依存的な光誘導のみならず、顕著な日周変動を示すことから、*Lcg* (*Light-inducible and clock-controlled gene*) と命名された。続いてタンパク質レベルでの解析を進めるために、LCG に対する特異的な抗体が作製され、ニワトリの様々な臓器における発現量の違いが調べられたところ、LCG タンパク質は松果体および網膜に局限して発現していた。両組織はいずれも、時計の発振系と光入力系を併せ持つ組織であり、時計機構と LCG との関連が示唆された。さらに、LCG は γ -tubulin と結合して中心体に局在するユニークな時計関連因子であることが見出された。

続いて論文提出者は、時刻特異的な光誘導の根底に潜む転写調節経路に迫る目的で、光応答を示す松果体遺伝子群を DNA マイクロアレイを用いて網羅的に探索した。その結果、主観的夜の前半の光刺激によって顕著に発現上昇する遺伝子群の多くが、ステロール代謝を担う SREBP 転写因子のターゲット遺伝子であることが判明した。興味深いことに、これらの遺伝子群は時計遺伝子 *E4bp4* と類似した光応答パターンを示したことから、SREBP が *E4bp4* の光誘導を担う重要な因子である可能性が考えられた。*E4bp4* は主観的夜の前半に強く光誘導され、時計遺伝子 *Per2* の転写抑制を介して光位相シフトに寄与することが示されているが、光による *E4bp4* の発現調節機構は不明であった。ニワトリ *E4bp4* 上流配列がクローニングされ、転写アッセイが行われたところ、活性化型 SREBP は *E4bp4* 上流配列からの転写を用量依存的に活性化することが判明し、*E4bp4* が SREBP の新たなターゲット遺伝子であることが明らかにされた。これらの研究を通じ、肝臓においてステロール代謝調節に関連する SREBP 経路が、松果体においては概日時計の光入力に寄与する可能性が示された。この研究成果は、学位論文の後半部分に述べられている。

以上のように、論文提出者は本研究において、時計関連因子が中心体に局在することを見出した。これは、概日時計と中心体との関係を示唆する初めての知見である。さらに、光誘導遺伝子群を網羅的に探索することにより、光刺激によって時刻依存的に活性化する転写経路の存在を初めて見出した。これらの知見は、概日時計の位相調節機構を理解する上で極めて重要であり、今後の当該分野の研究発展に大きく寄与するものと期待できる。なお、本論文の前半部分をまとめた論文は岡野俊行氏・中島芳人氏・土居雅夫氏・深田吉孝氏との共著により *J. Neurochem.* 誌に公表されているが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断できる。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。