




論文審査及び最終試験又は学力の確認の結果の要旨

甲・乙	氏名	中村 健志	
学位論文名	Effect of NAD ⁺ Synthesis Inhibitor Sirtuin Deacetylase Activity in Mammalian Cells		
学位論文審査委員	主査 副査 副査	<p>浦野 健</p> <p>長井 篤</p> <p>中村 守彦</p>	 印  印  印
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>Sirtuin 1 (SIRT1) は、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD⁺) を補酵素とするタンパク質脱アセチル化酵素である。酵母・線虫から哺乳動物に至るまで保存され、老化遅延・寿命延長などさまざまな生体機能調節に関与することが報告されている。SIRT1 が NAD⁺ を補酵素としているため、抗老化手段の一つとして、サプリメントで体内の NAD⁺ を増加させる試みが近年注目されている。NAD⁺ は、当該講座のこれまでの研究などから哺乳動物の細胞内濃度は比較的狭い範囲に調節されており、その濃度は SIRT1 の K_M 値よりかなり高いことが示されている。本研究では、NAD⁺ の細胞内濃度の上昇が本当に SIRT1 活性を増加させるのかを検討した。</p> <p>1) ヒト培養細胞において、ニコチン酸添加後、あるいは NAD⁺ 合成成律速酵素ニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼの阻害剤添加後、質量解析などから細胞内 NAD⁺ 濃度を測定し、NAD⁺ 濃度の上昇、あるいは低下が起こっていることを確認した。</p> <p>2) 同時に SIRT1 活性の指標としてヒストン H3 (H3Lys9) とヒストン H4 (H4Lys16) のアセチル化状態の変化を、特異的抗体を用いたウェスタンブロット法で調べ、NAD⁺ 濃度の増減に関わらずこれらの部位のアセチル化状態は変化しないことを明らかにした。</p> <p>3) これらの部位のアセチル化状態は SIRT1 阻害剤、あるいは si RNA を用いた SIRT1 ノックダウンによっても変化しなかった。</p> <p>以上の結果から、H3Lys9 や H4Lys16 のアセチル状態を用いて SIRT1 活性を評価することは適切でない可能性を示唆した。NAD⁺ 濃度上昇によって SIRT1 活性が増加しない可能性を否定することができなかったことから、SIRT1 活性の評価法および制御機構について再考が必要であることを示した重要な研究で、学位授与に値すると判断した。</p> <p>最終試験又は学力の確認の結果の要旨</p> <p>申請者は、SIRT1 の酵素活性をヒストンの脱アセチル化状態のみで判断することへの再考を促しており、基礎的および臨床的に極めて重要な研究である。関連知識も豊富であり、質疑応答も的確で学位授与に値すると判断した。 (主査：浦野 健)</p> <p>申請者は、細胞内 NAD⁺ 濃度がヒストンのアセチル化に影響を及ぼさず、SIRT1 の脱アセチル化を制御していないことを示唆した。これは SIRT1 の活性化に関する重要な知見であり、審査での周辺知識も十分なことが確認できたため、学位授与に値すると判断した。 (副査：長井 篤)</p> <p>申請者は、ヒト細胞株 HEPG2-NPRT と He La を使用して H3Lys9 と H4Lys16 の脱アセチル化に SIRT1 が主として関与しないことを生化学的に明らかにした。これは細胞内 SIRT1 活性を判定する上で貴重な知見であり、予備審査および公開審査では的確に質疑応答し、関連知識も豊富であることから学位授与に値すると判断した。 (副査：中村守彦)</p>			

(備考) 要旨は、それぞれ40●字程度とする。