



Title	$\beta$ -catenin-promoted cholesterol metabolism protects against cellular senescence in naked mole-rat cells
Author(s)	Chee, Woei-Yaw
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/82032">https://doi.org/10.18910/82032</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## Abstract of Thesis

Name ( CHEE, Woei-Yaw )

Title

$\beta$ -catenin-promoted cholesterol metabolism protects against cellular senescence in naked mole-rat cells  
( $\beta$ -カテニンによって促進されるコレステロール代謝はハダカデバネズミ細胞の老化を防ぐ)

## Abstract of Thesis

Naked Mole-rat (NMR) is an extraordinary mammal with an insect's social life, the cold-bloodedness of a reptile, and the metabolism of a plant. With a lifespan of 30 years, their peculiar traits have evolved millions of years to make them uniquely suited to survive the harsh condition, exceptionally long without oxygen. Even with its extreme longevity, NMRs are remarkably cancer-resistant, with no cancer cases formally described in this species in the wild. Therefore, to uncover the long lifespan and anti-cancer mechanism of NMR, we have started comparative analyses of the oncogenic signalling between NMR Skin fibroblasts (NSF) and the mouse cell lines (MSF and NIH3T3), which revealed that NMR has unique features in Wnt/ $\beta$ -catenin signalling. The basal  $\beta$ -catenin (oncoprotein) expression level is remarkably high in NMR when compared to mouse cells. Yet, the growth rate of NSF is prolonged. In addition, dual-luciferase reporter assay corroborated that NSF transfected with TCF/LEF reporter vector has high  $\beta$ -catenin activity. When proceeding with  $\beta$ -catenin downregulation, a decreased growth rate accompanied by an enhanced senescence mechanism is observed in NSF, suggesting that  $\beta$ -catenin still plays a regular role in proliferation. Another interesting finding showed that the unknown microbodies were abolished in  $\beta$ -catenin-knockdown NSF using confocal microscopy. Thus, we used a broad range of methods such as a mitochondrion-selective probe, DAB staining, and Oil Red O staining to determine the NSF's microbodies' true nature. Critically, we identified lipid droplets as potential candidates associated with  $\beta$ -catenin abundance. We also found that NMR fibroblast contains a significantly high cholesterol level, suggesting that lipid droplet accumulation might be caused by the unique cholesterol synthesis pathway regulated by high  $\beta$ -catenin level in NMR. Further experiments revealed perturbation of the cholesterol synthesis pathway using statin or  $\beta$ -catenin knockdown altogether abolish the lipid droplets formation and lead to enhanced senescence in NSF.

Furthermore, RNA-seq analysis in NMR cells revealed that  $\beta$ -catenin knockdown perturbed the expression of multiple genes in cholesterol metabolism. Specifically, genetic ablation of apolipoprotein F suppressed lipid droplet accumulation and promoted cellular senescence, indicating that apolipoprotein F is a critical mediator of the  $\beta$ -catenin signalling on NMR cells. We thus suggest that increased  $\beta$ -catenin activity evolved in NMR to offset senescence via the accumulation of cholesterol-enriched lipid droplets. These findings indicate that  $\beta$ -catenin induced accumulation of cholesterol is crucial for protecting NMR cells from cellular senescence. Hence the anti-senescent effects of the  $\beta$ -catenin signalling reveal new strategies for longevity on NMRs.

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( Woei-Yaw Chee )			
		(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授	岡田 雅人
	副 査	教授	三木 裕明
	副 査	教授	石谷 太
<b>論文審査の結果の要旨</b>			
<p>ハダカデバネズミ (NMR; <i>Heterocephalus glaber</i>) はマウスと同等の大きさながら最大寿命が 30 年以上であり、がん化にも非常に強い抵抗性を示すきわめてユニークな齧歯類である。それらの特徴から NMR は、がんと老化研究のモデル動物として近年注目されているが、がん化および老化抵抗性を生じる分子メカニズムは未だに解明されていない。本論文の著者は、NMR 細胞が有するユニークなコレステロール代謝の亢進が細胞老化 (senescence) を抑制していることを見出し、そのメカニズムを解析した。著者はまず、NMR 細胞が転写制御因子である <math>\beta</math>-カテニンを異常に高発現していることを発見し、その活性がコレステロールに富む脂肪滴の形成に関与すること、また、コレステロールの蓄積が senescence を抑制することを明らかにした。一方で、<math>\beta</math>-カテニンの下流因子として Apolipoprotein F (ApoF) を同定し、ApoF によって活性化するコレステロール代謝が senescence の抑制に関わることを証明した。さらに、コレステロールが酸化ストレスを抑制することにより抗 senescence 効果を示す可能性を示した。以上の結果より、NMR で進化したユニークな <math>\beta</math>-カテニンシグナルが、コレステロール代謝を亢進することにより、NMR 細胞の senescence、ひいては個体の老化を抑制している可能性が示唆された。これらの成果は、NMR の長寿のメカニズムに新たな識見を与え、老化制御機構の理解に通じるものとして高く評価される。</p> <p>よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。</p>			