

論文内容の要旨

申請者氏名 松田 崇斗

免疫抑制剤ラパマイシンの細胞内標的分子として同定されたタンパク質キナーゼ Target of Rapamycin (TOR)は、複数の制御サブユニットと共に TOR complex 1 (TORC1) と呼ばれる高分子量複合体を形成している。TORC1はその構造、機能ともに真核生物間で高度に保存されており、栄養や成長因子といった細胞外情報を統合し、基質のリン酸化を介して細胞のアミノ酸取り込み、タンパク質生合成など、重要な生理機能の制御に必須の役割を果たす。現在、広く流布している哺乳類 TORC1 (mTORC1) 制御モデルでは、リソソーム膜上に局在する低分子量 G タンパク質 RagA/RagB が、アミノ酸にตอบสนองして GTP 結合型になり、mTORC1 をリソソーム上にリクルートすると、そこに局在する Rheb と呼ばれる G タンパク質が mTORC1 を活性化する。一方、アミノ酸飢餓時には、GTPase-Activating Protein (GAP) 活性を持つ GATOR1 複合体が、RagA/RagB に結合した GTP の GDP への加水分解を促進し、mTORC1 がリソソーム膜から細胞質へと解離することで、不活化すると考えられている。複数のガンでこの GATOR1 の構成因子に機能欠失変異が発見されており、そのために引き起こされる mTORC1 の恒常的な活性化は、細胞の異常増殖につながるものと考えられる。

この GATOR1 複合体の3つの構成因子は、モデル生物である分裂酵母において Iml1, Npr2, Npr3 として保存されている。生化学的解析によって、Iml1, Npr2, Npr3 が複合体を形成することを明らかにし、さらにこの分裂酵母 GATOR1 において Iml1 のもつ GAP ドメイン TORC1 活性の抑制に必須であることが示された。さらなる遺伝学的解析によって、GATOR1 が哺乳類細胞 RagA/RagB に相同な Gtr1 の GAP として機能する証拠を得て、GDP 結合型の Gtr1 が TORC1 の負の制御因子であるという結論に達した。現在、Gtr1 に相同な RagA/RagB が mTORC1 の活性化因子として理解されていることを考慮すると、予想外の結果であり、これまで単なる不活性型とされてきた GDP 結合型の RagA/RagB の新たな生理的機能を示唆する発見である。また、GATOR1 欠損によって引き起こされる分裂酵母の生育障害が、亢進した TORC1 活性によるアミノ酸トランスポーターの細胞膜局在の阻害によるものであることが示された。すなわち、GATOR1-Gtr1 経路は TORC1 活性を細胞の生育に最適なレベルに維持する役割をもつと考えられ、この新しいモデルは GATOR1 変異の表現型が TORC1 阻害剤のラパマイシンで相補されるという観察結果とも一致する。

以上のように、GATOR1 複合体の遺伝学的解析を通して、Rag ファミリー G タンパク質が TORC1 活性の抑制に働くという新規機能が明らかになった。Rag GTPase を単なる活性化因子であるとする、これまでの TORC1 制御モデルでは説明できない観察結果が近年、哺乳類や他の生物種において報告されつつあり、本研究が提唱する TORC1 抑制制御機構は、分裂酵母に限らず広く保存されている可能性が高い。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 松田 崇斗

進化的に保存された TOR タンパク質キナーゼは、TORC1 および TORC2 という機能の異なる二種類の複合体を形成する。TORC1 は細胞外の栄養源、増殖刺激に加え細胞内のエネルギー状態を感知するシグナル経路の中心で働き、細胞内の同化・異化作用、エネルギー産生を調節する枢要な役割を担っている。それゆえ、TORC1 経路の破綻は、生物にとって重篤な影響を及ぼすことが知られている。ヒトでは TORC1 の制御異常が、ガンや神経変性疾患といった疾患の原因となることから、TORC1 がこれらの疾患の予防や新規治療薬の有効な標的となりことが期待されている。実際、TORC1 特異的な阻害剤であるラパマイシンやその誘導体は、ガンの進行を遅らせることが報告されており、世界的にも TORC1 シグナル伝達経路の研究は精力的に行なわれている。

申請者が着目した GATOR1 複合体は、哺乳類細胞において RagA/RagB GTPase に結合した GTP の GDP への加水分解を促進する GAP として働くことで mTORC1 活性を抑制するというモデルが提起されており、また、幾つかのガンで GATOR1 サブユニットに欠損変異が発見されていることから、GATOR1 は「ガン抑制複合体」として注目を集めている。申請者は、出芽酵母に比べて、より哺乳類 TORC1 経路に相同性の高い TORC1 経路を持つ分裂酵母をモデル系として、GATOR1 複合体の詳細な機能解析を行った。まず、哺乳類 GATOR1 複合体構成因子と相同な分裂酵母タンパク質が GATOR1 様の複合体を形成していることを確認した後、それら構成因子について遺伝学的解析を行った。分裂酵母においても GATOR1 が RagA/RagB に相同な Gtr1 の GAP として機能し、TORC1 を抑制していることが示された。しかしながら驚いたことに、GATOR1 の欠損は分裂酵母において生育阻害を引き起こし、この顕著な表現型は TORC1 特異的な阻害剤であるラパマイシンによって相補された。また、全く同じ表現型が Gtr1 欠損株でも見られたことから、GDP 結合型の Gtr1 は TORC1 活性を抑制しており、GATOR1-Gtr1 経路による TORC1 の負の制御が分裂酵母の生育に重要であることが明らかになった。申請者はさらに、GATOR1 欠損株に見られた生育障害が、アミノ酸トランスポーターの細胞膜への局在欠損によるものであることを示唆する結果も得ている。

以上、申請者は分裂酵母モデルを用いて、Rag ファミリー GTPase の GDP 結合型が TORC1 の抑制に働くという新しい概念を本論文で提示した。現在主流のモデルでは、Gtr1 に相同な哺乳類細胞 RagA/RagB GTPase は mTORC1 の活性化因子であるとされていることから、その GDP 結合型が mTORC1 の阻害因子として機能するという可能性は極めて興味深く、GATOR1 の「ガン抑制複合体」としての役割と分子メカニズムに再検討を迫るもので、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。