

論文内容の要旨

申請者氏名 Le Quynh Giang

小胞体はタンパク質分泌経路の起点となる細胞内小器官であり、分泌タンパク質や膜タンパク質の折り畳みは小胞体にて行われる。小胞体の機能不全は小胞体への構造異常タンパク質の蓄積を伴い、小胞体ストレスと総称される。小胞体ストレスに応じたトランスクリプトームの変動は小胞体ストレス応答と呼ばれ、小胞体ストレスから細胞を保護する役割りを担う。しかし、過度に強い、あるいは長期の小胞体ストレスは細胞にとって有害であり、動物細胞ではアポトーシスを惹起することも知られている。そこで、小胞体ストレスのレベルを適正に保つメカニズムが重要であると考えられる。

出芽酵母では、小胞体ストレス応答の細胞内シグナル伝達経路の起点となるのは、小胞体膜貫通タンパク質 Ire1 である。Ire1 の小胞体内腔側ドメインは小胞体ストレス(小胞体への構造異常タンパク質蓄積)を感知する機能を担い、サイトゾル側ドメインはタンパク質キナーゼ活性とエンドリボヌクレアーゼ活性を有する。シグナル伝達において下流にシグナルを送るのはエンドリボヌクレアーゼ領域が担い(小胞体ストレス応答に関わる転写因子をコードする *HAC1* mRNA を、スプライシングにより成熟させる)、キナーゼ領域は Ire1 のエンドリボヌクレアーゼ活性の調節に関わるとされている。すなわち、Ire1 は自己リン酸化により活性化し、また、Ire1 の活性化リガンドとして ADP がキナーゼ領域のヌクレオチド結合ポケットに捕捉される。

本論文での研究において申請者はまず、出芽酵母 Ire1 の小胞体内腔ドメインにいくつかの点変異および部分欠失変異を導入し、小胞体内腔サイドでの調節を受けないと考えられる Ire1 変異体(Δ I Δ III Δ V/Y225H Ire1)を得た。しかし、 Δ I Δ III Δ V/Y225H Ire1 を発現する酵母細胞においても小胞体ストレス応答は恒常的ではなく、小胞体ストレスに応じて誘導された。そして、Ire1 が活性化リガンドとして ADP を必要としなくなる D797N/K799N を Δ I Δ III Δ V/Y225H Ire1 に導入したところ、小胞体ストレスの有無にかかわらず、小胞体ストレス応答は恒常的になった。よって申請者は、Ire1 は小胞体内腔ドメインにより小胞体内の環境悪化を感知し、さらにはサイトゾル側に位置するキナーゼ領域によりサイトゾルの ADP 量をモニターし、強く活性化すると考えた。なお、申請者の実験データによると、強度の小胞体ストレスは細胞内の ADP/ATP 比を上昇させる。また、小胞体ストレスとならない ATP 合成阻害剤によって、 Δ I Δ III Δ V/Y225H Ire1 は活性化した。

本研究での知見より、申請者は小胞体ストレスの強さに応じて小胞体ストレス応答の程度が適切に制御されるメカニズムとして、ADP の寄与を提唱した。すなわち、強い小胞体ストレス状態では細胞は大きなダメージを受け、エネルギー産生能が低下して ADP レベルが上昇し、Ire1 は完全に活性化する。一方、弱い小胞体ストレスでは、細胞は健全性を保っており、ADP レベルは上昇せず、Ire1 の活性化も微弱である。

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 Le Quynh Giang

Ire1 が起点となる小胞体ストレス応答は、出芽酵母では 300 種以上の遺伝子の転写を促すなど（全遺伝子の約 5%）、細胞に多大な影響を及ぼす。よって、Ire1 の活性を厳密に制御するメカニズムには大きな関心が持たれ、申請者の研究グループおよび国内外の研究者により、数多くの研究がなされてきた。その結果、Ire1 の小胞体内腔ドメインには小胞体分子シャペロン BiP が結合しており、小胞体ストレスに応じて解離すること、また、小胞体内腔に蓄積した構造異常タンパク質を Ire1 小胞体内腔ドメインは直接的に検知して、そのことが Ire1 活性化につながるなどが見いだされた。一方、Ire1 のサイトゾル側ドメインにはキナーゼ様領域が存在しており、それはリン酸基転移のために働くだけでなく、ヌクレオチド結合ポケットとしても機能し、そこに ADP が結合することにより Ire1 は強い活性を示すことが生化学的な研究から明らかにされてきた。しかし、この事象が生理的にどのような意義を有するのかは不明であった。

申請者は Ire1 および小胞体ストレス応答の制御機構の全容を明らかにすることを目的とし、出芽酵母をモデルとして研究を進めた。まず申請者は、小胞体内腔ドメインにさまざまな変異を導入して、小胞体内腔サイドでの制御を受けずに活性化状態になると考えられる Ire1 変異体を得ることに成功した。しかし、その Ire1 変異体を有する酵母細胞においても小胞体ストレス応答は恒常的ではなく、ストレスに応じて惹起された。よって、この変異体をさらに詳細に解析することにより、小胞体内腔サイドに依らない Ire1 および小胞体ストレス応答制御メカニズムにアプローチすることが可能となった。そして申請者は、Ire1 のキナーゼ領域による小胞体ストレスの強度の調節について、新規な学説を提示するに至る知見を得ることができた。

申請者の研究成果によると、強度の小胞体ストレス時には細胞そのものが不活発となり、エネルギー産生能も低下し、細胞内の ADP レベルが上昇して、Ire1 は強く活性化する。一方、弱い小胞体ストレス時には、ADP レベルは低く保たれており、小胞体ストレス応答も微弱である。この研究成果は、小胞体ストレス応答を適正レベルに保つための新規メカニズムを提唱するものであり、また、リン酸化反応を伴わないキナーゼ様領域の役割の生理的役割を示すものとして、分子細胞生物学の他分野にも波及効果があると期待される。

以上のように、本論文は真核生物における細胞内情報伝達研究において、新たなビジョンをもたらすものあり、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】