

論文内容の要旨

申請者氏名 木俣 有紀

真核生物の小胞体は、分泌蛋白質の折り畳みや膜脂質の生合成が行われる細胞内小器官である。小胞体の機能不全は小胞体ストレスと総称され、細胞はこれからの回復のため、Unfolded protein response (UPR)を引き起こす。UPRにおける細胞内シグナル伝達の起点となる小胞体ストレスセンサーとして、真核生物細胞全般に保存されているのが、小胞体局在I型膜貫通蛋白質 Ire1 である。Ire1 のサイトゾル側末端にはRNaseモチーフが存在し、出芽酵母では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ことにより、小胞体の機能に関わる蛋白質を転写レベルで誘導する。

小胞体ストレスに応じた Ire1 の活性化機構の解明については、出芽酵母を材料とした研究が先行してきた。従来の研究により、まず、Ire1 の小胞体内腔ドメインには、非ストレス時には分子シャペロン BiP が会合しており、小胞体ストレスに応じて解離することが明らかにされた。BiP の解離は、Ire1 の高次多量体化に結びつく。そして、Ire1 多量体に変性タンパク質が直接的に捕捉されることにより、Ire1 は強いRNase活性を発揮する。

私は出芽酵母細胞を用いた研究を進め、以下に述べるように、この従来モデルに沿わない様式で Ire1 が活性化する局面が存在することを見いだした。これは、小胞体ストレスやUPRの新たな面を示すものであると考えている。

第一に私は、変性タンパク質の捕捉能を失った出芽酵母 Ire1 変異体の解析を進めた。従来から知られていたように、小胞体に折り畳み不全蛋白質を蓄積させるようなストレスでは、この変異型 Ire1 は活性化しなかった。一方、主には生体膜の恒常性を破綻させるようなストレスでは、この変異型 Ire1 は野生型 Ire1 と同程度に活性化した。すなわち、小胞体におけるタンパク質の折り畳み不全と生体膜の恒常性破綻は、どちらも Ire1 を活性化してUPRを惹起する小胞体ストレスであるが、両者は本質的に異なるものであり、別個のメカニズムにより Ire1 に感知されるのである。小胞体内腔ドメインを完全に欠失した変異型 Ire1 も生体膜の異常により活性化したことから、Ire1 は膜脂質の恒常性破綻を膜貫通ドメインあるいはサイトゾル側ドメインにて感知していると考えられる。

第二に私は、小胞体ストレスが長期に及ぶと、BiP が Ire1 に再会合し、Ire1 多量体が解離することを見いだした。この状態では、Ire1 は二量体として存在し、弱いながらも活性を発揮する。すなわち、一過的に強く活性化するとき (BiP が会合していない多量体) と持続的に活性化するとき (BiP が会合した二量体) で、Ire1 は異なる様式にて存在するのである。Ire1 が強く活性化して *HAC1* mRNA スプライシングが高効率で起きている状態が持続することは、細胞にとってダメージになることも知られている。Ire1 活性化においては二つの様式が使い分けられることにより、活性化の強さと期間が巧みに制御されていると考えている。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 木俣 有紀

小胞体の機能不全は小胞体ストレスと総称される。小胞体は分泌タンパク質の高次構造形成や膜脂質の生合成など多様な役割を担うオルガネラであるが、歴史的な経緯などから、小胞体ストレスはタンパク質の高次構造形成不全と同一視されてきた。よって、小胞体ストレスに対する細胞の防衛応答は、Unfolded protein response (UPR)と呼ばれている。過剰な UPR はアポトーシスを誘起し、いくつかの疾患の誘因になることも知られており、UPR の制御メカニズムの解明は、基礎的な分子細胞生物学にとどまらない課題であると言えよう。

申請者は、出芽酵母をモデルとして、UPR の制御メカニズムについての研究を進めた。すなわち、小胞体ストレスセンサーである I 型膜貫通タンパク質 Ire1 の活性化および制御メカニズムが研究の課題である。

従来の研究により、Ire1 の小胞体内腔ドメインには変性タンパク質と直接的に会合する能力が存在すること、そして、Ire1 は変性タンパク質蓄積を感知して活性化することが明らかにされている。このことは、上述の「小胞体ストレスの実体はタンパク質の高次構造形成不全であり、それが UPR を惹起する」という概念を裏付けるものである。一方、申請者は、ある種のストレスが別のメカニズムにより Ire1 を活性化して UPR を惹起することを見いだした。すなわち、リン脂質の構成成分であるイノシトールの欠乏、あるいは脂質の生合成や細胞内輸送に関わるタンパク質の遺伝子欠損により、変性タンパク質感知能を欠く Ire1 変異体、そして小胞体内腔ドメイン全体を欠く Ire1 変異体が、野生型 Ire1 と同様に（あるいは野生型 Ire1 よりも強く）活性化したのである。このことは、膜脂質の恒常性破綻が変性タンパク質蓄積とは本質的に異なる小胞体ストレスであり、両者は別のメカニズムにより Ire1 を活性化することを示す。動物では、脂質異常が過剰な UPR を惹起し、上述のようにアポトーシスを通じて疾患につながるものが問題となっている。脂質の恒常性破綻と UPR を結びつける本研究は、このような事象の分子レベルでの理解にもつながると期待される。

また申請者は、長期に渡る小胞体ストレスでは、Ire1 は2量体として弱い活性を維持することも見いだした（一過的に強く活性化するときには、Ire1 は多量体である）。このことも、細胞が小胞体ストレスに応答する戦略の多様性を示すものである。

以上のように、本論文は、「変性タンパク質の蓄積に応じて多量体を形成し、一過的に強く活性化すること」だけが知られていた Ire1 について、多様な活性化様式が存在することを明らかにし、小胞体ストレスおよび小胞体ストレス応答の多面性を提示するものとして、学術上、さらには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。