

審査の結果の要旨

氏名 荒田 義之

本論文は真核生物において主要な細胞内タンパク質分解酵素であるプロテアソームが機能低下をきたした際の生体応答を解明することを目的としたものである。プロテアソーム機能低下時に起こる生命現象について、1) プロテアソーム機能低下に応じて代償的に誘導されるオートファジー活性化はFAM48Aによって介在されること、及び2) プロテアソーム機能の低下はT細胞老化を起し、実際に老化の過程でプロテアソーム機能が低下することを示している。

(1) プロテアソーム機能低下時の代償的オートファジー誘導機構に関する研究では、FAM48Aを介した機構が示されている。

FAM48Aは新規のプロテアソーム関連因子として質量分析法による網羅的解析により同定された。FAM48Aは今までプロテアソームとの関連は報告されていなかったが、オートファジーを制御することが知られる因子であった。主要な細胞内タンパク質分解系であるユビキチン・プロテアソームシステムとオートファジーは協調して働き、プロテアソーム機能低下時にオートファジーが代償的に誘導され、細胞の機能維持にはたらくことが知られる。しかしながら、その詳細なメカニズムは不明であった。これらのことからFAM48Aが代償的オートファジーを制御する可能性を考え解析を行っている。

プロテアソーム機能低下時に誘導される代償的オートファジー誘導にFAM48Aが関与するか調べるためにFAM48Aのノックダウンを行なった。オートファジー誘導のマーカーであるLC3-IIの蓄積及びLC3のドット状構造の形成を指標に評価したところ、FAM48Aのノックダウンにより代償的オートファジー誘導の抑制が認められた。このことからFAM48Aはプロテアソーム機能低下時に誘導される代償的オートファジーを仲介することが示唆された。

FAM48Aはオートファジーに必須の因子であるAtg9と結合の結合をすることが知られる。Atg9はトランスゴルジ網あるいはエンドソームを介したメンブレントラフィックによって脂質供給を行い、オートファジー誘導働く。Atg9とトランスゴルジ網(TGN)及びリサイクリングエンドソーム(RE)の共局在を調べたところ、プロテアソーム阻害剤処置した細胞においてAtg9とTGNあるいはREの共局在はFAM48Aノックダウンにより顕著に減少した。このことからFAM48Aはプロテアソーム機能低下時にAtg9のメンブレントラフィックを制御することが示唆された。

以上の結果から新規に同定したプロテアソーム結合因子FAM48Aがプロテアソーム機能低下時にAtg9のメンブレントラフィック制御を介してオートファジーを代償的に誘導する分子メカニズムの一端を示している。

(2) プロテアソーム機能が生体に及ぼす影響についてT細胞老化に着目して研究を行っている。

まずプロテアソーム機能低下がCD4陽性T細胞において老化を引き起こす可能性について検討している。T細胞受容体(TCR)刺激したCD4陽性T細胞をプロテアソーム阻害剤処置したところ、p21発現上昇を伴った細胞増殖の低下及び細胞老化関連分泌形質(SASP)関連遺伝子の上昇がみられた。さらにプロテアソームの必須サブユニットの1つであるRpn13をT細胞特異的に欠損したマウスではPD-1⁺CD44^{High}CD4陽性Tの増加が見られた。これらの特徴は老化CD4陽性T細胞が示す特徴と合致しており、プロテアソーム機能低下はCD4陽性T細胞においても老化様の症状を促進することが示されている。

一部の細胞腫では老化に伴いプロテアソームの量が減少することが知られており、本研究では

CD4 陽性 T 細胞におけるプロテアソームの量的制御機構を調べている。TCR 刺激した CD4 陽性 T 細胞において、すべてのプロテアソームサブユニットの遺伝子発現及びプロテアソーム活性の上昇がみられたことから、TCR 刺激依存的にプロテアソームを誘導する機構が認められた。また、この発現誘導のメカニズムとして TCR の下流の MEK、IKK、及びカルシニューリン依存的な経路を介することが示唆されている。

さらに細胞内のプロテアソーム量を定量するためにプロテアソームサブユニット Rpn11 の C 末端に GFP を付加したノックインレポーターマウスを用いた実験系を構築し、加齢に伴う CD4 陽性 T 細胞中のプロテアソーム量の評価を行っている。定常状態では Rpn11-GFP 量の加齢に応じた減少はみられなかった一方で、TCR 刺激した CD4 陽性 T 細胞を調べたところ、加齢依存的にプロテアソーム発現誘導が減弱した細胞集団の増加がみられた。各種 CD4T 細胞のサブpopulationごとのプロテアソーム誘導能を調べたところ、老齢マウスで増加することが知られる PD-1⁺ CD44^{High} CD4 陽性 T 細胞において顕著にプロテアソーム誘導が減弱していた。以上の結果からプロテアソームの発現誘導の減弱が CD4 陽性 T 細胞老化の特性の 1 つであることが示された。

以上の結果から、荒田義之は以下の成果を示した。主要な細胞内タンパク質分解系であるプロテアソームとオートファジーを介在する新規因子として FAM48A を同定した。FAM48A はプロテアソーム機能阻害時に細胞内に蓄積することからプロテアソーム機能低下を感知するセンサーとしての役割をもち、Atg9 のメンブレントラフィックの制御を介して代償的オートファジー活性化に働くと考えられる。

また、T 細胞老化とプロテアソームに関する研究では TCR 刺激依存的にプロテアソーム発現量が増加すること、さらに加齢に伴いその発現誘導が減弱していくことが示され、T 細胞に特有のプロテアソーム発現制御機構が明らかとなった。さらにプロテアソーム機能低下は CD4 陽性 T 細胞における SASP 因子の発現亢進や *in vivo* において老化関連 T 細胞の増加を惹起し、T 細胞老化を引き起こすことを示した。本研究ではプロテアソームによる生体の恒常性維持機能の一端を明らかにしたものである。よって本論文は博士（薬科学）の学位請求論文として合格と認められる。