

審査の結果の要旨

氏名 江端拓志

論文提出者は、テロメラーゼ逆転写酵素 TERT のミトコンドリア局在がアポトーシス経路に与える影響を、生化学的手法および光学的手法により解析した。本論文は「Introduction」、「Methods」、「Results」、「Discussion」から構成されている。

「Introduction」では、「テロメラーゼの機能」、「テロメラーゼ逆転写酵素 TERT」、「TERT のミトコンドリア局在とその機能」に関する先行研究が記述されている。真核生物の染色体末端に存在するリピート配列は染色体を保護する役割を持つが、細胞分裂毎に縮小し、最終的に細胞を細胞老化や細胞死へと導く。この縮小を補填する役割をテロメラーゼは担っており、この補填に必要な逆転写反応を行うタンパク質サブユニットがテロメラーゼ逆転写酵素 TERT である。TERT はヒトにおいて不死化細胞特異的に発現しており、特にガン細胞での発現量の高さから、TERT はテロメア補填機能によりガンの増殖能の中心的な役割を担っていると考えられてきた。TERT は染色体の存在する核だけでなく、テロメア領域の存在しないミトコンドリアにも局在することが報告されている。ミトコンドリアは代謝制御を通じてガン細胞の恒常性に寄与していることが報告されており、TERT のミトコンドリアにおける、従来のテロメア補填とは異なる何らかの機能がガン細胞にとって重要であると考えられる。これまでにミトコンドリア TERT はアポトーシスを制御すると報告されているが、その制御機構についてはアポトーシス促進仮説と抑制仮説との正反対な仮説が提唱されており、議論が分かれている。本章では、これらの研究の背景を論じ、本論文の研究目的を提起している。

「Methods」では、TERT コンストラクトの作製、TERT 発現細胞株の樹立、細胞免疫染色、内在性 TERT を標的としたゲノム編集、生細胞イメージングによる TERT 局在と細胞死の同時可視化、テロメラーゼ活性測定、生化学的な TERT 発現量測定、TERT のミトコンドリア局在解析、統計解析の方法について、詳細に記述されている。

「Results」では、TERT の機能に影響を与えない新たな位置への蛍光タンパク質標識を達成し、光学的手法により、TERT の局在と細胞死との関係を明らかに

している。まず、ゲノム編集による内在性 TERT ノックアウトにより TERT 遺伝子座へのゲノム編集は致死性であることを明らかにしている。また、TERT 変異体発現細胞株を樹立し免疫染色を行うことで、これまでミトコンドリア局在を阻害するとされた TERT 変異が局在に影響を与えないことが示唆されている。また、細胞死計測から、局在を変化させなかった TERT 変異による細胞死の抑制を見出している。さらに TERT を蛍光標識した光学的解析から、TERT のミトコンドリア局在は細胞死を決定しながら、執行される細胞死を遅延することを明らかにしている。加えて、局在を変化させなかった TERT 変異は TERT のミトコンドリア局在に依存しない細胞死を抑制・遅延することを明らかにしている。

「Discussion」では、ミトコンドリア局在 TERT が細胞死過程において 2 段階の機能をもつという細胞死制御モデルを提案することで、これまで議論の分かれていた TERT の細胞死制御仮説を統合して説明できることが議論されている。また、本論文で先行研究と異なる TERT 変異体の局在を観察した理由と、TERT 変異体による細胞死制御の分子機構について議論されている。さらに、TERT が複数のスプライシングヴァリエントを有していることやミトコンドリア局在 TERT が細胞死の他にオートファジーや細胞老化といった現象に関わることも触れ、本論文で構築した光学的手法がこれらの TERT 研究へ応用される可能性について言及されている。

本論文は、これまで未達成であった TERT 機能に影響を与えない TERT の蛍光標識位置を発見し、これまで提唱されていた対立仮説を統合するミトコンドリア局在 TERT のアポトーシス制御機能を明らかにしたものである。これらの成果は、TERT のミトコンドリア局在を介した細胞死制御機構の理解に貢献するものであると認められる。なお本論文は、島知弘博士、飯塚怜博士、上村想太郎博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となり研究が遂行されており、その寄与は十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。

最終試験の結果の要旨

氏名 江端 拓志

成績 合格

本委員会は、論文提出者に対し令和4年2月1日、学位論文の内容及び関連事項について、口頭試験を行った。

その結果、論文提出者は、生物科学特に細胞生物学について博士(理学)の学位を受けるにふさわしい十分な学識をもつものと認め、審査委員全員により合格と判定した。