

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 白水 亮平

本論文は真核細胞において必須のタンパク質分解酵素であるプロテアソームによって制御されている細胞機能を解明することを目的として、出芽酵母非必須遺伝子破壊株ライブラリを用いたスクリーニングを行い、その結果プロテアソームが2つの異なるミトコンドリア機能を独立に制御している機構を解明するに至ったものである。

プロテアソームは酵母からヒトに至るまで真核生物に広く保存されたタンパク質分解酵素複合体であり、ユビキチンによって修飾された基質タンパク質を選択的に分解することが広く知られている。また、プロテアソームは特定の基質を分解することにより細胞周期の進行、転写調節、ストレス応答の調節、DNA 修復の制御、細胞内シグナル伝達など多岐にわたる機能を制御することが報告されている。従ってプロテアソーム機能低下は細胞にとって様々な不具合を生じさせると考えられており、実際にプロテアソーム機能異常が神経変性疾患や老化、がんなど多様な病態に関連していることが報告されている。また、プロテアソーム機能低下時には核やミトコンドリアなどのオルガネラの形態異常が観察されているが、その機構は未だ解明されていない。しかし、どのようなプロテアソームの基質となるタンパク質の分解不全によりこのような異常が生じるのかほとんど未解明であり、プロテアソームは未知の基質を選択的に分解することで未だ報告されていない細胞機能制御を担っていることが十分に考えられる。この機構を解明することはプロテアソームの重要性を一層深く理解することにつながり、ひいては関連する疾患に対処するための手法になることが期待される。加えて、プロテアソーム自身の制御機構も未解明な点が多く、その解明はがんや老化などに対抗していく手段を見出す元となる重要な研究課題であった。

プロテアソームによって制御される細胞機構、もしくはプロテアソーム自体を制御する機構を研究するため、プロテアソーム機能低下と遺伝学的相互作用を示す因子を探索した。プロテアソーム機能の低下と遺伝学的相互作用を示す因子を同定するために、まず非必須遺伝子であるプロテアソーム $\alpha 3$ サブユニットを欠損する株と非必須遺伝子破壊株ライブラリを掛け合わせるにより網羅的に二重破壊株を作製し、 $\alpha 3$ サブユニットの欠損により生育速度が変化する株を探索した。種々の解析を行った結果、ミトコンドリア融合を促進する因子である *Fzo1* を始め、複数のミトコンドリアタンパク質をコードする遺伝子が $\alpha 3$ サブユニットの欠損と遺伝学的相互作用を示した。この遺伝学的相互作用は $\alpha 3$ サブユニットの欠損を始めとしてプロテアソーム機能が低下することによって *Fzo1* 欠損株などの著しい生育抑制が回復するというものであったことから、プロテアソームがミトコンドリアの一般的な機能を制御していることが示唆された。また、従来の報告とは逆にプロテアソーム機能を抑制することで細胞の増殖が改善するはじめての例でもあり、研究の切り口として非常に興味深い。

ミトコンドリアは真核生物に広く保存されているオルガネラであり、酸化的リン酸化による ATP 産生など、細胞にとって重要な機能を担っている。多くの遺伝性疾患との関連が示されているがその治療法は確立しておらず、ミトコンドリア機能を回復させる手法の発見は臨床上的応用性からもその重要性は疑いようがない。この遺伝学的相互作用を解析することでミトコンドリア機能制御におけるプロテアソームの未知の役割が明らかとなることが期待されるため、この分子機構の解析を行った。実際のところミトコンドリアの因子を欠損することで生育抑制が見られる理由は明らかでないことから、機能がもっともよくわかっている *Fzo1* に着目して解析を進めた。*Fzo1* 欠損ではミトコンドリア融合が観察されなくなるとする報告があるため、プロテアソ

ーム機能低下がミトコンドリアの融合を促進している可能性について検証した。その結果、実際にプロテアソーム機能低下により **Fzo1** 非依存的なミトコンドリア融合が促進していることが明らかとなった。**Fzo1** はそれまでミトコンドリア融合に必須であるとされていたことから、この **Fzo1** 非依存的な経路の発見はミトコンドリア融合について従来の概念を覆すものである。**Fzo1** 非依存的ミトコンドリア融合の分子機構を解析したところ、プロテアソーム機能低下により **Mgm1 short isoform** が選択的に増加しており、**Mgm1 short isoform** の過剰発現により **Fzo1** 欠損株でもミトコンドリア融合が亢進していた。**Mgm1 short isoform** はミトコンドリア膜間領域に局在しており、核や細胞質に局在しているプロテアソームが直接分解しているとは考えにくいことから、プロテアソーム機能低下は **Mgm1** のプロセッシングを促進し **short isoform** を増加させることでミトコンドリア融合を促進していることが推測された。

しかし **Fzo1** 非依存的ミトコンドリア融合を促進しても、**Fzo1** 欠損株の生育を回復させなかった。このことは、プロテアソームは **Fzo1** 非依存的ミトコンドリア融合とは別の機構によりミトコンドリア機能を制御していることを強く示唆するものであることから、生育を回復させる機構についても解析を行った。その結果、プロテアソーム機能が低下することで **Mia40** が増加し生育が回復していることが示唆された。また **Mia40** の増加によってミトコンドリア膜電位が上昇しており、**Fzo1** 欠損株の生育はミトコンドリア膜電位と相関する様子が観察された。膜電位の低下したミトコンドリアはマイトファジーにより選択的に分解されることによりミトコンドリアの品質管理がなされているとされるが、マイトファジーはこの過程に関与していないことも示されたことから、これらの結果はミトコンドリアの品質管理機構について新たな知見である。

さらに今回発見した経路の生理学的意義を探索するため、アンチマイシン **A** を用いてミトコンドリアの電子伝達系を阻害したところ、プロテアソーム機能の低下と **Mia40** の増加が観察された。このことは実際に生体内においてミトコンドリア機能が障害された際にプロテアソーム機能を低下させ **Mia40** を増加させることによってミトコンドリアの機能を回復させる機構が作動していることを示唆するものである。

以上の研究は、新たに発見した遺伝学的相互作用の解析を行った結果から、これまで知られていなかったプロテアソームによるミトコンドリア機能の独立な2つの制御機構を解明したものである。これらの結果はミトコンドリア機能制御についてさらなる理解の進展に繋がるものである。ミトコンドリアは未だ謎の多いオルガネラであり、ミトコンドリア機能低下が多様な疾患を惹起することが報告されている。今回観察されたプロテアソーム機能低下によるミトコンドリア品質管理機構は実際に生体内においてミトコンドリア傷害に対応する手段として機能していることが示唆されており、ここで明らかとなった機能制御機構はミトコンドリア機能低下を原因とする疾患に対抗する手段となる可能性が考えられる。

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。