

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 渡邊 謙吾

細胞は、活性酸素種や紫外線など様々な物理化学的ストレスを認識し、炎症や細胞死など適切な応答を示すことで、個体の恒常性を維持している。Apoptosis signal-regulating kinase 3 (ASK3)は、腎臓や胃、腸管といった急激な浸透圧変化にさらされる部位に強く発現し、低浸透圧ストレスによって活性化、高浸透圧ストレスによって不活性化する。これは、他のASKファミリー分子ASK1が低浸透圧ストレス、高浸透圧ストレスのいずれでも活性化してしまうこととは意味が異なり、浸透圧ストレスの方向性を認識して両方向性に応答していることを意味する。また、ASK3は、イオントランスポーターを制御するWNK1-SPAK/OSR1経路をキナーゼ活性依存的に抑制しており、ASK3ノックアウトマウスが高血圧を示すのも、腎臓においてWNK1-SPAK/OSR1経路が過剰亢進することが要因だと解釈されている。よって、ASK3は、細胞の浸透圧ストレス応答機構において重要な役割を担うことが示唆されているが、細胞レベルでの生理学的意義については明らかにされていなかった。特に、ASK3はキナーゼであり、恒常活性化体も得られていないため、高浸透圧ストレスによって定常状態よりも活性が下がることの生理学的意義については、検証する手段すら存在しなかった。

また、浸透圧ストレス認識からASK3の活性変化へと至る分子機構も完全に不明であった。ASK3ノックアウトマウスが加齢や高食塩食負荷によって野生型よりも高血圧を呈することは、新たな高血圧治療薬の開発につながる可能性を有しているが、その戦略を判断するためにもメカニズムの解明が期待されていた。

そして、細胞は、生命活動の場である細胞体積の恒常性を維持するだけでなく、細胞周期や細胞移動などの場面では積極的に変化させており、厳密に細胞体積を制御している。それ故、細胞体積を強制的に変化させる浸透圧ストレスは非常に根本的なストレスであると言える。しかし、そもそも細胞の浸透圧ストレス認識機構は、細菌や酵母、植物においては広く明らかにされつつあるものの、オルソログが存在せず、哺乳類細胞においては未だ不明な点が多いのが現状であった。

以上の背景に基づき、本研究は、より一般的な哺乳類細胞の浸透圧ストレス認識機構も視野に入れながら、高浸透圧ストレスによるASK3不活性化の制御機構を解明し、さらにその生理学的意義を解明することを目的として行われた。申請者は修士課程において、哺乳類細胞を用いたハイコンテンツゲノムワイドsiRNAスクリーニングを行い、高浸透圧ストレスによるASK3不活性化の制御分子として63個の候補分子を得ていた。そこで、本研究では、生化学的・分子生物学的手法により、これらの候補分子を詳細に解析する方針がとられた。以下に本研究によって新たに得られた主要な知見をまとめる。

1. PP6 が高浸透圧ストレスによる ASK3 不活性化を担う直接のプロテインホスファターゼである。
2. 高浸透圧ストレスによって、PP6 の活性が上昇するのではなく、ASK3 と PP6 の結合が増加する。
3. NAMPT は、その反応産物である NMN や NAD を介して、高浸透圧ストレスによる ASK3 不活性化を制御する。
4. 高浸透圧ストレスによる ASK3 不活性化制御機構において、NAMPT は PP6 の上流で作用する。
5. 高浸透圧ストレスによる ASK3 不活性化抑制は、細胞死を引き起こす。

本研究によって、高浸透圧ストレスによる ASK3 の不活性化は PP6 と NAMPT によって制御されていることが明らかになった。特に、NAMPT や NAD の関与は、本研究以前には全く予想できず、ゲノムワイドなスクリーニングを行った成果であると言える。また、現在までに PP6、NAMPT は浸透圧ストレスとの関係性については全く考慮されていなかったが、浸透圧ストレスが根本的なストレスであるが故に、本研究は既存の PP6 や NAMPT の役割に関しても、ASK3 や浸透圧ストレスといった新たな視点からの理解する必要性を示唆するものである。

そして本研究によって、高浸透圧ストレスによって ASK3 が不活性化するのは、細胞死から逃れ、恒常性を維持するためであることが明らかになった。これは不活性化に失敗すれば細胞死を誘導してしまうような ASK3 を細胞がわざわざ有しているということを意味し、ASK3 の活性変化が生存と細胞死を決定する分岐点となっている可能性を推察させる。

さらに本研究によって、高浸透圧ストレス依存的に ASK3 と PP6 の結合が増強することで、ASK3 不活性化が引き起こされる可能性が示唆された。これは、ASK3 と PP6 の結合を制御する化合物があれば、ASK3 特異的に活性を制御できる可能性を示唆し、創薬の観点から重要な知見である。

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。