

学位審査報告書

(ふりがな) 氏名	うえむら あや 上村 彰
学位(専攻分野)	博士(理学)
学位記番号	理博第 号
学位授与の日付	平成 年 月 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科 生物科学専攻
(学位論文題目)	哺乳類の小胞体ストレス応答の主要な制御因子である転写因子 XBP1 の発現制御機構に関する研究
論文調査委員	(主査) 森 和俊 教授 阿形清和 教授 大野睦人 教授

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	上村 彰
論文題目	哺乳類の小胞体ストレス応答の主要な制御因子である転写因子 XBP1 の発現制御機構に関する研究		
(論文内容の要旨) <p>小胞体ストレス応答は、小胞体の恒常性を維持するための機構である。小胞体では分泌タンパク質の合成が行われると同時に、小胞体シャペロンによる新生分泌タンパク質の立体構造形成が行われる。立体構造形成が完成した分泌タンパク質だけがゴルジ体へと輸送され、立体構造を形成できない不良品タンパク質は、小胞体関連分解と呼ばれる機構によって分解処理される。哺乳類の小胞体ストレス応答機構は ATF6 経路、PERK 経路、IRE1 経路という 3 つの独立した応答経路によって制御されているが、その中でも IRE1 経路は酵母のような下等な真核生物から哺乳類まで保存された小胞体ストレス応答の主要な応答経路である。</p> <p>小胞体膜に存在する小胞体ストレスのセンサー分子 IRE1 が立体構造な異常なタンパク質の蓄積 (小胞体ストレス) を感知して活性化し、転写因子 XBP1 の前駆体 mRNA をスプライシングして成熟型 mRNA に変換する。成熟型 XBP1 mRNA から翻訳される活性型転写因子 pXBP1 (S) が ATF6 経路の転写因子 pATF6 (N) とともに転写制御配列 UPRE に結合し、小胞体関連分解因子遺伝子の転写を誘導する。前駆体型 XBP1 mRNA から翻訳されるタンパク質 pXBP1 (U) は小胞体ストレス応答の負の制御因子で有り、pXBP1 (S) に結合してその分解を促進する。このように、転写因子 XBP1 の発現は mRNA スプライシングによる RNA レベルの調節と、pXBP1 (S) タンパク質の分解によるタンパク質レベルの調節という 2 種類の制御を受けている。本研究においては、IRE1 経路の分子機構を解明するために、この 2 種類の制御機構について詳細な解析を行った。</p> <p>第 I に RNA レベルでの調節についてであるが、IRE1 による XBP1 mRNA のスプライシングは従来よく知られているスプライソソームによるスプライシング (核スプライシング) とは全く機構が異なっており、その反応が核で起こっているのか細胞質で起こっているのか不明であった。そこで本研究では、(1) mRNA の切断酵素である IRE1 の触媒領域、(2) mRNA の結合酵素、(3) スプライシングの基質である前駆体型 XBP1 mRNA の細胞内局在性を調べた。その結果、これらはいずれも細胞質に局在していることを見だし、IRE1 による XBP1 mRNA のスプライシングが細胞質で起こることを明らかにした。</p> <p>第 2 にタンパク質レベルでの調節についてであるが、XBP1 タンパク質に結合するタンパク質を検索したところ、SUMO の結合酵素である UBC9 を単離した。UBC9 は XBP1 のロイシンジッパー領域に結合し、XBP1 の分解を抑制すること、またその活性には SUMO の結合酵素活性は不要であることを見いだした。</p> <p>以上の結果は、哺乳類の小胞体ストレス応答の主要経路である IRE1 経路の分子メカニズムを解明しただけでなく、哺乳類にも細胞質スプライシングの機構が存在することを明らかにし、細胞生物学・分子生物学の領域にインパクトを与えるものであった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

小胞体ストレス応答は小胞体の恒常性を維持する機構であり、その分子機構の解明は細胞生物学的に極めて重要な研究課題であるとともに、分泌タンパク質の構造異常に起因する疾患（フォールディング病と総称される）の病態理解にも深く関与しており、医科学の分野においても重要な研究である。本研究課題は、哺乳類の小胞体ストレス応答の主要経路である IRE1 経路の分子機構を詳細に解析するものである。

哺乳類の IRE1 経路は、センサー分子 IRE1 による転写因子 XBP1 mRNA のスプライシングという RNA レベルの制御と、転写因子 XBP1 の分解というタンパク質レベルでの制御の 2 種類によって厳密に制御されている。本研究課題ではこれら 2 つの制御に関して、詳細な解析が行われた。

まず RNA レベルでの制御であるが、酵母細胞においては IRE1 が転写因子 HAC1 の mRNA を細胞質でスプライシングすることが報告されていたが、このような特殊な RNA スプライシング（通常の RNA スプライシングは核で起こる）は酵母特異的なものであり、哺乳類の細胞には存在しないのではないかと考えられてきた。哺乳類でみられる IRE1 による XBP1 mRNA のスプライシングが核で行われているのか細胞質で行われているのかいくつかの先行研究があるが、技術的な困難さから結論は混沌としたままであった。上村はこの困難な課題に果敢に挑戦し、スプライシングに関与する因子（切断酵素である IRE1、結合酵素である RNA リガーゼ、基質である前駆体型 XBP1 mRNA）が細胞のどこに局在するか解析することによって、XBP1 のスプライシングが細胞質で起こることを支持する重要な結果を得ることに成功した。本研究課題によって XBP1 mRNA が細胞質で起こることを完全に証明したわけではないが（完全な証明は極めて困難である）、細胞質で起こると結論する十分なデータを得たものと考えられる。

次にタンパク質レベルでの制御であるが、転写因子である XBP1 タンパク質が極めて分解が速いこと（特に小胞体ストレスが解消した状況では非常に速い）が知られているが、分解を制御するユビキチンリガーゼ（E3 酵素）などの調節因子については、ほとんどわかっていなかった。この問題に対して上村は酵母細胞を用いた two hybrid スクリーニングを行って XBP1 に結合するタンパク質 UBC9 を単離し、UBC9 が XBP1 タンパク質の分解を抑制していることを見いだした。UBC9 は通常ユビキチンと構造が類似する低分子タンパク質 SUMO の結合酵素（E2 酵素）として機能することが知られているが、非常に興味深いことに、上村は UBC9 が XBP1 を安定化する際には SUMO の結合活性は必要ないことを発見した。このことは UBC9 に 2 つの活性があることを意味しており、UBC9 の研究に大きな一石を投ずる結果でもある。

以上のように、本研究課題は小胞体ストレス応答の分子機構という細胞生物学的に重要な研究課題の解明に大きく貢献するとともに、細胞質スプライシングが酵母から哺乳類まで存在することを見いだすことで分子生物学の分野にも大きな影響を与え、更に哺乳類の小胞体ストレス応答の分子機構の理解を進めることで医科学の分野にもインパクトを与えたものであり、極めて重要な成果をもたらしたと考えられる。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認めた。また、平成 24 年 1 月 24 日論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。