

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	池川 優子
論文題目	キイロショウジョウバエ (<i>Drosophila melanogaster</i>) における BH3-only protein、 <i>sayonara</i> の発見		
(論文内容の要旨)			
<p>生物は常に環境からのストレスに晒されており、これに対応するために細胞はストレスを感知し、ストレス応答を開始する必要がある。ストレス応答の代表例の一つはアポトーシスであり、その機構は海綿動物から哺乳類まで広く保存されている。</p> <p>1986年の線虫におけるカスパーゼ CED-3 の発見を発端として、アポトーシスの分子機構に関する研究は目覚ましく進んだ。1995年に BH3-only タンパク質である Bad が同定されたことを契機として、BH3-only タンパク質はアポトーシスを開始する必須のストレスセンサーとしての重要性が広く認識されてきた。</p> <p>ショウジョウバエ (<i>Drosophila melanogaster</i>) においても研究が盛んに行われ、進化的に保存されたアポトーシス経路が明らかにされてきた。例えば、IAP (Inhibitor of apoptosis) 経路の発見に代表されるように、ショウジョウバエを用いた研究は線虫、哺乳類と並び、アポトーシス研究に大きく貢献してきた。一方で、線虫や哺乳類でのアポトーシス制御に必須である BH3-only タンパク質が、ショウジョウバエではこれまで見つかっておらず、アポトーシス研究における重要な疑問として残されたままであった。</p> <p>申請者は、ショウジョウバエにおける BH3-only タンパク質の探索を行った。既知の哺乳類 BH3-only タンパク質を用いて <i>in silico</i> で相同タンパク質を探索したところ、ヒト Bik と類似性を持つショウジョウバエの未知遺伝子 CG14044 を発見し、以下の解析結果からこれを <i>sayonara (synr)</i> と名付けた。Synr は BH3-only タンパク質の機能に必須である BH3 モチーフを持ち、カスパーゼの活性化を伴うアポトーシスを誘導した。この誘導に BH3 モチーフは必要であった。また、ショウジョウバエの BCL-2 ファミリータンパク質である Buffy や Debel1 と遺伝的に相互作用していた。さらに、Synr と Buffy および Debel1 は <i>in vitro</i> で物理的に相互作用することを示唆するデータが得られた。Synr は p53 の下流や、飢餓ストレスに対する腸上皮でのアポトーシス制御でも機能しており、内在的にもアポトーシス制御に関わることが示唆された。</p> <p>さらに、申請者は、<i>synr</i> 下流にはアポトーシス経路に加え、オートファジー経路の活性化もあることを示した。オートファジー経路は一般的にアポトーシス経路を抑制すると考えられているが、<i>synr</i> の下流におけるオートファジー経路の抑制効果を調べたところ、カスパーゼの活性化と、それに伴う細胞死の抑制が見られた。また、<i>synr</i> の下流において、アポトーシス経路、オートファジー経路が共依存的に活性化し合う正のフィードバックループが成立していることも明らかになった。アポトーシス経路、オートファジー経路が互いに促進的に作用する例も知られているが、この両経路間の正のフィードバックループの存在については報告されておらず、両経路間の相互作用に関して新たな知見をもたらすものである。</p> <p>申請者の研究によって明らかにされたショウジョウバエ BH3-only タンパク質と、そのアポトーシス経路における機能は、アポトーシス経路の進化的保存性と多様性の理解を進めるものである。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

線虫や哺乳類でBH3-onlyタンパク質がカスパーゼ活性化の上流として重要な働きをするにも関わらず、ショウジョウバエではBH3-onlyタンパク質が見つかっていなかったのは、細胞死分野で一つの謎であった。申請者の研究は、この謎を解くものであり、特にショウジョウバエの細胞死分野において意義が大きい。

一般的に、BH3-onlyタンパク質は、BH3 motifを介して他のBcl2タンパク質との結合している。申請者は、今回発見したSynrのBH3 motifの重要性を、遺伝学を用いた解析により明らかにした。また、生化学的にはSynrがBH3 motifを介してBcl2タンパク質に結合することを、光クロスリンク法を用いて示唆した。一方で、どのような分子機序によってSynrと他のBcl2タンパク質が協調的に働くかについては、今後の解明が待たれる。また、ショウジョウバエにおいては、哺乳類と異なり、カスパーゼ活性化におけるシトクロームCなどミトコンドリアの役割はよく分かっておらず、申請者の研究を起点として今後ショウジョウバエにおける細胞死の時のミトコンドリアの機能が明らかになっていくことが期待される。

今回、申請者は、Synrがp53の下流で働くことや飢餓条件において腸で働くことを示しており、このことはSynrの生理的な意義を示唆するものとして評価できる。一方、Bcl2ファミリータンパク質のBuffyやDebclと同様に、Synrは発生期の多くの細胞死には不要であり、ショウジョウバエにおけるBcl2タンパク質の機能はストレス条件で発揮されることが示唆された。申請者の研究で示唆されたショウジョウバエのSynrの生理的機能は、哺乳類のBadやBikなど複数のBH3-onlyタンパク質と類似性が見出せるものであり、興味深い。

ショウジョウバエにおけるBH3-onlyタンパク質の発見という意義に加えて、本研究のもう一つの意義として、カスパーゼの活性化とオートファジーのポジティブフィードバックの発見が挙げられる。Synrがカスパーゼを緩やかに活性化する発現条件では、カスパーゼとオートファジー経路が互いを活性化することを遺伝学に示した。また、Rprの過剰発現によりカスパーゼを強く活性化した時も、オートファジーが活性化し、かつオートファジーがRprによる翅の表現型に影響を与えることを示した。これらの結果は、カスパーゼとオートファジーのクロストークが、ある程度普遍的な現象であることを示唆している。

本研究では、遺伝学的解析、遺伝子組み換え系統の作出、免疫染色画像の定量的解析、培養細胞を用いた生化学実験、大腸菌を用いた生化学実験、人工アミノ酸を用いた光クロスリンク法など、細胞生物学・分子生物学・遺伝学・生化学の異なる技術を統合することで、新規BH3-onlyタンパク質の機能解明に挑んでおり、申請者の研究手技の多様性と実験技術の高さが発揮されている。論文は論理的に構成され、実験手法の着想の経緯、手法の詳細、結果とその解釈がデータに基づき記載され、本研究の結果を踏まえた考察や将来の展望が妥当性をもって述べられている。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、専攻分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見、並びに概念が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。更に、令和5年1月24日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日