

京都大学	博士（医学）	氏名	九野 宗大
論文題目	Iron-induced NCOA4 condensation regulates ferritin fate and iron homeostasis (鉄誘導性 NCOA4 凝集はフェリチン運命と鉄恒常性を制御する)		
(論文内容の要旨) 鉄は細菌から哺乳類に至るほぼすべての生物で必須の栄養素であるが、過剰に存在すると毒性を発揮するため、その量は厳密に制御されている。フェリチンは過剰に存在する鉄を隔離することで、細胞の鉄代謝調節の中核を担う鉄貯蔵タンパク質である。フェリチンは、鉄欠乏時にはオートファジーアダプターである NCOA4 と結合しマクロオートファジーを介してリソソームで分解され、貯蔵した鉄が取り出されることで鉄欠乏を補っている。一方、鉄過剰時には発現が亢進して鉄を格納することで鉄毒性を回避している。しかし同時に、フェリチンは鉄過剰時にも非典型的なオートファジー経路を介してリソソームで分解されることが知られていた。鉄毒性回避の観点から見れば、鉄過剰時のフェリチンのリソソームへの輸送は不可思議な現象である。しかし、鉄過剰時に見られる病理所見であるヘモジデリンは膜成分に囲まれた変性フェリチンであることを踏まえれば、鉄過剰時のフェリチンのリソソームへの輸送機構の同定は重要である。そこで、鉄過剰時のフェリチン分解の分子機構と意義を明確にすることを本研究の目的とした。 まず、フェリチンの発現をモニターするレポータータンパク質を用いた CRISPR screening 系を確立し、鉄過剰時のフェリチン分解に必須な因子の網羅的な同定を進めたところ、 NCOA4 が最重要因子として同定された。 NCOA4 は鉄過剰時にユビキチン依存的に分解されると報告されていた。そこで、細胞における NCOA4 の発現を詳細に解析したところ、 NCOA4 は鉄過剰時に分解されるのではなく、 Triton X-100 に不溶性の分画へ移動し、凝集体を形成していた。 NCOA4 の鉄依存的な凝集は鉄が NCOA4 の天然変性領域に結合することで促進されることを明らかにした。 NCOA4 凝集体は培地への鉄添加後早期から生成されるが、鉄過剰早期ではフェリチンとは結合しないため、フェリチンはリソソームに輸送されずに細胞質に蓄積して鉄毒性を回避していた。しかし、鉄過剰が遷延するにつれて、発現上昇したフェリチンは NCOA4 凝集体と結合し、 TAX1BP1 依存的な非典型的オートファジー経路によってリソソームに輸送されて分解されることを見いだした。 最後に、鉄過剰遷延時のフェリチン分解の意義を解析すべく細胞内鉄含量を調べたところ、鉄添加早期には鉄含量は増加するが、遷延するにつれて鉄含量は定常状態になり増加しなかった。鉄過剰遷延時には鉄取り込みタンパク質であるトランスフェリン受容			

体 1 の発現が低下することから、細胞は相対的な鉄不足に陥り、それを補うためにフェリチン分解が生じると考えられた。これらのことから、**NCOA4** の凝集体は鉄処理早期にはフェリチンから隔離され鉄貯蔵を促進するのに対し、鉄過剰遷延時にはフェリチンと結合して分解に導き、相対的な鉄欠乏を回避することを明らかにした。

以上より本研究は、**NCOA4**・フェリチン経路が鉄毒性のみならず鉄欠乏を回避することで細胞の鉄代謝を巧妙に調節する基軸の 1 つであることを明らかにしたのに加え、未だ不明な点が多いヘモジデリンの形成機構の分子機構の解明の一助となる可能性があり、医学的にも非常に意義深い研究成果である。

(論文審査の結果の要旨)

フェリチンは細胞の鉄代謝調節を担う鉄貯蔵タンパク質である。フェリチンは鉄欠乏時にオートファジーアダプターである **NCOA4** と結合してマクロオートファジーによって分解され、貯蔵する鉄を放出して鉄不足を補う。フェリチンは鉄過剰時にも非典型的なオートファジー経路でリソソームへ輸送されることが知られていたが、その生理的役割は不明であった。

本研究ではまず **NCOA4** が鉄過剰時のフェリチン分解にも必要であることを示した。鉄過剰早期には、鉄が **NCOA4** の天然変性領域に結合することで凝集しフェリチンから隔離されていた。これにより、フェリチンが蓄積し細胞は鉄毒性から逃れていた。しかし、鉄過剰が遷延した場合には過剰に蓄積したフェリチンが **NCOA4** 凝集体と結合することで、**TAX1BP1** 依存的な非典型的オートファジー経路でリソソームへ輸送されることを明らかにした。

鉄過剰遷延時には過剰なフェリチン蓄積に加え、鉄取り込みタンパク質であるトランスフェリン受容体 1 の発現が低下する。それゆえ、鉄過剰時のフェリチン分解は細胞の相対的な鉄不足状態を回避するための生存戦略であり、**NCOA4**・フェリチン経路が鉄代謝調節の新たな中核であることを示した。

以上の研究は鉄過剰時のフェリチン分解機構の解明、及び鉄過剰時の病理所見で変性フェリチンのリソソームへの蓄積として知られるヘモジデリンの生成機構の解明に大きく寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 4 年 5 月 16 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日 以降