

(続 紙 1)

京都大学	博士（生命科学）	氏名	浅野剛史
論文題目	鉄貯蔵タンパク質フェリチンに貯蔵された鉄の細胞内の動態に関する解析		
(論文内容の要旨)			
鉄は DNA 合成や酸素運搬、エネルギー生産などの重要な役割を担う生体に必須な微量元素金属元素であるが、過剰に存在するとフリーラジカルの発生源として細胞傷害性を有する。そのため、哺乳類細胞は鉄過剰時に細胞質タンパク質であるフェリチンの発現を増加させ、フェリチンに余剰な鉄を貯蔵することで鉄の持つ毒性を回避している。 細胞外環境は絶えず変化しており、鉄過剰状態にあった細胞が鉄欠乏に陥る場合も想定される。その場合、フェリチンに貯蔵されている鉄の利用の有無、利用されるとすれば、そのメカニズムに関してはこれまで十分には解析されてこなかった。 そこでまず、細胞を鉄過剰にして鉄を含むフェリチンの発現を誘導した後に鉄欠乏状態に曝露したところ、フェリチンの減少が観察され、細胞は鉄欠乏時には自らの細胞内のフェリチンに貯蔵している鉄を利用していることが明らかになった。さらに、鉄欠乏時のフェリチンからの鉄の抽出にはオートファジーによるフェリチンのリソソームへの輸送が必要であった。しかし驚いたことに、フェリチンからの鉄の抽出には、タンパク質分解ではなく、リソソームのpH低下が必須であった。pH低下が重要な理由は、フェリチンに貯蔵されているFe³⁺はpHの低下によって溶解度が上昇するためであると考えられ、細胞質成分の酸性環境下への輸送もオートファジーの重要な機能の1つであることを示した。 フェリチンは鉄の毒性を回避するために鉄を貯蔵するタンパク質であるので、鉄過剰時には分解されず、過剰な鉄を安定に貯蔵していると考えられてきた。実際、癌細胞株では鉄過剰時にフェリチンは分解されなかった。しかしながら、正常細胞では鉄過剰時でもフェリチンはリソソームで分解されていた。しかも、正常細胞は鉄毒性に高感受性であるのに対し、癌細胞株は耐性であった。鉄過剰時のフェリチンの分解経路はオートファジー以外の未知の経路であり、この未知の経路の欠損が細胞の癌化と関連する可能性が考えられた。 本研究から、正常細胞のフェリチンは、鉄濃度によらず、常にリソソームを介して内部の鉄が鉄供給源として細胞に利用されているが、癌細胞株のフェリチンは、鉄欠乏時のみリソソームに輸送され、内部の鉄が利用されていることが明らかとなった。 これまで、鉄代謝研究は主として癌細胞株を用いて解析されてきたが、鉄動態は癌細胞と正常細胞では異なることが知られているので、生体での鉄代謝機構の理解には、癌細胞株で得られた知見のみではなく、正常細胞を用いた解析も必要であると考えられた。			

(論文審査の結果の要旨)

鉄は、酸素との高い親和性、生体の pH である弱アルカリ性環境下で容易に電子を授受する能力を有する、DNA 合成や酸素運搬、エネルギー生産などの多彩な生命現象に関与している必須の微量元素である。一方、鉄が過剰に存在すると、制御されない電子の授受を介してフリーラジカルを産生し、細胞傷害性を発揮する。それゆえ、哺乳類細胞は鉄過剰時に、細胞質に存在する鉄貯蔵タンパク質であるフェリチンの発現を増加させ、フェリチンに余剰な鉄を貯蔵することで鉄の毒性を回避している。しかしながら、鉄過剰にあった細胞が細胞外環境の変化によって鉄欠乏状態に曝された場合、自らの細胞質のフェリチンに貯蔵している鉄を利用するか否か、利用する場合の分子メカニズムは明確には解明されていなかった。

学位申請者は、本論文において、フェリチンに貯蔵されている鉄の利用メカニズムの解明に取り組み、以下の現象を見出した。1) 鉄を含有するフェリチンは鉄欠乏状態では、オートファジー経路によってリソソームへ輸送される。2) フェリチンからの鉄の抽出にはフェリチンの分解ではなくリソソームの pH 低下が必須である。

これらの結果は、フェリチンからの鉄の抽出には貯蔵されている Fe^{3+} の pH の低下による溶解度の上昇が関与する可能性を示しており、オートファジーはリソソームでの加水分解に導く以外にも、細胞質成分の酸性コンパートメントへの輸送系という側面も有することを示唆していると考えられる。

フェリチンは余剰な鉄を貯蔵して細胞を鉄毒性から防御しているので、鉄過剰時には分解されず、鉄を安全に保持し続けていると考えられてきた。学位申請者は鉄過剰時におけるフェリチン鉄の動態に関しても検討を加え、3) 癌細胞株では鉄過剰時にフェリチンは分解されなかったが、初代培養細胞などの正常細胞では鉄過剰時でもフェリチンはリソソームで分解される、4) 正常細胞におけるフェリチンのリソソームへの輸送系はオートファジー以外の経路である、5) 正常細胞は培地への高濃度の鉄添加により死滅したのに対し、癌由来細胞は高濃度鉄存在下においても増殖に影響を受けない、ことを見出した。

これらの結果から、正常細胞のフェリチンは、鉄濃度の高低に関わらず、常にリソソームを介して内部の鉄が鉄供給源として細胞に利用されているが、癌細胞株のフェリチンは、鉄欠乏時のみリソソームに輸送され、内部の鉄が利用されていることが示唆された。さらに、フェリチンは鉄欠乏時にのみオートファジー経路によってリソソームへ輸送されたことから、本研究によってこれまで知られていなかった細胞の状況に応じた選択的なオートファジーの存在が明確になった。

以上の結果から、本論文は、正常細胞を用いてフェリチンに貯蔵されている鉄の動態を詳細に解析することにより、生体の鉄代謝はこれまで癌細胞株を用いて示されてきた様式とは異なる機構で調節されていることを示しており、生命科学に重要な貢献をするものと判断された。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

また平成23年6月7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。

要旨公開可能日： 年 月 日