氏名（本籍）	片桐　尚宏
学位の種類	博　士（　生物工学　）
学位記番号	博　甲　第　　7359　　号
学位授与年月日	平成　27　年　3　月　25　日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	核小体崩壊誘導性の新規オートファジー誘導経路の解析
主査	筑波大学准教授　博士（薬学）　木村　圭志
副査	筑波大学教授　農学博士　馬場　忠
副査	筑波大学教授　農学博士　深水　昭吉
副査	筑波大学教授　博士（農学）　谷本　啓司

論　文　の　要　旨

オートファジーは、細胞の自己成分を細胞内消化器官であるリソソームに運び込み分解する大規模タンパク質分解系である。オートファジーは、栄養飢餓時に細胞内の基質を分解することによりアミノ酸を産生し、栄養飢餓時における細胞の生存を促進する機構として発見された。さらに近年では、オートファジーが種々のストレスによって活性化され、細胞内の変性した細胞内小器官やタンパク質を分解することにより細胞のストレスを除去する機能があることも報告された。一方で、リボソーム生合成の場として知られる核小体が、ストレスを感知して応答する機能を有することが、近年報告されている。核小体では、RNA polymerase I (Pol I)依存的に ribosomal RNA (rRNA)が転写され、その rRNA を足場に多種類のタンパク質が結合して核小体構造が形成される。核小体は、様々なストレスにより Pol I 転写が抑制されるとタンパク質の足場となっている核小体 RNA 量が減少し、縮小・崩壊する。核小体が崩壊した際には、いくつかの核小体タンパク質が核小体から核質に局在を変化させ、p53 が活性化して細胞周期の停止や細胞死を誘導する。著者は、核小体が崩壊するストレスと、ストレス応答の一つであるオートファジーを誘導するストレスに共通点が多いことに着眼し、核小体の構造とオートファジーの関係を解析した。

まず、Pol I 転写を抑制して核小体を人為的に崩壊させて、オートファジーが引き起こされるかどうかを解析した。免疫染色とイムノブロッティングによる評価により、核小体崩壊に伴ってオートファジーが活性化されることが示された。また核小体崩壊に伴うオートファジーは、オートファジー必須因子のノックダウンあるいはオートファジー阻害剤の添加により抑制されたことから、従来から知られているオートファジーと同様の分子メカニズムで活性化されることが示唆された。

次に、Pol I 転写を抑制した際に、核小体崩壊に伴ってオートファジーが活性化されることから、核小体内にオートファジーを誘導する因子が存在し、核小体崩壊時に核小体から局在を変化させることによりオートファジーを引き起こすという仮説を立て、核小体タンパク質のスクリーニングを行った。siRNA による網羅的なスクリーニングの結果、約 600 個の核小体タンパク質の中から、Nucleophosmin (NPM)を候補因子として得た。さらに、電子顕微鏡等を用いて詳細な解析し、NPM が核小体崩壊の際にオートファジーを活性化させることを見出した。一方で興味深いことに、従来知られている栄養飢餓によって誘導されるオートファジーは、NPM には依存しなかった。

本研究で筆者は、Pol I 転写抑制によって核小体崩壊を誘導したときに、オートファジーが活性化されることが示した。また、この核小体崩壊により活性化されるオートファジーに、核小体タンパク質 NPM が必須であることが示された。さらに NPM は、栄養飢餓により活性化されるオートファジーには関与しなかった。以上の本研究の結果から、細胞ストレスに応答し核小体崩壊により引き起こされる、NPM 依存的な新規のオートファジー活性化の経路の存在が示された。

審　査　の　要　旨

本研究で筆者は、細胞ストレスにより引き起こされる核小体崩壊により、核小体タンパク質NPMが核小体から局在を変化させてオートファジーを誘導することを発見した。本研究により従来はリボソーム生合成の場として知られていた核小体が、オートファジーの活性化を制御することにより、ストレス応答にも関与することが示された点が評価される。また、約600種類もの核小体タンパク質に対するsiRNAによる網羅的なスクリーニングを行い、NPMがオートファジーの活性化に機能することを見出した。さらに、電子顕微鏡での解析を含めたいくつかの方法で検証して確実なものとしている。さらに、従来から報告されている栄養飢餓時のオートファジーはNPMには依存しないことを見出し、二種類のオートファジー誘導経路が存在することを示すことができた。これらの発見は、クロマチン関連の研究分野の発展に貢献するものとして評価できる。

また、現時点では本研究は純粋な基礎科学に貢献しているが、オートファジーは癌と神経変性疾患をはじめとした種々の疾患に関与することが示されている。また、NPMもある種の白血病の進展や神経変性疾患の抑制に関わるとの報告もある。従って、本研究の進展が、疾患におけるオートファジーの役割の解明や制御法の確立への糸口になり、疾患の治療や予防といった方面へも貢献できることが期待できる。

平成 27年 1月 20日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。
よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。