

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 藤田 恵理

人間の一生 120 年間は生命の歴史に比べると大変短いものであるが、一個の個体のライフスパンとしてはかなり長いものである。分単位や時間単位、日単位で増殖する個体のライフスパンをもつモデル生物で問題になる適応や進化の機構はさておき、ひとりの人間の一生が、死の間際まで元気に人間らしく生きることができるとすれば、増えすぎた人類のおそらく唯一残された共存共生戦略である「少子高齢化社会」の道も必ずしも悲惨なものではなく、むしろ人間だからこそ可能な肯定できる社会とすることができるだろう。分子シャペロンは、生物/生命（細胞）の機能を担うタンパク質の現場対応（環境からのストレスへの対応）の適応維持機構の根幹を構成する。すなわちタンパク質の一生を補助するタンパク質であり、ストレス時のみならず細胞システムそのもののタンパク質の合成・分解システムがうまく循環するための構成要素でもある。本博士論文は、このような細胞の生存にとって必須であるタンパク質のホメオスタシス維持を担う分子シャペロンの役割が、とくに細胞の構造的基盤を担うタンパク質フィラメント・細胞骨格の機能原理であるタンパク質ダイナミクス維持それ自体に必須であることをはじめて明らかにした論文である。これまであまり機能が明らかでなかった低分子量ストレスタンパク質の一つ・ α B-crystallin のタンパク質ホメオスタシス機能の特異性の中核的概念を提起したことで画期的なものになった。通常分子シャペロンの研究は、*in vitro* でのモデル基質を用いた生化学的研究が多いが、藤田恵理さんは、 α B-crystallin が高く発現している遅筋細胞や心筋細胞での構成的な役割に焦点をあて、できる限り *in vivo* での機能を生化学的・細胞生物学的に研究し、見事に両側面を連関させて説得性のある論文としてまとめた。細胞の形態構築・張力伝達に必須な細胞骨格システムは、そのダイナミックな原理は生命力学システムである。しかし、そのダイナミクスに焦点をあてて研究している人は少ない。細胞骨格のダイナミクスは、フリーのフィラメント構成タンパク質と重合してフィラメント構造をとったフォームの間で平衡関係を維持している。タンパク質は一般に複合体をつくっている場合の方が安定であるが、細胞骨格タンパク質も同様にフィラメント構造は、リン酸化や Ca^{2+} などにより重合・脱重合が調節されているが、ダイナミクス機構が働く機構が保持されることが前提である。それには遊離の変性していないタンパク質が常に供給されることが必要不可欠である。

分子シャペロンはタンパク質の合成から分解、活性制御等、タンパク質の一生に深く関わっている。タンパク質の変性や構造異常は、アルツハイマー病などの神経変性疾患を引き起

こすため、タンパク質の構造・機能を保持する分子シャペロンは近年注目が高まっている。一方、細胞骨格タンパク質は細胞構造の基盤や細胞内物質輸送や細胞運動など、細胞機能に必要不可欠な構造体である。細胞の形態や運動を構成する細胞骨格タンパク質は細胞内で固定された物ではなく動的な骨格構造をもつとともに運動する性質を持つ。これらの細胞生物学的な研究は必ずしも人間の生活に結びついたものになっていなかった。分子シャペロンの中でも低分子量ストレスタンパク質ファミリーは、心筋細胞や骨格筋細胞に構成的に発現しており、これらの横紋筋組織は、生きているからだの活動基盤を構成する組織であるが、なぜ活動性の高い筋組織で網発現しているのかについては明らかになっていなかった。

本研究において、低分子量ストレスタンパク質 α B-crystallinはその細胞骨格の動的特性を安定化していることが示唆された。細胞のストレス応答系（ストレスタンパク質発現）はストレス応答時に機能するだけでなく、非ストレス時においても細胞の生存を維持するのに必須である。そしてこの機能を維持することがストレスタンパク質 α B-crystallinの機能と考えられる。すなわち、張力発揮システムの維持には細胞骨格ダイナミクスが必須であり、分子シャペロン α B-crystallinはそのシステムの維持に必要であること、収縮活動依存的に発現が亢進するストレスタンパク質の発現を誘導する環境刺激が重要であることが示唆される。その環境刺激こそが身体運動にほかならない。身体運動は細胞の環境に働きかけ、細胞の応答性を高める刺激である。このような機構により身体運動は細胞内の新陳代謝の回転率を上昇させるという人間の健康にとって重要な意義を持つ。このように、生化学的な実験から運動科学・健康科学への示唆を与える研究は非常に少なく、この点において大きな意義がある。

本博士論文の科学的意義は以下の二点である。(1) α B-crystallinの細胞骨格 tubulin に対するシャペロン活性には、低分子量ストレスタンパク質ファミリーの間で高度に保存されている配列 “ α -crystallin ドメイン”が関与することを、欠失 α B-クリスタリンを遺伝子工学的に作成し、*in vitro* のシャペロン実験及び細胞における発現特性からはじめて明らかにした。(2) GFP を用いた生細胞可視化システムにより持続的に収縮する心筋細胞内で GFP- α B-crystallin はダイナミックに細胞骨格に相互作用することを明らかにした。順に注目すべき点をあげる。(1) 低分子量ストレスタンパク質は心筋や骨格筋（遅筋）に構成的に発現しているが、その理由は明らかにされていなかった。心筋や骨格筋は持続的に筋収縮の刺激をうけ、その構造を支えるために張力が伝達される部位には細胞骨格が発達している。細胞骨格の役割は、タンパク質のホメオスタシスを通じて達成される「**構造のホメオスタシス**」を保持することである。本研究から、actin/actin フィラメントのトレッドミリングと tubulin/微小管細胞骨格の性質には、 α -crystallin ドメインをもった低分子量ストレスタンパク質が必要であることが明らかになった。重合の際のタンパク質の構造変化を変性とは

呼ばないまでも、そのコンフォメーションは少なからず変化する。タンパク質の構造の初期変化を認識する低分子量ストレスタンパク質は、細胞骨格構造の品質管理を行うことによって心筋や骨格筋での細胞骨格のダイナミクスの維持という機能を担っていると考えられる。

(2) に関しては、共焦点レーザー顕微鏡を使って FRAP/FLIP 解析を行い生細胞内での α B-crystallin を可視化した結果、収縮中の心筋細胞の横紋構造に α B-crystallin が非常に速い速度で相互作用することを示した。 α B-crystallin は、恒常的に機械的刺激を受けている心筋細胞内で Z 帯に存在するタンパク質とダイナミックに相互作用していると考えられる。骨格筋の収縮過程には細胞骨格系タンパク質の再構築が必須である。したがって、3 種類の細胞骨格のいずれとも相互作用する α B-crystallin のシャペロン機能、すなわち、タンパク質のケアシステムが必要であり、心筋、骨格筋などにおいては、収縮機能を発揮する上で重要なその動的構造を維持するために α B-crystallin が発現していることを示す重要なデータである。

以上のように本研究は、分子シャペロン α B-crystallin の細胞骨格ダイナミクス維持基盤として機能するシャペロン活性の研究から、この活性が健康維持・運動刺激への細胞のダイナミクス応答基盤としての細胞骨格のリモデリングを支えるという新たな機能の一端が解明した。このことは今後さらに重要性を増していくと考えられる身体運動科学のよって立つ基盤を提示したことになる。身体運動科学の分野における評価基準への貢献は二点ある。1) 体力評価基準を最大からの相対評価軸から行ってきた研究を、ホメオスタシスを維持する至適生理条件を基点にして再構成する、2) 細胞と個体/臓器の「構造/張力」基盤共ダイナミクス仮説からダイナミクス自体を解析する研究評価モデルの有効性である。身体運動科学は、生命科学原理から適切に評価軸をつくることのできることを示したこの生命環境科学系・身体運動科学の新しい研究/教育研究モデルともいえる。これらの評価から本審査委員会は博士(学術)の学位を授与するにふさわしいものと認定する。