

JNK 経路および p38 経路から構成されるストレス応答性 MAP キナーゼ経路は、ストレス応答に重要な役割を果たす細胞内シグナル伝達経路として注目されている。MAP キナーゼ経路の最上流に位置する MAP3K 分子群の一つである Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) に結合する蛋白質の探索により、phosphoglycerate mutase family 5 (PGAM5) が同定されている。PGAM5 はその N 末端側に存在する膜貫通ドメインを介してミトコンドリアに局在し、セリン/スレオニン特異的プロテインホスファターゼとして働く非常にユニークな分子であることが明らかとなっている。さらに、PGAM5 は自身の酵素活性依存的に ASK1 を活性化することが示されている。しかしながら、PGAM5 がストレス応答に関与しているか否か、あるいは、どのような生理的な役割を担っているかは明らかとなっていない。そこで申請者は、遺伝学的解析系が確立しているショウジョウバエをモデル生物として個体レベルでの PGAM5 の機能を解析した。以下に本研究で得られた主要な知見をまとめた。

1. dPGAM5 は熱ショックストレス応答において重要な役割を担う。

PGAM5 のショウジョウバエオルソログである dPGAM5 の欠失ショウジョウバエ (PGAM5¹) を作製し、様々なストレスに対する感受性を検討したところ、PGAM5¹ は熱ショックストレス (通常の飼育温度 25°C に対して 37°C) に対して感受性が高く、野生型個体より早期に死亡することを見出した。このような感受性の亢進は、野生型個体において神経系のみで dPGAM5 をノックダウンした際にも同様に認められ、さらにショウジョウバエの脳組織の一部であるキノコ体でのみ dPGAM5 をノックダウンした際にも認められた。また、PGAM5¹ のキノコ体でのみ dPGAM5 を発現させることで野生型個体に近い感受性に回復するのに対し、酵素活性を欠失した dPGAM5 変異体ではそのような回復は認められなかったことから、キノコ体に発現する dPGAM5 が、そのホスファターゼ活性を用いて個体の熱ショックストレスに対する感受性を制御していると考えられた。

2. dPGAM5 はキノコ体における熱ショックストレス誘導性アポトーシスを抑制している

熱ショックストレスを負荷した個体におけるキノコ体の組織変化を検討したところ、PGAM5¹ のキノコ体でのみ TUNEL 染色陽性のアポトーシス細胞が検出された。さらに、PGAM5¹ のキノコ体にアポトーシス阻害蛋白質である p35 を発現させると、野生型個体と同程度の感受性にまで回復した。これらの結果より、キノコ体におけるアポトーシスが熱ショックストレスに対する個体の感受性を高めることが示唆され、dPGAM5 はそのアポトーシスを抑制することで熱ショックストレスに対する抵抗性を高めていると考えられた。

一方、個体発生時にヒドロキシウレアを処置することによりキノコ体を欠失させたショウジョウバエを作製し、熱ショックストレスに対する感受性を検討したところ、野生型個体ではキノコ体を欠失させても感受性に影響を与えなかったのに対し、PGAM5¹ 個体ではキノコ体の欠失により感受性の低下、すなわち抵抗性の上昇が認められた。この結果は、PGAM5¹ での熱ショックストレスに対する感受性の亢進は、キノコ体の機能不全によるものではなく、

キノコ体がアポトーシスを起こすことにより、個体に対する毒性を獲得することに起因することが示唆された。

3. dPGAM5 は Dp38 経路を介して熱ショックストレスを制御する

dPGAM5 がどのような経路を介して熱ショックストレス応答を制御しているか、ショウジョウバエ *JNK* (*DJNK*) またはショウジョウバエ *p38* (*Dp38*) に着目して検討した。キノコ体にて、*DJNK* をノックダウンしても熱ショックストレスに対する感受性に影響を与えなかったが、*Dp38* をノックダウンした個体では感受性の亢進が観察され、さらに、熱ショックストレスによる *Dp38* の活性化は、*PGAM5*¹ の頭部において野生型個体のものと比較して減弱していた。これらの結果から、dPGAM5 が *Dp38* 経路活性を調節することにより、熱ショックストレスに対する感受性を制御していることが予想された。

4. 複眼特異的に dPGAM5 を過剰発現するとアポトーシスを誘導する

PGAM5 の生理機能をさらに探るため、dPGAM5 の過剰発現による表現型の検討を行った。その結果、複眼特異的に dPGAM5 を過剰発現させると rough eye と呼ばれる形態異常が誘導されることを見いだした。この rough eye は、*p35* を同時に発現させると回復したことから、アポトーシスの亢進に起因するものと示唆された。また、*Dp38* 経路を構成する遺伝子群をノックダウンすると、この rough eye は回復する傾向があったため、この系においても *Dp38* 経路が dPGAM5 の下流で働くことが示唆された。

本研究によって、ショウジョウバエを用いた解析により、dPGAM5 がキノコ体における熱ショックストレス誘導性アポトーシスを抑制することで、熱ショックストレスに対する個体の保護に働くことを見いだした。また、dPGAM5 の下流においてはおもに *Dp38* 経路が機能している可能性を示した。以上の結果は、*PGAM5* がストレス応答において機能する分子であることを示したものである。また、dPGAM5 は少なくとも複眼特異的に過剰発現させると、アポトーシスを誘導する活性を持つことを明らかにした。一方、*PGAM5* はミトコンドリアに局在することから、ミトコンドリアの障害と dPGAM5 のストレス応答における機能との関連が注目される。近年、ヒトの疾患モデルとしてもショウジョウバエが重用されており、パーキンソン病の原因遺伝子の一つである *PINK1* のショウジョウバエオルソログの変異個体は、ミトコンドリアの変性がおもな原因と考えられる運動機能や寿命の低下を示し、*PINK1* がミトコンドリアの品質管理機構において重要な役割を担うことを示す重要な論拠とされている。興味深いことに、dPGAM5 の欠損が *PINK1* 欠損による表現型を回復させることを申請者が作製した *PGAM5*¹ を用いることを見いだしたことから、*PGAM5* がヒト神経変性疾患の増悪因子として関与するとともに、ミトコンドリアの品質管理にも関わることを示唆された。このように、*PGAM5* がストレスに応じて細胞を保護する働きを担うと同時に、細胞死やミトコンドリア変性、ヒト疾患の増悪を引き起こすなど、細胞を傷害させる働きも担い、細胞種や状況に応じた細胞応答を引き起こす可能性を提示した点は、非常に意義深いと考えられる。以上より、本研究は博士（薬学）の学位に値するものと判定した。