

論文審査の結果の要旨

氏名 佐々木 克博

本論文は4章からなり、第1章の序論では、細胞内の大規模なタンパク質分解システムであるユビキチン・プロテアソーム系の分子機構と生物学的意義を概説した後、巨大で複雑なタンパク質分解装置であるプロテアソームの構造と機能を解説している。次いでプロテアソーム複合体の形成機序の要であるプロテアソームに専門的な分子集合因子 PAC (Proteasome Assembly Chaperone) 1 の解説、そして本研究の目的として、マウス個体における PAC1 の生理機能を解析する構想を記述している。

第2章は、実験材料及び手法について詳述している。具体的には、条件的 PAC1 欠損マウス、全身 PAC1 欠損マウス、中枢神経系特異的 PAC1 欠損マウス、肝臓特異的 PAC1 欠損マウスの作出法、および解析に利用した生化学的・免疫化学的・形態学的解析法・分子生物学的手法について記載している。

第3章は、結果及び考察で、その内容は3節から構成されている。第一節では、全身 PAC1 欠損マウスの解析結果が簡潔に述べられている。即ち、条件的 PAC1 欠損マウスと EIIa-Cre トランスジェニック (Tg) マウスを交配して作出した全身 PAC1 欠損マウスの解析では、E (Embryonic day) 6.5 で出生前致死となること（子宮着床後の早期発生時期）が形態学的解析から明らかとなったことを見出し、PAC1 の個体発生における重要性を示唆している。本研究から、E6.5 日までの胎仔発生には PAC1 非依存性のプロテアソーム形成量で十分であることを示唆している。と同時に、E6.5 日以後の時期が胎仔初期の細胞増殖のピークと重なることから、PAC1 依存的なプロテアソーム形成が個体発生に必須であることを示唆している。

第二節では、中枢神経系特異的 PAC1 欠損マウスの解析結果が詳しく述べられている。条件的 PAC1 欠損マウスと Nestin-Cre Tg マウスを交配して作出した変異マウスは、Nestin 陽性細胞において PAC1 が欠損しており、このマウスでは特に小脳の発達異常を伴い、生後著しい運動障害が観察されている。そしてこの異常は、小脳皮質を構成する主要な神経細胞である顆粒球またはその前駆細胞の増殖障害が一因となっていることを明らかにしている。小脳は生後急激に発達することが知られており、その他の脳組織と比べると発生時期は最も遅い。また PAC1 欠損による活性型 26S プロテアソームの活性低下が出生以降からはじまることから、神経前駆細胞の増殖には、PAC1 依存的な分子集合機構によって形成された大量のプロテアソームが必要であることを示唆している。

第三節では、肝臓特異的 PAC1 欠損マウスの解析から当初に予想されなかったプロテアソームの動態について記述されている。条件的 PAC1 欠損マウスと Albumin-Cre Tg マウ

スを交配して作出した肝臓特異的 PAC1 欠損マウスの肝実質細胞では 20S プロテアソームがほぼ完全に消失している状態が、少なくとも 1 年以上の長期的にわたり維持されていることを観察している。一方、驚いたことに 26S プロテアソームは量的、質的に正常な状態で存在し、見かけ上マウスは健康な状態で生存した。これまで 20S プロテアソームは 26S プロテアソーム (20S プロテアソームに調節因子が会合した活性型酵素) の中間体として捉えられてきたが、本研究の結果、非増殖状態の肝細胞では 26S プロテアソームが PAC1 非依存的に形成されること、また 20S プロテアソームがそれ自体、独自の役割を持つ可能性があることが示唆されている。しかし形態学的、生化学的解析からこれらの肝細胞は過剰なストレス環境下であり、さらに老化症状が亢進していることを明らかにしている。即ち PAC1 依存的に効率的に形成された 20S プロテアソームが単独で酸化タンパク質 (酸化ストレスによる活性酸素の蓄積は老化の重要なファクターである) を分解し、抗老化機能を果たしている可能性を示唆している。

第 4 章は、本研究で得られた結果と問題点を整理して議論すると共にその生物学的意義の検証並びに将来的な研究構想について明瞭に総括している。

以上の知見は、PAC1 依存性のプロテアソーム形成の重要性と 20S プロテアソームと 26S プロテアソームの生理作用に機能分担があることを個体レベルで示した画期的な発見であり、今後の細胞内タンパク質分解研究の発展に大きく貢献すると判断できる。

なお、本論文は、濱崎純 (プロテアソームの活性測定)、小池正人 (組織学的解析)、平野祐子 (PAC1 抗体の提供)、小松雅明 (ノックアウトマウスの作出)、内山安男 (組織学的解析)、村田茂穂 (ノックアウトマウスの作出) との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士 (生命科学) の学位を授与できると認める。