

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (学術)	氏名	SCHLARMANN PHILIPP CHRISTOPH JOSEPH
学位授与の要件	学位規則第4条第①項該当		
論 文 題 目			
セラミドの輸送と細胞内ホメオスタシスにおける膜接触部位の役割に関する研究 (The roles of membrane contact sites in ceramide trafficking and intracellular homeostasis)			
論文審査担当者			
主 査	准 教 授	船戸 耕一	
審査委員	教 授	堀内 浩幸	
審査委員	教 授	水沼 正樹	
〔論文審査の要旨〕			
<p>本論文は、出芽酵母を用いて、生体膜の恒常性に深く関与している脂質のオルガネラ間輸送機構とオルガネラ間輸送に重要な役割を果たす膜接触部位 (membrane contact site; MCS) の遺伝子発現制御における役割を解明する目的で行った研究成果をまとめたものである。</p> <p>脂質は生体膜の重要な構成要素であり、膜上では多種類の脂質が不均一かつ複雑に配置されている。細胞が生命活動を正常に行う上で、細胞膜の脂質の存在量や分布は正常に保たれている必要がある。そのため、脂質合成の中心的なオルガネラである小胞体から機能すべき場所への輸送や選別は厳密に制御されている。</p> <p>酵母細胞において、スフィンゴ脂質の代謝中間体であるセラミドは小胞体で合成され、ゴルジ体へ運ばれたのち、複合スフィンゴ脂質のひとつであるイノシトールリン酸セラミド(IPC)へ変換される。セラミドの小胞体からゴルジ体への輸送は、COPII 小胞が担う小胞輸送と輸送小胞を介さない非小胞輸送によって行われることが知られている。セラミドの非小胞輸送は ATP を必要としない経路であるが、細胞質タンパク質と小胞体-ゴルジ体間の MCS を必要とすること、さらに MCS の繫留因子であるトリカルビン(tricalbins)や Nvj2 が関与することが明らかにされている。興味深いことに、トリカルビンをコードする遺伝子を破壊すると、セラミドがアシル化されたアシルセラミドのレベルが増加し、そのアシルセラミドが貯蔵される場所である脂肪滴の数も増加することから、脂肪滴がセラミドの非小胞輸送に何らかの役割を果たしている可能性が推察される。また、MCS は脂質代謝だけでなく細胞内シグナル伝達においても重要な役割を果たすことが知られているが、遺伝子発現の制御と MCS の関連は殆ど理解されていない。</p> <p>本論文では、セラミドの非小胞輸送における脂肪滴の役割と遺伝子発現制御における MCS の役割を明らかにすることを目的とした。</p> <p>本論文は概要紹介(general introduction)と 3 つの章からなる。 概要紹介(general introduction)では、細胞内恒常性と細胞の運命、MCS、スフィンゴ脂</p>			

質の代謝や輸送、機能に関する研究の背景を述べている。

第1章では、セラミドがその炭素鎖長とは無関係に非小胞輸送によって小胞体からゴルジ体へ輸送されるという結果について、本内容の要旨、背景、結果、考察、実験材料と方法の順に述べている。セラミドの非小胞輸送が炭素鎖長によって影響を受けるかどうか調べるため、内在性セラミド合成酵素をコットン由来の GhLag1 遺伝子に置き換えた酵母 GhLag1 株を研究に使用した。この GhLag1 株は C26 ではなく C18 の短鎖セラミドを産生する。ATP を欠乏させた条件あるいは小胞輸送に必須な遺伝子の変異と Ghlag1 との二重変異株を用いて小胞輸送をブロックさせた時、野生株と GhLag1 バックグラウンドで同程度の IPC 合成の減少が起こることから、セラミドの非小胞輸送への選別はアシル鎖の長さに依存しないことを明らかにした。

第2章では、セラミドの小胞体からゴルジ体への非小胞輸送にアシルセラミドの形成と脂肪滴が関与することについて、本内容の要旨、背景、結果、考察、実験材料と方法の順に述べている。具体的には、繫留因子が小胞体と脂肪滴とゴルジ体の3つのオルガネラが接する領域に存在していること、脂肪滴合成欠損株でセラミドの非小胞輸送が阻害されることから、脂肪滴がセラミドの MCS を介した非小胞輸送に関与しているエビデンスを示した。

第3章では、セラミドの非小胞輸送に必要な膜接触部位の繫留因子であるトリカルビンがグルコースに対する酵母の転写応答に関与することについて、本内容の要旨、背景、結果、考察、実験材料と方法の順に記述している。野生株とトリカルビン欠損株の遺伝子発現 RNA シークエンシングで比較解析した結果、トリカルビンの欠失は高グルコース環境に対する細胞応答を模倣した遺伝子発現パターンを示したことから、MCS がグルコースに対する酵母の転写応答に関与していることを見出した。

以上のように本論文は、セラミドの非小胞輸送の機構を解明し、脂肪滴が重要な役割を果たしていること、さらにセラミドの非小胞輸送に必要な MCS の繫留因子がグルコースに対する酵母の転写応答を調節していることを見出し、環境変化に対する細胞応答における MCS の重要性を世界に先んじて明らかにしたものであり、学術的意義は非常に大きい。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（学術）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。