論文内容の要旨

申請者氏名　　Jiraporn　Tocharus
ジラポーン　トチャラス

HtrAは微生物から植物、動物界に広く保存されて存在するセリンプロテアーゼのファミリーであり、セリンプロテアーゼ活性ドメインのほかに、そのC末端側に一つ以上のPDZドメインを共通して保有している。　微生物では、HtrAは高温などのストレスに対する応答を制御する因子であり、HtrA遺伝子の変異は高温不耐性の形質を現す。微生物のHtrAはペリプラズムに存在し、高温ストレスで変性した蛋白質を認識して分解するとともに、ペリプラズム膜のRseA蛋白質を分解して、その細胞質側に結合したσE因子を遊離、活性化しストレス応答遺伝子群の転写活性化を促す。 RseAの分解には、変性した外膜ポーリン蛋白質がその C-末端のアミノ酸配列によって、HtrAのPDZドメインに結合することが重要な活性化要因であることが知られている。

一方、哺乳類は4種のHtrA蛋白質遺伝子を有している。　このうちHtrA2はミトコンドリアに局在し、アポトーシスシグナルによって細胞質に漏出すると、IAP に結合しCaspaseの活性化を促し、あるいは、Caspase非依存的にそのプロテアーゼ活性によってアポトーシスを促進する。マウスHtrA2の変異は、ミトコンドリアの変性を引き起こし、遺伝的神経筋変性疾患の原因となることが知られている。　他の哺乳類のHtrA１，3、および４蛋白質は細胞外へ分泌される蛋白質であり、その機能は知られていないが、申請者の研究室では、HtrA1の発現がTGF–βの機能している組織と良く一致すること、HtrA1蛋白質が各種TGF-βに結合しそのシグナル伝達を阻害することから分泌型HtrAがTGF-βシグナルの制御に関ることを明らかにした。このような知見に基づき、申請者は、HtrA3の発現パターン、HtrA3のセリンプロテアーゼ活性、TGF-βへの結合とシグナル阻害活性を検討した。　その結果、HtrA3は、HtrA1と同様に、TGF-βが分化を調節している胎児の眼、軟骨や腱や靭帯や骨などの骨格組織に発現しているが、両者の発現は完全には一致せず、ことに眼では、HtrA3はレンズに、HtrA1は毛様体原基に発現するなど、相補的な発現様式を示すことが明らかになった。また、HtrA3は、成体の関節軟骨に弱く発現しているが、軟骨の破壊が起こり関節炎が惹起されると、発現が誘導されることが明らかになった。HtrA1も関節炎に伴って関節軟骨深部でその発現が上昇するが、HtrA3は関節軟骨表面領域と骨端軟骨での変化が著明である等、ここでも相補的な発現様式が観察された。

HtrA3は、細胞外マトリックスを構成するプロテオグリカンを分解する活性を持つことも明らかにされた。　TGF-βのシグナル伝達は、細胞外マトリックスの存在に強く依存していることは古くから知られており、HtrAによるTGF-βシグナル阻害の機構が、細胞外マトリックスの分解に関連していることが強く示唆された。

論文審査結果の要旨

申請者氏名　　Jiraporn　Tocharus
ジラポーン　トチャラス

本研究で解析を行ったHtrA３は、セリンプロテアーゼの一つのファミリーに属しており、C-末端に蛋白質間相互作用に関るPDZドメインを共通して保有する特徴を有している。　哺乳動物のHtrAの機能は、HtrA2について良く研究されており、この遺伝子が正常なミトコンドリアの維持とアポトーシスの促進に関ることが既に明らかになっている。　一方細胞外分泌蛋白質であるHtrA1,3,4については、最近、申請者の研究室でなされたHtrA1がTGF-βシグナルを阻害するという知見以外には機能を明らかにした研究はない。

申請者は、分泌型HtrAのうちHtrA3に注目し、その発現のパターンを、特にマウス胎児期について精査した。　その結果、HtrA3は基本的にはHtrA1と同様な組織において発現しているが。　組織内での発現のパターンは、HtrA1と分布を異にする場合があることを明らかにした。　例えば、胎児の眼においては、HtrA1は将来毛様体を形成する網膜組織の先端部分と網膜色素上皮に発現するが、HtrA３はレンズ上皮で主に発現し、初期のレンズ繊維でも弱い発現が見られた。　また、四肢においては、HtrA1が主に、関節部分に発現するのに対して、HtrA3は腱における発現が強く見られた。　注目すべきは、このような胎児組織はいずれもその分化形態形成がTGF-βシグナルによって制御されているという点であり、哺乳動物の分泌形HtrAは、HtrA1のみならずHtrA3もTGF-βシグナルとの強い相関があることを示唆している。　実際にその相関を裏付けるため、申請者は、HtrA3蛋白質の生化学的性質を精査し、HtrA3が各種TGF-βと結合し、そのシグナル伝達を阻害しうることを明らかにした。　また、HtrA3がTGF-βと機能的関連の強い細胞外マトリックス蛋白質を分解しうることを明らかにし、HtrAによるTGF-βの抑制機能が細胞外マトリックス成分の破壊にあるのではないかという仮説を提唱した。

以上のように、本論文は、多様な生理機能を有するHtrA3分子についてその発現様式と機能を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。