

## 学位授与記録簿（博士）

バイオサイエンス研究科

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | 小笠原 裕太   |
| 学位の種類   | 博士（バイオサイエンス）                                   |
| 授与年月日   | 2015年（平成27年）3月21日                              |
| 学位授与の要件 | 本学学位規程第18条第1項該当者（学位規則第4条第1項）                   |
| 学位論文の題名 | Roles of unsaturated fatty acids in autophagy. |
| 審査委員    | 主査 教授 山本 章嗣<br>副査 教授 水上 民夫<br>副査 教授 野村 慎太郎     |

### 論文内容要旨

オートファジーは細胞が持つ主要な分解系の1種である。オートファジーのプロセスにおいて形成される隔離膜は不飽和脂肪酸が豊富な固有の脂質組成を持つと考えられているが、不飽和脂肪酸の役割については未知である。

本研究では、オートファジーにおける不飽和脂肪酸の意義を明らかにすることを目的として、脂肪酸不飽和化酵素（SCD1）の阻害剤 28c の作用を解析した。28c のオートファジーに対する作用を評価するために GFP-LC3 の顆粒形成の蛍光顕微鏡的解析、LC3 の免疫ブロット、電子顕微鏡解析、p62/SQSTM1 の解析を行った。その結果、SCD1 阻害剤 28c によって有意に飢餓誘導性オートファジーが阻害されることが分かった。また 28c によるオートファジーの阻害は SCD1 の過剰発現および SCD1 の主要な産物であるオレイン酸の添加によって解除されることを示された。28c は、mTOR 阻害剤である rapamycin 誘導性のオートファジーをも阻害した。28c による阻害の作用機序を明らかにする、オートファジー初期に働くタンパク質群の分布を解析したところ、LC3 だけでなく ULK1、WIPI1、Atg16L、p62/SQSTM1 のオートファジー誘導に伴う顆粒形成が阻害されていることが分かった。これらデータは SCD1 活性がオートファジーの初期過程に必要であることを示唆している。

オートファジーにおける SCD1 の役割をさらに解析するために、次に出芽酵母をモデルシステムとして用いた。SCD1 の酵母ホモログである *OLE1* を欠損させた *ole1* 欠

損株を用いて解析したところ、窒素源飢餓誘導性オートファジーと細胞内輸送経路のひとつ Cvt 経路が阻害されていることが ALP アッセイと Ape1 アッセイによって分かった。以上のことから脂肪酸不飽和化は真核生物におけるオートファジーに普遍的に必要なものである可能性が示された。

## 論文審査結果要旨

著者は、ケミカルライブラリーからオートファジー阻害剤をスクリーニングし、強力な阻害作用を持つ薬剤を数種見出した。その1つが構造の類似性から SCD1 阻害作用を持つのではないかと予想した。実際、既知の SCD1 阻害剤がオートファジーを阻害することを見出し、SCD1 によってつくられる不飽和脂肪酸がオートファゴソーム形成の初期過程、とくに、ULK1 のオートファゴソーム形成部位へのターゲティングに必要なことを明らかにした。さらに、酵母の SCD1 ホモログである ole1 ノックアウト株においても、オートファジーが阻害されていることを見出し、SCD1 による不飽和脂肪酸の合成が、真核生物であまねく重要であることを示唆した。本研究は、自身のオリジナルな発見を発展させた独創性の高いものであり、脂質生物学に新しい門戸を開くものとして、高く評価できる。発表は全体的に良く整理されていた。質問に対する回答も適切であり、同時に、研究に対して強い意欲を感じ、好感をもてた。以上の結果から、本論文は、博士論文にふさわしいものと判断した。