

氏 名	やま ね じゅん こ 山 根 順 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3161 号
学位授与の日付	平 成 19 年 11 月 26 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Functional involvement of TMF/ARA160 in Rab6-dependent retrograde membrane traffic (Rab6 依存的な逆行膜輸送における TMF/ARA160 の機能的関与)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 田 亮 教 授 鍋 島 陽 一 教 授 渡 邊 大

論 文 内 容 の 要 旨

分泌経路に関わる順行輸送は、逆行輸送によって均衡が保たれている。この膜の recycling は、オルガネラの統合性や、様々なタンパクの定常状態での分布を維持する為に必要だと考えられている。

エンドソームからトランスゴルジネットワークへの逆行輸送には、二つの経路が存在する。late endosome を介する経路と、late endosome を介さずに直接トランスゴルジネットワークに運ばれる経路である。後者の経路には Rab6 が関与していることが知られている。

また、ゴルジ体から小胞体への逆行輸送においても、二つの経路が知られており、最も知られている経路は COP-I コート vesicle によって介される輸送経路であるが、最近になり、COP-I 非依存的で、Rab6 依存的なゴルジ体から小胞体への逆行輸送の存在が報告されてきた。

このように、低分子量 GTPase の Rab6 は、エンドソームからゴルジ体、そしてゴルジ体から小胞体への逆行膜輸送を調節している。今回、Rab6 の結合タンパクである TMF/ARA160 (TATA element modulatory factor/androgen receptor-coactivator of 160kDa) が、この Rab6 依存的な逆行膜輸送の経路に関与していることを示した。高分解能の免疫染色像より、TMF のシグナルが、Rab6-positive なゴルジ体構造の周りを取り囲むこと、また、免疫電子顕微鏡像により、TMF がゴルジ体の cisternae の先端に存在する出芽状の構造に局在することが示された。

Rab6 依存的にエンドソームからトランスゴルジネットワークへ逆行輸送されるものとして、Shiga toxin が挙げられる。RNA 干渉法による TMF、あるいは Rab6 のノックダウンにより、エンドサイトーシスで取り込まれた Shiga toxin が early/recycling endosome からトランスゴルジネットワークへの逆行輸送を阻害され、その結果 Shiga toxin は late endosome/lysosome に missort されてしまう。

また、Rab6 依存的にゴルジ体から小胞体へ逆行輸送されるものとしては、N-acetylgalactosaminyltransferase-2 (GalNAc-T2) と β 1,4-galactosyltransferase (GalT) が挙げられる。TMF のノックダウンにより、ゴルジ体に局在していた GalNAc-T2 がゴルジ体から置換されてしまう。この結果は、GalT では見られない。GalNAc-T2 と GalT の cytoplasmic 領域を入れ替えたキメラタンパクを用いた解析により、GalNAc-T2 の cytoplasmic 領域が TMF 依存的な Golgi retention において重大な役割を果たしていることがわかった。

これらの結果より、2つの Rab6 依存的な逆行膜輸送の経路（エンドソームからゴルジ体、ゴルジ体から小胞体）に TMF が重要な役割を果たしていることが示された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

細胞内での物質輸送には、順行輸送と逆行輸送の、2 方向の輸送が存在する。この膜のリサイクリングは、オルガネラのホメオスタシスを保つために重要な役割を担っている。

今回ゴルジ体に局在するタンパク質、TMF/ARA160 がエンドソームからゴルジ体、ゴルジ体から ER への逆行輸送に関わる Rab6 と機能的に関与していることが証明された。

エンドソームからゴルジ体への輸送では、Rab6 依存的に運ばれる Shiga toxin が、TMF のノックダウンによりゴルジ体へと運ばれず、リソソームへとミスソートされた。これは、病原体の細胞内輸送をコントロールする上で有益なツールとなる可能性がある。

また、ゴルジ体から ER への輸送では、Rab6 依存的に運ばれる修飾酵素の GalNAc-T2 や GalT において、TMF ノックダウンにより、GalNAc-T2 のゴルジ分布は抑制されたが、GalT の分布には影響がなかった。2 つの cytoplasmic 領域を入れ替えたキメラタンパクで、TMF ノックダウンを行ったところ、cytoplasmic 領域が GalNAc-T2 のキメラタンパクに対してのみ TMF の影響が見られた。よって、TMF は Rab6 依存的にゴルジ体から ER へ運ばれるタンパクの中で、GalNAc-T2 において、cytoplasmic 領域を認識し、ゴルジ体に局在するよう作用する。本研究においてゴルジ体に局在する細胞質のタンパク TMF が、修飾酵素の 1 つの cytoplasmic 領域を認識する因子として同定された。

以上の研究は膜輸送を介したオルガネラの手配の解明に貢献し、オルガネラの手配異常により引き起こされる病気の発症機序の解明に寄与するものと考えられる。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 19 年 10 月 22 日実施の論文内容と、それに関連した試問を受け、合格と認められたものである。