

京都大学	博士（医学）	氏名	野澤 敦子
論文題目	Rab35 GTPase recruits NDP52 to autophagy targets (Rab35 GTPase はオートファジーの標的に NDP52 をリクルートする)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>選択的オートファジーとは、細胞内で不要になった細胞内小器官やタンパク質凝集体、さらには細胞内に侵入した病原微生物を選択的に分解するシステムで、細胞の恒常性維持に寄与している。近年、この選択的オートファジーにおいて NDP52 などのオートファジーレセプターと呼ばれる受容体が重要な役割を果していることが明らかになっており、これらの受容体はユビキチン化された分解標的に特異的に結合し、オートファゴソームに取り込ませることで、オートファゴソームの形成を促進し、標的を選択的に分解する。しかしながら、オートファジーレセプターがどのように標的にリクルートされ、どのように非標的物質との区別をしているのかなどの詳細な認識メカニズムについては解明されていない。</p> <p>本研究では、上皮細胞内で選択的オートファジーにより分解されるA群レンサ球菌 (GAS; Group A Streptococcus) をモデルとして用い、細胞内膜輸送に関わる低分子量Gタンパク質であるRab GTPaseおよび、その負の調節因子であるTBC/RabGAPに着目することで選択的オートファジーの制御メカニズムを明らかにすることを目的とした。</p> <p>30種のTBC/RabGAPタンパク質を過剰発現させたHeLa細胞にGASを感染させ、共焦点顕微鏡にてオートファゴソーム形成率を測定したところ、TBC1D10Aの過剰発現細胞でオートファゴソーム形成率が減少した。また、TBC1D10Aを過剰発現させた細胞において、Ubiquitinおよびオートファジーレセプターであるp62、OPTN (optineurin)、NDP52がGASへリクルートしている割合を測定したところ、Ubiquitin、p62、OPTNのGASへのリクルートはコントロールの細胞と比較して変化せず、NDP52のGASへのリクルートは減少した。このことから、TBC1D10AはNDP52のGASへのリクルートおよびオートファゴソーム形成に関与することが明らかになった。また、TBC1D10Aの基質としてRab35が報告されていることからRab35のノックアウト細胞を作製し、GAS感染時におけるオートファゴソーム形成、およびGASへのNDP52のリクルートを調べたところ、野生型の細胞と比較して減少していた。つまり、Rab35はNDP52のGASへのリクルートを制御することが明らかになった。さらに、免疫沈降法による解析により、Rab35とNDP52は安定した複合体を形成することが明らかになった。一方、NDP52と複合体を形成し、オートファジー標的へのリクルートを制御することが過去に報告されている、リン酸化酵素TBK1のノックアウト細胞を作製し、Rab35とNDP52の複合体形成能について調べたところ、TBK1ノックアウト細胞では複合体形成が著しく減少していた。つまり、Rab35とNDP52はTBK1を介して安定した複合体を形成することが明らかになった。このTBC1D10A、Rab35、TBK1によるNDP52のオートファジー標的へのリクルートの制御は、細菌感染時だけでなく、損傷したミトコンドリアの分解に関与するマイトファジーや非選択的オートファジーである栄養飢餓誘導性のオートファジー、基底オートファジーにおいても関与しており、マイトファジーの促進やオートファゴソームの成熟に関与することを明らかにした。</p> <p>新規オートファジー制御因子としてRab35を同定した。Rab35は様々なオートファジーの標的因子にNDP52をリクルートすることが明らかになった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

オートファジーは、飢餓時において栄養源確保を行う細胞内非選択的分解システムであるのと同時に、傷害を受けた細胞内小器官や病原微生物等を選択的に分解・除去する役割も果たす。特に選択的オートファジーにおいてオートファジーレセプターはユビキチン化された標的と結合することで標的の分解を活性化することが明らかになっているが、その制御機構については不明な点が多い。本研究では、細菌感染時の免疫システムとして働くゼノファジー、傷害を受けたミトコンドリアを除去するマイトファジー、栄養飢餓誘導性のオートファジー、基底オートファジーにおいてRab35がオートファジーレセプターであるNDP52をそれぞれの標的にリクルートし、ユビキチンとNDP52の結合を促進していることを示した。一方、TBC1D10AはGAP活性依存的にNDP52の標的へのリクルートを制御することを示した。また、Rab35はNDP52と複合体を形成し、その複合体形成はリン酸化酵素であるTBK1の活性依存的であることを明らかにした。これらの結果は、ターゲット膜上のRab GTPaseがオートファジーレセプターをリクルートすることでターゲットを標識し、分解を促すことを示す。

以上の研究は選択的オートファジーの制御機構の解明に貢献し、病原細菌による感染症やパーキンソン病などの神経変性疾患、癌等の発症機構の解明に寄与するところが多い。

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 29 年 11 月 21 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。