

氏 名	まつ お よし ゆき 松 尾 禎 之
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2356 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 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	Identification of a Novel Thioredoxin-related Transmembrane Protein (新規チオレドキシン様タンパク質の同定)
論文調査委員	(主 査) 教 授 鍋 島 陽 一 教 授 武 藤 誠 教 授 野 田 亮

論 文 内 容 の 要 旨

刺激に応じて発現の変化する遺伝子の探索は、様々な細胞応答において重要な役割を果たす分子を同定する上で有効な手段の1つである。レトロウイルスベクターを用いた発現遺伝子解析法(条件的ジーントラップ法)を用いて、TGF- β により発現が誘導される遺伝子群の探索を行い、ヒト肺ガン由来細胞株 A549 において TGF- β 依存的に発現の上昇する22個の遺伝子が得られた。その中の1つである TMX 遺伝子は、チオレドキシンファミリーに特徴的な機能ドメインをもつ280アミノ酸からなる新規タンパク質をコードしており、その mRNA は正常ヒト臓器において広く発現している事が分かった。TMX は N 末端にシグナルペプチドと予想される配列を有し、C 末端側に膜貫通ドメイン様の疎水性領域を含む。チオレドキシンファミリータンパク質は、Cys-X-X-Cys という保存された活性部位配列を1個もつが、TMX は哺乳類で知られている他のチオレドキシンファミリータンパク質との相同性は低く、Cys-Pro-Ala-Cys という独特の配列を持っている。線虫およびショウジョウバエにも構造的に類似した分子が存在し、これらは TMX と同一の活性部位配列(CPAC)をもつ事から、TMX は進化上強く保存された新規のチオレドキシンサブファミリーを形成すると考えられる。TMX の C 末端にエピトープタグを付加したタンパク質を細胞内で発現させ、細胞分画および免疫蛍光染色を行ったところ、TMX は小胞体に局在する事が示唆された。大腸菌で発現させた TMX 組換えタンパク質は、インスリンのジスルフィド結合の開裂を指標とした reducing assay において還元活性を示した。一方、活性部位と予想される CPAC 配列中2つのシステインをセリンに置換した変異体(TM/CS)では、還元活性が失われていた。TMX タンパク質は小胞体に局在する事が示唆されたことから、小胞体の機能を阻害する様々な刺激(小胞体ストレス)に対する TMX の影響を調べた。その結果、TMX を過剰発現させた細胞では、プレフェルジン A (BFA) によって誘導される細胞死(アポトーシス)が抑制される事が見出された。BFA は小胞体からゴルジ体へのタンパク質輸送を阻害することによって小胞体ストレスを引き起こす事が知られている薬剤である。一方、TMX/CS 変異体を発現させた細胞では、アポトーシスの抑制効果はみられなかった。これらの結果から、TMX は小胞体膜に局在するチオレドキシン様分子であり、その特徴的な活性ドメインを介して BFA によって引き起こされるような小胞体ストレスを緩和する機能をもつ事が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

レトロウイルス・ベクターを用いた遺伝子トラップ法により、TGF- β 応答遺伝子の一つとして、未同定タンパク質をコードする遺伝子 TMX を見出した。TMX は、シグナルペプチドおよび膜貫通ドメインを持つユニークなチオレドキシン様タンパク質をコードしており、ヒト正常臓器において広く発現している。また、線虫、ショウジョウバエにも類似遺伝子が存在する。TMX タンパク質は、CPAC という変則的な活性中心配列を有するが、試験管内においてチオレドキシン同様のインスリン還元活性を示し、活性中心内の2個のシステインをセリンに置換すると、この活性は失われた。細胞分画および免疫蛍光染色により、TMX タンパク質が小胞体に局在する事が示唆された。また、TMX 遺伝子の高発現が、小胞輸送阻

害剤ブレフェルジン A による細胞アポトーシスを抑制する効果を持つ事が見出された。これらの結果より、TMX は小胞体膜に局在するチオレドキシン様分子であり、その特徴的な活性中心を介して、ある種の小胞体ストレスを緩和する機能を持つ事が示唆された。

以上の研究は、細胞内レドックス制御機構の解明に貢献し、分子細胞生物学に寄与する所が多い。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13年2月7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。