

氏 名	小 田 ゆ か こ
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 3061 号
学位授与の日付	平成 18 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	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	哺乳動物細胞における小胞体関連分解 (ERAD) の機構に関する研究：異常タンパク質の認識から逆行輸送まで

論文調査委員	(主 査) 教 授 永 田 和 宏	教 授 藤 吉 好 則	教 授 阿 形 清 和
--------	----------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

小胞体は多くの分泌タンパク質や膜タンパク質の合成の場であり、品質管理機構を最もよく発達させている細胞小器官である。小胞体に存在する分子シャペロンは、新生ポリペプチド鎖のフォールディングを促進する。シャペロンの介助によって正しい高次構造を獲得したタンパク質のみが分泌される一方で、種々のストレスや遺伝的変異などでフォールディングできないタンパク質は、小胞体から漏れ出ないように管理される。どうしても正しい高次構造を獲得できないタンパク質は、小胞体関連分解 (ER-associated degradation, ERAD) によって分解される。

多くの分泌タンパク質、膜タンパク質は小胞体で N 型糖鎖が付加される。N 型糖鎖は糖タンパク質の品質管理に重要であり、レクチン様シャペロンである calnexin はモノグルコースを認識して正しい高次構造の獲得を促進する。一方で、糖タンパク質の ERAD には N 型糖鎖のトリミング状態が重要であり、異常タンパク質の N 型糖鎖はマンノース 8 個にトリミングされると分解される。永田研究室の細川らは、この分解シグナルを認識するレクチン様タンパク質と考えられる分子、EDEM をクローニングした。

本研究の第一章において、calnexin と EDEM が相互作用し、calnexin と EDEM が協調して ERAD に関与することが示唆された。分解される異常タンパク質として $\alpha 1$ -antitrypsin の変異体 NHK を用いて実験を行った。異常タンパク質は calnexin により小胞体内に留められるが、EDEM を過剰発現すると calnexin からの解離が促進し、EDEM に結合するようになることから、EDEM-calnexin 複合体が異常タンパク質の受け渡しを担っていると考えられた。以上より、これまで ERAD における機能が不明であった calnexin の ERAD における機能、また EDEM の詳細な作用機序が明らかとなった。

異常タンパク質が小胞体内腔に蓄積した際、Unfolded Protein Response (UPR) と呼ばれる細胞応答が起こる。UPR によって分子シャペロンや ERAD 因子が誘導され、小胞体環境は改善される。第二章において、UPR によって誘導される遺伝子として新しく見出された Derlin-2 および Derlin-3 が、ERAD に関与することを示す結果を得た。そしてそれらは EDEM の下流の因子として機能することが示された。近年小胞体から細胞質の逆行輸送において、p97 という AAA+ ATPase が関与することが報告された。またごく最近、Derlin-1 という分子が p97 を小胞体膜にリクルートする分子として報告された。ヒト Derlin は 3 つ存在し、Derlin-1 と Derlin-2, 3 のサブファミリーに分かれることがこれまで示されていたが、第二章によってサブファミリー間の機能の相違点が明らかにされた。つまり、Derlin-2 と Derlin-3 が特異的に EDEM と結合し、異常タンパク質を細胞質へとリクルートする分子であると考えられた。

以上より、calnexin, EDEM, Derlin という一連の分子の機能的な位置づけを明らかにすることで、folding が試みられている状態の異常タンパク質が分解へ導かれ、逆行輸送されるまでの過程に関して、ERAD の分子基盤の理解が得られた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、哺乳動物細胞における品質管理機構 ERAD (小胞体関連分解) における、異常タンパク質の認識から逆行輸

送に至るまでのプロセスに関して、calnexin, EDEM, Derlin という一連の分子を中心に分子レベルで細胞内における機能解析を行ったものである。

第一章では、ERAD におけるキーファクター、異常タンパク質を認識し分解へ導くレクチンと考えられていた EDEM 分子の機能を明らかにするため、相互作用する分子として calnexin に着目し、両者の ERAD における機能を解析した。小胞体膜に存在するレクチン様シャペロン calnexin は、これまで ERAD に関与することが示唆されていたものの、その作用機序は全く不明であった。第一章の研究により、calnexin は EDEM と相互作用することが見出された。 $\alpha 1$ -antitrypsin の変異体 (NHK) を ERAD 基質として用いて解析を行ったところ、NHK は calnexin によって小胞体に留められ、calnexin と EDEM の複合体を介して EDEM に受け渡されることが示された。この複合体により異常タンパク質が効率的な分解を受けることが示唆され、細胞内の環境改善に貢献していると考えられる。これにより、異常タンパク質のフォールディングから分解に導かれるプロセスに関する分子基盤の理解が得られ、小胞体関連分解機構の大きなブレイクスルーとなった。

第二章においては、第一章の下流のプロセス、分解される異常タンパク質が小胞体から細胞質に逆行輸送されるまでの経路に関して、Derlin という新しく見出された遺伝子を中心に機能解析を行った。小胞体から細胞質の引っぱり出し (逆行輸送) には p97 という AAA+ATPase が関与していることが知られているが、EDEM によって認識された基質がどのように逆行輸送されるのか、ミッシングリンクであった。第二章では Derlin は p97 と結合し、異常タンパク質の逆行輸送に機能していることが示唆された。また、Derlin-2, Derlin-3 は EDEM とそれぞれ結合し、それらが EDEM の下流で機能していることが示された。よって、Derlin-2, 3 は異常タンパク質の認識 (EDEM) と逆行輸送 (p97) をつなぐ分子であることが示された。以上よりこれまで不明であった、分解基質の認識と逆行輸送に至るプロセスにおいてそのメカニズムが明らかになった。

本申請論文により、異常タンパク質の小胞体関連分解経路において、これまで不明であったフォールディングから分解基質の認識、そして逆行輸送に至るまでのプロセスに関して分子レベルでその機構の理解が得られ、この分野に大きく貢献した。本研究において異常タンパク質の基質として用いた変異型 $\alpha 1$ -antitrypsin は肺気腫や肝硬変の原因となることが知られており、病態における重要性も大きい。よって、本研究は博士 (理学) の学位論文として価値のあるものと認められる。また、申請論文に報告されている研究業績を中心とし、これに関与する分野について試問を行った結果、合格と認めた。