

審査の結果の要旨

氏名 前田 深春

分泌性タンパク質は、小胞体内で翻訳された後、ゴルジ体を経由して細胞外へ輸送される。小胞体からゴルジ体へのタンパク質輸送は、COPII 小胞と呼ばれる被覆小胞が担っており、COPII 小胞は小胞体上の ER exit site において形成される。ER exit site は COPII 小胞の形成に関与する因子 (Sec 因子群) が集積した小胞体上の特殊な領域である。また、ER exit site は細胞周期や外界刺激に応じてその形態を変化させることで、分泌を調節することが明らかになっている。しかし ER exit site の形成メカニズムやその制御機構は長らく不明だった。

1. TANGO1 は Sec16 と協調的に ER exit site の形成起点として機能する

ER exit site に局在する因子である TANGO1 (Transport and Golgi Organization 1) には、2つのアイソフォーム (TANGO1S および TANGO1L) が存在する。TANGO1L はコラーゲンの分泌に特異的に関与すると考えられていたが、TANGO1L と TANGO1S を同時に発現抑制することで、ER exit site の崩壊と小胞体からのタンパク質分泌全般の遅延を認めた。また TANGO1 の両方のアイソフォームは、ER exit site の足場タンパク質である Sec16 と結合し、TANGO1 との結合依存的に Sec16 が小胞体膜上にリクルートされることが明らかになった。さらに、COPII 小胞被覆因子や ER exit site の膜タンパク質複合体の局在も TANGO1 と Sec16 によって制御されることが明らかになった。以上の結果は、TANGO1 と Sec16 が ER exit site の形成起点として協調的に機能することを示唆している。

2. COPII 因子は ER exit site 内でサブドメインを形成して機能する

5 章では、超解像顕微鏡 SCLIM (super-resolution confocal live imaging microscopy) を用いて ER exit site に局在する内在性因子の詳細な位置関係を解析している。その結果、ER exit site 内は一様ではなく、TANGO1 と Sec16 を含む膜タンパク質複合体をコアとして、これまでに報告されている因子間相互作用を反映しながら各構成因子が偏在してサブドメインを形成していることが明らかになった。

3. 細胞周期依存的な ER exit site の崩壊・再形成は TANGO1 のリン酸化により制御される

6章では細胞分裂期特異的な ER exit site の崩壊メカニズムに着目している。細胞分裂期の分泌停止に伴って、ER exit site の構成因子が一時的に解離することは以前から報告されている。しかし、その分子メカニズムは未解明だった。本論文では、CK1 δ (Casein Kinase 1 δ) を過剰発現することで、ER exit site が崩壊することを見出し、さらに TANGO1 の特定の領域が CK1 δ によってリン酸化されることを明らかにした。また、リン酸化 TANGO1 は Sec16 との結合親和性が低下し、ER exit site 崩壊と小胞体からの分泌遅延を惹起することを見出した。

実際に、TANGO1 のリン酸化量を定量したところ、細胞分裂期における TANGO1 のリン酸化は間期に比較して亢進していた。また非リン酸化模倣変異体を発現する細胞では、分裂期における ER exit site の崩壊が抑制された。

さらに、本論文では TANGO1 が PP1 (Protein phosphatase 1) によって脱リン酸化されることを明らかにしている。PP1 は、細胞分裂期において CyclinB1/Cdk1 複合体によってリン酸化されることで、ホスファターゼとしての活性が低下する。したがって、CK1 と PP1 によって細胞周期依存的に TANGO1 のリン酸化状態が制御されることで、分裂期特異的な ER exit site の崩壊が生じる可能性が強く示唆された。

本論文は、TANGO1 がコラーゲンの積荷受容体としてだけでなく、ER exit site の形成起点としても機能することで、小胞体からの分泌全般に関与することを明らかにしている。さらに細胞周期依存的な ER exit site の崩壊と再形成が TANGO1 のリン酸化修飾によって制御されていることを見出した。ER exit site は近年、分泌の調節点としての機能が報告されており、その異常は神経変性疾患や癌、遺伝性疾患を含む多くの疾病との関連が示唆されている。したがって、本研究はこれらの病態の理解と新規治療法の開発に貢献すると考える。

また、本論文は分泌と細胞周期とのクロストークに着目している。細胞分裂期には小胞体やゴルジ体などのオルガネラがダイナミックに形態を変化させるため、膜輸送が一時的に停止する。本研究は、細胞分裂期における ER exit site の崩壊に TANGO1 のリン酸化修飾が必要であることを明らかにし、細胞周期依存的な分泌制御に TANGO1 が関与することを見出した。本研究の今後の発展は、細胞生物学のみならず、新たな抗腫瘍薬の開発にも寄与すると考えられる。

以上より、本論文は博士（薬科学）の学位請求論文として合格と認められる。