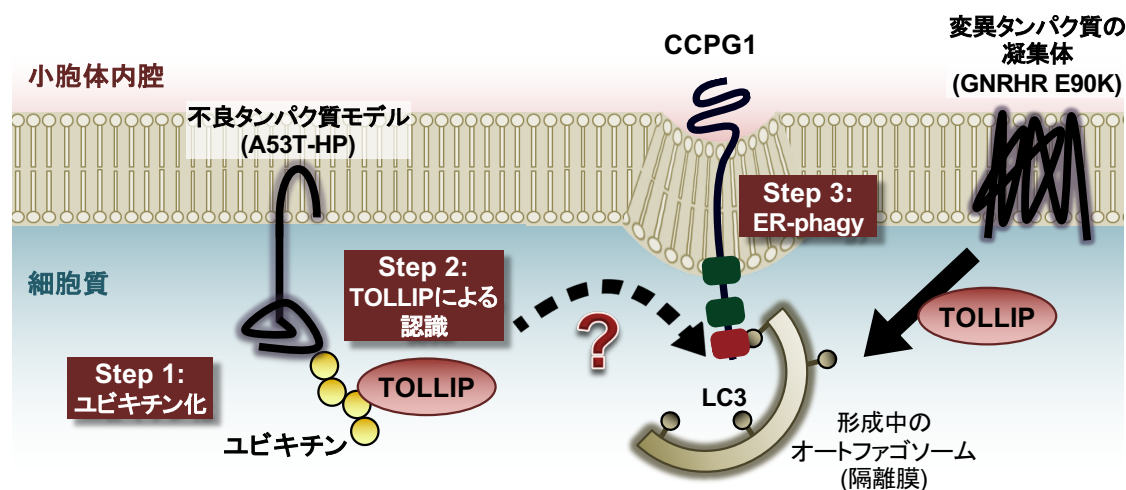


# 博士論文（要約）

小胞体における不良膜タンパク質の  
選択的オートファジー分解機構の解析

林 裕輝

本研究成果の概念図（本文 89 頁の”図 25 小胞体における不良膜タンパク質のオートファジー分解機構のモデル図”から一部改変して抜粋）



要約（本文 2、3 頁の”要約”の項目から全文抜粋）

小胞体は膜タンパク質の合成の場で、新たに翻訳された膜タンパク質の前駆体はまず、小胞体においてフォールディングを受ける。正常な立体構造を獲得したタンパク質は小胞体から搬出されて様々なオルガネラで機能する一方、フォールディングに失敗したものは不良膜タンパク質として小胞体に蓄積する。ユビキチン-プロテアソーム系依存的な Endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD)は小胞体における不良膜タンパク質の重要な分解経路であり、その詳細は解明されつつある。近年では ERAD に加え、オートファジーも小胞体においていくつかの不良膜タンパク質の分解を担うことが報告されている。しかし、その分子メカニズムはほぼ未解明である。

そこで本研究においては、小胞体の不良膜タンパク質がオートファジー分解へとターゲットングされる詳細な分子メカニズムを解明することを目的とした。まず、解析を容易に進めるため、シンプルな構造を持つ artificial な小胞体膜局在モデルオートファジー基質の作成を試みた。その結果、細胞質オートファジー基質である  $\alpha$ -synuclein のパーキンソン病関連 A53T 変異体を、小胞体膜タンパク質 Extended synaptotagmin 1 (E-Syt1)由来の hairpin 領域を用いて小胞体膜に繫留することで、細胞質側にフォールディング不全を持つモデル基質 A53T-HP の作成に成功した。A53T-HP は native な小胞体膜タンパク質 E-Syt1 と比べて速やかに、かつ基質ユビキチン化を介して不良膜タンパクとして選択的にリソソーム分解された。また、A53T-HP のリソソーム分解にはオートファジーレセプター Toll-interacting protein (TOLLIP)が必要で、か

つ TOLLIP は基質のユビキチン鎖を認識する **coupling of ubiquitin to endoplasmic reticulum degradation (CUE)** ドメイン依存的に **A53T-HP** のリソソーム分解を促進した。以上の結果より、小胞体において不良膜タンパク質がユビキチン化され、TOLLIP によりオートファジーへとターゲティングされるという新たなタンパク質品質管理機構の存在が示唆された。さらに **A53T-HP** の分解には、小胞体の断片がオートファジー分解される **ER-phagy** 機構に関わる **ER-phagy レセプター cell-cycle progression gene 1 (CCPG1)** が必要であった。現在のところ TOLLIP によるユビキチン化不良膜タンパク質の選別と **CCPG1** 依存的な **ER-phagy** との関連性は未解明であり、本論文ではこの点に関する仮説を詳細に議論する。

重要なこととして、TOLLIP は **artificial** な基質 **A53T-HP** のみならず、低ゴナドトロピン性性腺機能低下症においてみられる **gonadotropin-releasing hormone receptor (GNRHR) E90K** 変異体の小胞体膜上凝集体のリソソーム分解を促進した。小胞体膜上での変異膜タンパク質の凝集は様々な疾患の原因となりうることが報告されているため、TOLLIP 依存的なリソソーム分解の促進は疾患の新たな治療戦略となりうると思われる。

以上の通り、本研究では小胞体において不良膜タンパク質がユビキチン化や TOLLIP、**CCPG1** を介して分解されるという新たなタンパク質品質管理機構の一端を明らかにした。特にユビキチン認識因子 TOLLIP は、**A53T-HP** と **GNRHR** 変異体という複数の機能的に無関係の基質のリソソーム分解を促進できることから、小胞体膜の細胞質側にフォールディング不全を持つ様々な不良膜タンパク質を認識してリソソーム分解へターゲティングする品質管理経路を形成していると考えられる。そこで、本論文ではこのユビキチン化および TOLLIP を介した分解経路を **ERLAD-C (ER-to-lysosome-associated degradation-cytosolic)** と定義し、その生理的意義を議論する。