

[課程－2]

審査の結果の要旨

氏名 イン ウィラ ワン ヨウ  
Yim Willa Wen You

本研究は、損傷リソソームの修復におけるアネキシン(annexins; ANXs)の役割を解明することを目的としている。培養細胞を用いた実験系において、以下の結果を得ている。

1. リソソーム膜を損傷する薬剤 LLOMe (L-Leucyl-L-Leucine methyl ester) で U2OS (U2-osteosarcoma) 細胞を処理すると、普遍的な発現パターンを示す ANXA1、A2、A4、A5、A6、A7、と A11 のリソソーム局在が誘導され、アネキシンが損傷リソソームにリクルートされる可能性が示された。

2. リソソーム内のプロテアーゼで切断されると蛍光を発する化学物質 Magic Red を用いて、アネキシンの損傷リソソームの修復における重要性を調べた。コントロール細胞と ANXA4、A5、A6、A7、A11 をノックダウンさせた細胞では短時間の LLOMe 処理により生じた損傷リソソームが修復され、それに伴う Magic Red の蛍光回復が観察した。しかし、ANXA1 および ANXA2 をノックダウンさせた細胞では Magic Red の蛍光回復が抑制された。これにより、アネキシンファミリーのうち、ANXA1 と ANXA2 がリソソーム修復に重要である可能性が示された。

3. ANXA7 は、膜を変形し修復させる ESCRT (endosomal sorting complexes required for transport) 機構を損傷細胞膜にリクルートすることが知られている。さらに、ESCRT が損傷リソソームの修復に重要であることも報告されている。ANXA1、ANXA2、及び ANXA1 と ANXA2 を共にノックダウンさせた細胞では、ESCRT の損傷リソソームへの局在は正常であった。さらに、ANXA1 と ANXA2 のリソソームへの局在は ESCRT のリソソームへの局在よりも少なかった。これらのことから ANXA1 と ANXA2 は互いに依存せず、ESCRT とは異なる機構でリソソームに局在することが示唆された。

4. 10 kDa dextran が漏出する損傷リソソームに ANXA1 と ANXA2 が局在した。このことから ANXA1 と ANXA2 はより重い損傷を受けたリソソーム膜に選択的に局在することが示唆された。

5. より重い損傷を受けたリソソームの修復における ANXA1 と ANXA2 の重要性を明ら

かにするために、短時間の LLOMe 処理によるリソソームからの 10 kDa dextran の漏出速度を調べた。ANXA1 や ANXA2 をノックダウンさせた細胞のデキストランの漏出速度は、ALIX と TSG101（ESCRT 機構の活性化に不可欠な 2 つの初期活性化タンパク質）をノックダウンさせた細胞からの漏出速度より大きかった。このことから ANXA1 と ANXA2 は大きなリソソーム膜孔の修復に重要であることが示唆された。

以上、本論文では、これまで未解明であった損傷リソソーム修復機構として、大きなリソソーム膜孔に対する ANXA1 と ANXA2 を介する新たなメカニズムを明らかにした。本研究は、老化や癌、神経変性などの疾患と密接に関連するリソソームの生物学の理解に重要であるだけでなく、分子細胞生物学の学術的発見に多大な貢献をもたらすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。

よって本論文は博士（ 医 学 ）の学位請求論文として合格と認められる。