

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 菅原 太一

真核生物の細胞内には脂質膜によって区画化された様々な細胞小器官（オルガネラ）が存在する。オルガネラ間では、小胞輸送を介してタンパク質・脂質が盛んに交換されている。小胞体（ER）は、膜貫通タンパク質や分泌性タンパク質の生合成やその品質管理に関わるオルガネラであり、生合成されたタンパク質に糖鎖修飾などの様々な修飾を施すゴルジ体と ER の間でも盛んに小胞輸送を介したタンパク質交換が行われている。ER とゴルジ体間の初期小胞輸送経路上には、小胞体-ゴルジ体中間区画（ERGIC）というオルガネラが存在する。高等真核細胞の ERGIC は、核近傍に一つのコンパートメントとして存在するものと細胞質中に点在しているものの二種類に区分され、ER あるいはゴルジ体へ輸送すべきタンパク質の選別場所としてその機能が注目されてきた。

本研究では、インスリン分泌を担うマウス膵β細胞由来の MIN6 細胞において、形態的・機能的に既知の ERGIC と差別化できる新規の ERGIC（直径が 2~4 μm と既知の細胞質中に点在する ERGIC に比べて大型である。以下、LUB-ERGIC とする）が存在することを形態観測により発見した。同時に、小胞体関連分解（ERAD）に寄与する機能性タンパク質群やユビキチン化された不溶性プロインスリン（Ub-プロインスリン）の凝集体が、その LUB-ERGIC に濃縮していることを形態学的に発見し、生化学的にそれを確認した。ERAD は ER 内腔に蓄積した、構造異常のミスフォールディングタンパク質を細胞質に引き抜きながらユビキチン化修飾し、プロテアソーム依存的に分解するシステムであり、ミスフォールディングタンパク質蓄積によって生じる ER ストレスを緩和することが知られている。以上より、インスリン過剰生産傾向にある MIN6 細胞の LUB-ERGIC は、過剰産生でミスフォールディングされたプロインスリンによる ER ストレスを LUB-ERGIC の ERAD 機構を介して緩和している可能性があるのではないかと推定し、その制御機構を詳細に調べた。

Rab2A は COPI コートタンパク質のサブユニットの一つであるβ-COP を ERGIC 膜表面にリクルートし、ERGIC からの COPI 小胞形成を促進すること

が知られている。そこで、Rab2A は LUb-ERGIC にも局在が認められることから、Rab2A の活性低下が LUb-ERGIC での ERAD 活性化に関わる可能性を検討した。まず、RNA 干渉法によって MIN6 細胞内の Rab2A 発現量を減少させると、ERAD 関連タンパク質群や不溶性 Ub-プロインスリン凝集体が LUb-ERGIC に蓄積すること、さらに、ER ストレス依存的な細胞死が抑制されることが判った。一方、Rab2A の発現抑制は、グルコース依存的なインスリン分泌を有意に阻害した。次に、この Rab2A の活性制御機構について調べ、その制御因子の一つとして、GAPDH（解糖系酵素）のポリ ADP-リボシル化（タンパク質翻訳後修飾の一種）があることを発見した。GAPDH のポリ ADP-リボシル化は、MIN6 細胞を高グルコース環境下で長時間培養することで引き起こされ、それにより Rab2A と GAPDH の LUb-ERGIC 膜上での相互作用が弱まることで Rab2A の活性が低下する。

本研究は、MIN6 細胞で特殊な形態に発達した LUb-ERGIC という新規オルガネラとその膜上に局在する Rab2A が、高グルコース処理時間依存的にプロインスリンの「分泌」か「分解」かの運命決定を担うという興味深いオルガネラ機能の分子機構を提唱している。つまり、短時間の高グルコース処理では Rab2A はプロインスリンの ERGIC からゴルジ体への輸送を活性化させ、インスリン分泌を活性化（「分泌」シグナル）する。一方、恒常的な高グルコース刺激（例えば、糖尿病態での膵β細胞）では、Rab2A は GAPDH のポリ ADP-リボシル化を介してその活性を低下させることで、LUb-ERGIC からの小胞輸送を阻害して、結果的に ERAD 関連タンパク質を LUb-ERGIC に集積させて、ミスフォールディングしたプロインスリンを ERAD 分解系（「分解」シグナル）に導く。これは、細胞の代謝が小胞輸送とカップルして、細胞の機能（分泌や輸送）や生存（ストレス応答）制御を行っていることを示した初めての例でもある。

代表的な生活習慣病の一つである二型糖尿病では高血糖を呈しており、それが原因で膵β細胞からのインスリン分泌不全や ER ストレス依存的な膵β細胞死が誘導されることが知られている。そのため、Rab2A が二型糖尿病の症状（インスリン分泌不全および易膵β細胞死）を改善する良好な標的分子になりうることも本研究の結果は示唆している。

以上、本研究の明らかにしたところは極めて重要であり、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。