

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 ( 薬学 )	氏名	森岡 真
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 イノシトールリン脂質 4 位脱リン酸化酵素 TMEM55A は食胞に局在することでマクロファージの食食を抑制的に制御する			
論文審査担当者			
主 査	教授	森岡 徳光	印
審査委員	教授	古武 弥一郎	
審査委員	准教授	高橋 陵宇	
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>イノシトールリン脂質 (PIPs) は親水基としてイノシトール環を有するグリセロリン脂質である。このイノシトールの 3 位、4 位、5 位が可逆的にリン酸化修飾されることで、PIPs には 8 種類が存在する。このリン酸化状態は 19 種類のリン酸化酵素 (kinase) と 29 種類の脱リン酸化酵素 (phosphatase) によって相互に変換される。PIPs は存在量的にはリン脂質全体の 10% に満たず、その代謝回転は速い。そのため、細胞膜の構築材料として以外の機能を持つことが古くから指摘されていた。PIPs はそれぞれに特異的な標的タンパク質と結合し、その活性や細胞内局在を制御することでシグナル伝達をはじめ、様々な細胞機能を制御している。マクロファージはその機能の制御において PIPs の果たす役割が大きいことから、PIPs 代謝酵素の機能を検討する上で非常に有用である。例えば食食過程において、食食のメカニズムは関与する受容体や標的とする粒子のサイズに依存して変化するものの、PIPs を通じた制御を受けるという点については共通している。標的を最初に捕捉するために必須となる F-actin の重合は PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> によって促進される。続く phagocytic cup が閉環する段階では、クラス I の PI3K による PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> のリン酸化で一過性に食胞に蓄積する PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> が大きな粒子を取り込む際に必須となる。PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> は phagocytic cup に RhoGAP をリクルートすることで Rho ファミリー GTPase の不活性化とアクチン重合の終結を引き起こすと報告されている。このような F-actin の協調的な重合・脱重合が巨大な phagocytic cup の閉鎖には必要である。森岡は PIPs 代謝酵素の中でも特に機能解析が進んでいない TMEM55A に着目し、マクロファージ系細胞株 RAW264.7 細胞を用いてマクロファージ食食過程の制御における役割を解明した。TMEM55A は PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> の 4 位脱リン酸化酵素として同定された。一方で、その生理機能については大部分が過剰発現実験による推測であり、細胞内での役割については不明瞭な部分が多かった。本研究によって初めて TMEM55A が細胞内で PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> の 4 位脱リン酸化酵素として働き、細胞機能に影響を与えていることが示された。以下に本研究の実験結果を示す。</p> <p>TMEM55A を発現抑制した RAW264.7 細胞 (shTMEM55A 細胞) では Control 細胞と比較して大きな粒子 (&gt;4 μm) 食食量の増加が確認された。また、TMEM55A の過剰発現によって、TMEM55A の基質である PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> が豊富な細胞膜・食胞膜に TMEM55A が局在することを示した。LC-MS/MS システムによって、shTMEM55A 細胞では IgG による Fcγ受容体刺激時に PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> が Control 細胞と比較して増加していることを明らかにした。これらの結果は、TMEM55A が食胞膜で PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> を脱リン酸化していることを強く示唆している。これに加えて蛍光タンパク質融合 PIPs プローブを用いて食胞膜における PIPs 動態の可視化を行った。その結果、shTMEM55A 細胞の食胞膜では Control 細胞と比較して PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> と PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> の蓄積が増加し、PtdIns(5)P が減少していることが示された。特に PtdIns(5)P プローブによる検出系は本研究で初めて開発されたものであった。F-actin の挙動についても shTMEM55A 細胞では Control 細胞より速やかに多く F-actin が蓄積し、Control 細胞より速く脱重合されることを認めた。これらの結果から、TMEM55A が食胞膜に局在して PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> を脱リン酸化すること、それを通じて食食を促進する PIPs レベルを低下させることで F-actin の重合・脱重合のサイ</p>			

クルを抑制し、食食全体を抑制的に制御していることが判明した。

以上の結果より、本論分は **TMEM55A** の **PIPs** 代謝酵素としての生理機能を初めて解明したものと評価できる。

よって審査委員会委員全員は本論分が著者に博士（薬学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。