

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理学)	氏名	亀村 興輔
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 筋萎縮性側索硬化症関連タンパク質 VAP の生理機能と分泌機構解析 (Investigating physiological functions and secretion mechanism of ALS-related protein VAP)			
論文審査担当者			
主 査	教 授	千原 崇裕	
審査委員	教 授	佐藤 明子	
審査委員	准教授	船戸 耕一	
審査委員	准教授	奥村 美紗子	
〔論文審査の要旨〕			
<p>細胞内オルガネラは脂質の供給源である小胞体に「接触」する必要がある。この際、細胞内オルガネラの「繋ぎ止め分子」として機能するのが VAP と呼ばれる小胞体膜タンパク質である。VAP は進化的に保存されており、膜貫通ドメインによって小胞体膜にアンカーされ、N 末の MSP ドメインが細胞質側を向くと考えられている。ヒト VAP の 1 つ VAPB/ALS8 における点突然変異は筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を引き起こす。そして近年、VAPB の MSP ドメインが切断・分泌され、他の細胞の様々な膜受容体に結合することが明らかになってきた。興味深いことに、VAPB に変異の入っていない孤発性 ALS 患者においても、脊髄の VAPB mRNA 量が減少し、脳脊髄液中の MSP 切断断片が減少しているという報告がある。上記研究背景を踏まえ本論文では、VAPB の生理機能と分泌メカニズムの解明を目的としている。</p> <p>著者は、VAPB の生理機能や分泌メカニズムを解析するためにショウジョウバエをモデル生物として採用している。VAPB のショウジョウバエオルソログである <i>vap33</i> の機能欠失変異体を用いた遺伝学的モザイク解析を行った結果、Vap33 は神経の形態維持とオルガネラの細胞内局在に必要であること、ALS 疾患変異はシナプスタンパク質の局在や小胞体品質管理機構に異常を誘発することを見出している。</p> <p>次に Vap33 の細胞外機能を解明するために、Vap33 の細胞内機能は維持されつつも細胞外機能のみが阻害された変異体「非分泌型 <i>vap33</i> 変異体」を作製した。著者は、この変異体の表現型を解析することで、分泌された MSP ドメインが個体生存に必須であることを示している。</p> <p>次に Vap33 MSP ドメインの分泌に関与する遺伝子を探索するために遺伝学的スクリーニングを行い、Vap33 MSP ドメインは典型的分泌経路を介して細胞外に分泌されることを示している。さらに、Split-GFP システム、生化学的手法、フローサイトメトリ解析、免疫電子顕微鏡解析などを駆使することで、小胞体上の Vap33 は II 型膜タンパク質タイプのトポロジーをもち、それが形質膜へ輸送された後に、MSP ドメインを細胞外に露出させるようにトポロジー変化させることを発見している。最後に、トポロジーを逆転させた Vap33 を切断する酵素として MMP1/2 の同定にも成功している。今後、MMP1 発現量や細胞膜上 VAPB のトポロジー状態を調節することで MSP ドメイン分泌量の制御が可能となり、これが ALS の新しい治療戦略につながる事が期待できる。</p> <p>以上、審査の結果、本論文は統合生命科学研究科学位論文評価基準を満たし、著者は博士 (理学) の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。</p>			