

(様式4)

学位論文の内容の要旨

三枝 慶子 印

(学位論文のタイトル)

Functional analysis of SFT-4/Surf4 family proteins in the biogenesis and secretion of lipoproteins

(リポタンパク質の生合成・分泌における SFT-4/Surf4 ファミリータンパク質の機能解析)

(学位論文の要旨)

アポリポタンパク質 B (アポB) は超低密度リポタンパク質 (VLDL) やカイロミクロン (CM) といったリポタンパク質を構成する主要なコアタンパク質の一種である。リポタンパク質は体内脂質運搬において主要な役割を果たしており、例えば肝臓からの VLDL の過剰な分泌は血中 LDL 濃度を増加させ、動脈硬化症や高脂血症のリスクとなる。一方、VLDL の分泌障害は肝細胞内脂質量を増加させ、脂肪性肝炎等の炎症反応を引き起こす恐れがある。このようにリポタンパク質の分泌を適切に制御することは、生体内における脂質代謝において重要である。

アポ B は小胞体で翻訳と同時に脂質転移酵素によりコレステロールエステルや中性脂質を付加され、脂質を含む巨大な前駆リポタンパク質粒子となる。この前駆リポタンパク質粒子はその後 COPII 小胞に積み込まれ、ゴルジ体へ輸送されて成熟リポタンパク質となって分泌されると考えられている。アポ B の合成量は小胞体の脂質量により調節されると考えられているが、脂質会合から分泌に至るまでの詳細な分子基盤は明らかとなっていない。

そこで本研究では、線虫 *C. elegans* をモデルとして、リポタンパク質の分泌機構について解析を行った。*C. elegans* の VIT-2 は腸細胞で合成される卵黄タンパク質であり、ヒトのアポ B と同様に、コレステロールや中性脂質とリポタンパク質粒子を形成し、体腔へ分泌されることがわかっている。そこでこの VIT-2 に GFP を融合させた VIT-2::GFP の分泌を指標として、VIT-2 の分泌制御に関与する因子を探索した。その結果、SFT-4 (哺乳類 Surf4) という因子を阻害すると、VIT-2::GFP が腸細胞内に著しく蓄積することが判明した。SFT-4 はヒトを含む哺乳類まで高度に保存されており、C 末端領域に小胞体局在化シグナルを持つ膜タンパク質である。また SFT-4 の出芽酵母におけるホモログ Erv29p は積み荷受容体としての機能を持ち、性フェロモン等の分泌タンパク質の小胞体からの輸送を促進することが明らかとなっている。そこでこの SFT-4/Surf4 について、*C. elegans* およびヒト培養細胞を用いて詳細な解析を行った。

まず *C. elegans* において GFP::SFT-4 を *sft-4* プロモーター下で発現させ、発現組織および細胞内局在性について検討したところ、GFP::SFT-4 は腸細胞、筋組織および貯精嚢に強く発現し、腸細胞では主に小胞体に局在することが判明した。また COPII 小胞の被覆タンパク質である SEC-23 と GFP::SFT-4 が共局在したことから、SFT-4 は小胞体輸出处に局在し、COPII 小胞を介したタンパク質輸送に関与することが示唆された。次に VIT-2 の分泌に対する影響を解析した結果、SFT-4 を発現抑制すると VIT-2 が腸細胞内の小胞体内腔に集積することが判明した。さらに SFT-4 と VIT-2 は生体内において相互作用していることも明らかとなった。このことから、SFT-4 は VIT-2 の小胞体からの輸送を促進する働きを持つことが示唆された。

次に基質特異性を検討するため、VIT-2 以外の分泌タンパク質について、SFT-4 をノックダウンした個体における細胞内輸送への影響を解析したところ、リソソーム酵素である CPL-1 も VIT-2 と同様に小胞

体からの輸送が阻害されていることが判明した。その一方で、細胞膜へ輸送される膜タンパク質 PGP-1 および SYN-1 の細胞内輸送に対する影響は軽微であった。以上の結果から、SFT-4 は VIT-2 を含む可溶性分泌タンパク質の小胞体からの輸送を制御している可能性が示唆された。

続いて、ヒトにおけるSFT-4ホモログである Surf4 の機能を調べるため、ヒト肝癌由来細胞 HepG2 を用いて Surf4 をノックダウンし、アポ B の分泌について解析を行った。その結果、Surf4 の発現抑制によりアポ B が小胞体に蓄積し、細胞外への分泌量が有意に減少することが判明した。以上の結果から、Surf4 は哺乳類においてリポタンパク質の小胞体からの輸送を制御する因子であることが示された。

本研究により、積み荷受容体ホモログである SFT-4/Surf4 が、動物においてはリポタンパク質などの小胞体からの輸送を制御することが明らかとなった。SFT-4 をノックダウンした *C. elegans* の個体では腸細胞内にリポタンパク質顆粒と思われる構造体が多数蓄積しており、これらはヒトにおけるカイロミクロン蓄積症患者の腸細胞に見られる脂質構造とよく似ていることから、このような脂質蓄積症の病態解明の一助となる可能性がある。