

(様式6-C) C. 学位論文 (Thesis) で発表論文のない場合

三枝 慶子 氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題 目 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 (Thesis)

発表予定論文

SFT-4/Surf4, cargo receptor homologs, regulate ER exit of soluble proteins including lipoproteins (積み荷受容体ホモログである SFT-4/Surf4 はリポタンパク質を含む可溶性タンパク質の小胞体からの輸送を制御する)

Journal of Cell Biology (投稿後, 改訂中)

Keiko Saegusa, Miyuki Sato, Nobukatsu Morooka, Taichi Hara, and Ken Sato

論文の要旨及び判定理由

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、その分泌量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だが、アポ B が脂質会合を経て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。

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関与する新規因子を探索した。*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。そこで 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を見出した。SFT-4 はヒトを含む哺乳類まで高度に保存されているが、分泌経路における詳細な機能は未知である。そこで本研究では 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。

C. elegans において発現組織および細胞内局在性について検討した結果、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 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蓄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。以上から、SFT-4 は VIT-2 の小胞体からの輸送に必須であることが示唆された。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。その結果、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、ヒト肝癌由来細胞 HepG2 を用いてヒト Surf4 の機能を解析した結果、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減少することが判明した。さらに Surf4 とアポ B は細胞内で相互作用していることも明らかとなった。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、動物個体において機能が不明であった SFT-4/Surf4 が、リポタンパク質を含む可溶性タンパク質の小胞体からの輸送を制御していることが初めて明らかとなり、これまで未解明であったリポタンパク質の小胞体からの輸送メカニズムにおける新たな知見であると認められ、博士（医学）の学位に値するものと判定した。

（平成30年1月23日）

審査委員

主査	群馬大学教授（生体調節研究所） 代謝シグナル解析分野担任	北村 忠弘	印
副査	群馬大学教授（生体調節研究所） 分子糖代謝制御分野担任	藤谷 与士夫	印
副査	群馬大学教授（生体調節研究所） 代謝エピジェネティクス分野担任	稲垣 毅	印

参考論文

1. *Caenorhabditis elegans* chaperonin CCT/TRiC is required for actin and tubulin biogenesis and microvillus formation in intestinal epithelial cells.
Molecular Biology of the Cell 25; 3095-3104, 2014.
Saegusa K, Sato M, Sato K, Nakajima-Shimada J, Harada A, and Sato K
2. *Caenorhabditis elegans* SNAP-29 is required for organellar integrity of the endomembrane system and general exocytosis in intestinal epithelial cells.
Molecular Biology of the Cell 22; 2579-2587, 2011.
Sato M, Saegusa K, Sato K, Hara T, Harada A, and Sato K