

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	大学院医学研究科脳神経科学領域脳血管病態学教育研究分野 脳血管病態学講座 氏名 丁 江麗
<p>(論文題目)</p> <p>ER export signals mediate plasma membrane localization of transmembrane protein TMEM72 (膜貫通タンパク質 TMEM72 の細胞膜局在における小胞体輸送シグナルの役割)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p>【背景】 Transmembrane protein 72 (TMEM72)は、分子量 37 kDa の 4 回膜貫通型タンパク質であり、マウスやヒトでは腎臓の遠位尿細管特異的に発現するとされている。また、淡明細胞型腎細胞癌 (clear cell renal cell carcinoma: ccRCC) では、<i>TMEM72</i> 遺伝子の発現異常が報告されている。これらのことから、TMEM72 は腎臓における機能性分子であることが示唆されるが、その詳細は全く不明である。そこで本研究では TMEM72 の機能解明へ向け、TMEM72 の細胞内局在を検討した。</p> <p>【方法】 ヒト TMEM72 タンパク質の C 末端を認識する抗 TMEM72 抗体を作製した。次に、哺乳細胞発現ベクター-pcDNA3.1zeo(+)をバックボーンとした FLAG タグ融合野生型 TMEM72、および欠失体発現プラスミドを作製し、HeLa 細胞及び 293 細胞へ発現させた FLAG 融合 TMEM72 タンパク質、または変異体の挙動解析を行った。</p> <p>【結果】 ヒト正常腎臓組織の免疫組織化学的検討から、TMEM72 は腎遠位尿細管の頂端膜と側底膜共に発現を認めた。次に、TMEM72 の細胞内局在を詳細に検討する目的で、HeLa および 293 細胞に TMEM72 タンパク質、または変異体を過剰発現後、免疫蛍光染色を行った。その結果、野生型 TMEM72 の細胞膜上への発現が確認された。この際、膜貫通ドメインを欠失させると、TMEM72 は小胞体に留まり、その結果、小胞体ストレスと、それに続く UPR(unfolded protein response)が誘導されることが分かった。一方、C 末端または C 末端のアミノ酸配列 KRKKRKAPEVLAS の欠失は TMEM72 を小胞体へ停滞させる一方、小胞体ストレスと UPR を活性化しなかった。また、TMEM72 の C 末端を別の膜貫通タンパク質 TMEM115 の C 末端ドメインと融合させたキメラタンパク質は、小胞体 C 末端の欠失により停滞していたタンパク質の輸送を再開させた。さらに、KRKKRKAPEVLAS 配列は小胞体からのタンパク質輸送を担う COPII(coat protein complex II)小胞を介したタンパク質輸送に重要であることが明らかになった。</p> <p>【結論】 以上の結果から、ヒトにおける TMEM72 の細胞膜への発現を明らかにした。TMEM72 の膜貫通ドメインはタンパク質の正しい折りたたみに関与していると考えられる。また、C 末端のアミノ酸配列 KRKKRKAPEVLAS は小胞体輸送シグナルとしての役割を果たしており、小胞体から細胞膜への TMEM72 タンパク質の輸送効率を制御していると考えられた。</p>	