OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Modulation of Local PtdIns3P Levels by the PI Phosphatase MTMR3 Regulates Constitutive Autophagy
Author(s)	新, 奈緒子
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54118
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【51】

氏　　名	新（田口）奈緒子（あたらし　たぐち　なおこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　２３６２０　号
学位授与年月日	平成22年３月23日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学位論文名	Modulation of Local PtdIns3P Levels by the PI Phosphatase MTMR3 Regulates Constitutive Autophagy （イノシトールリン脂質脱リン酸化酵素MTMR3による局所的なホスファチジルイノシトール３リン酸の量の調節が恒常的なオートファジーを制御する）
論文審査委員	（主査） 教　授　吉森　　保 （副査） 教　授　岩井　一宏　　教　授　米田　悦啓

論文内容の要旨

〔　目　　的　〕

オートファジーとは真核生物に普遍的に存在する細胞内大規模分解システムで、主に飢餓時の栄養源確保や病原体排除等の生体防御メカニズムとして機能している。オートファジーは飢餓や感染等の非常時以外には無駄な自己成分分解を避けるため低いレベルに抑制されているが、オートファジーの誘導機構について多くの報告があるのに対し、抑制機構はほとんど解明が進んでいない。

ホスホイノシチド（PI）3キナーゼが産生するホスファチジルイノシトール３リン酸（PtdIns3P）はオートファジーを担う膜構造であるオートファゴソームの形成に必須なリン脂質である。今回、私たちはそれを分解するPI3ホスファターゼが抑制機構の実体である可能性を検討し、またオートファゴソーム形成とPtdIns3Pの関係を詳細に解析した。

〔　方法ならびに成績　〕

1．MTMR3のオートファジーへの関与

複数存在するPI3ホスファターゼの中でオートファジーとの関係が疑われるMTMR3について、まずホスファターゼ活性を失活させた優性阻害変異体（$MTMR3^{C413S}$）がオートファゴソームに局在することをオートファゴソームマーカーであるLC3を用いて示した。また、$MTMR3^{C413S}$過剰発現細胞ではオートファゴソームの数が増加した。MTMR3ノックダウン細胞でも同様にオートファゴソームの数が増加したことから、MTMR3がオートファゴソーム（もしくはその前駆体）に局在し、その形成を負に制御している可能性が示唆された。

$MTMR3^{C413S}$過剰発現細胞においてオートファジーによるタンパク質分解が亢進しており、MTMR3の機能を阻害するとオートファジーが促進されることが確認された。一方、MTMR3野性型を過剰発現させると正常なオートファゴソームより小さなオートファゴソームしか形成されず、オートファジーによるタンパク質分解が抑制されることもわかった。

以上の結果から、MTMR3は栄養豊富な通常条件下でオートファジーを負に制御していることが明らかとなった。これはオートファジーを積極的に抑制する機構の存在を明らかにした重要な発見である。

2．オートファジーとPtdIns3Pの関係

MTMR3がPI3ホスファターゼであることから$MTMR3^{C413S}$過剰発現時の細胞内でのPtdIns3Pの分布を調べた。その結果、$MTMR3^{C413S}$が点状に局在している場所にPtdIns3Pの蓄積が観察され、そこにLC3も共局在していることがわかった。さらに、PtdIns3Pに結合するオートファジー関連タンパク質WIPI-1α（通常は細胞質に拡散しいている）もそこに共局在することが明らかとなった。

以上の結果を総合すると、$MTMR3^{C413S}$が集積した場所では局所的なPtdIns3P量が増加し、このPtdIns3Pに結合するオートファジー関連因子がリクルートされ、オートファゴソーム形成が促進したと考えられる。つまり、局所的なPtdIns3P量がオートファジーを制御していることが強く示唆された。

〔　総　　括　〕

栄養豊富な条件下ではPtdIns3Pを生成するPI3キナーゼに対しPtdIns3Pを分解するPI3ホスファターゼの局所的な活性が上回り、PtdIns3P量が低いレベルに保たれオートファジーは最小限に抑制されているものと思われる。飢餓等によりオートファジー誘導シグナルが入るとこのバランスが逆転し、局所的なPtdIns3P量が上昇、PtdIns3Pに結合するオートファジー関連因子がリクルートされ、その結果オートファゴソームの形成が促進され、オートファジーが亢進するのであろう。MTMR3のノックダウンや$MTMR3^{C413S}$の過剰発現によるMTMR3のホスファターゼ活性の阻害は、誘導シグナル無しにそのようなカスケードを誘発する。これまでPtdIns3Pはオートファジーに必要であることは知られていたが、今回の結果はPtdIns3Pの局所的な濃度が直接オートファゴソームの形成に関わっていることを初めて示したものである。

論文審査の結果の要旨

細胞内分解系であるオートファジーは、飢餓時や感染時に誘導され生体防御に働く。オートファジーを担う膜構造であるオートファゴソーム（AP）の形成には、ホスファチジルイノシトール３リン酸(PtdIns3P)が必須である。本研究において申請者は、多くの報告があるPtdIns3P生成に比べほとんど研究が行われていないPtdIns3Pの分解に着目し、オートファジーにおけるその重要性を明らかにした。すなわちPtdIns3Pを分解するPI3フォスファターゼのひとつMTMR3が、APが形成される小胞体膜に局在し、そこにおける局所的なPtdIns3P量を調節することで平常時にAP形成を低いレベルに抑えていることを見出した。PtdIns3Pの局所的濃度制御がAP形成に直接関与していることを初めて示し、

オートファジーの分子メカニズムの解明に大きく貢献した本論文は、学位授与に値すると認める。