

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名: 細胞内ゴルジ体・小胞体の形態異常と病態症状

2. 研究代表者: 近藤 久雄 (三菱化学生命科学研究所 主任研究員)

3. 研究概要:

細胞内小器官である小胞体とゴルジ体は、蛋白質の産生・修飾・輸送に重要な働きをしており、それぞれ網状構造と扁平膜積層構造という特徴的な形態を示す。これらの特異的な形態とその機能は、ショウジョウバエから哺乳類まで種を越えて良く保存されている。このことは即ち、その機能がその形態と密接に関連していることを、強く示唆している。本研究では、小胞体・ゴルジ体の形成機構を解明することを目的とし、最終的にそれらの特殊な形態が機能と如何に関連しているかを明らかにすることを目指した。

一方で、それらの形態異常は、種々の神経変性疾患を初めとして、脳梗塞・心筋梗塞など、様々な疾患で報告されている。それら形態異常は疾患進行の初期より見られることが多く、その病態形成に大きな影響を及ぼしていると考えられてきた。ただ残念ながらこれまで、それら細胞内小器官の形態異常を来す病理メカニズムとそれらの病態意義について、殆ど研究が進んでいないのが現状であった。本研究では、細胞内小器官の形態異常を来すモデル細胞を人為的に作成することにより、様々な病理条件下で観察されるそれら細胞内小器官の形態異常の病理的意義を明らかにする事も併せて目指した。

研究成果は以下の通りである。

I 細胞内小器官である小胞体・ゴルジ体の形成の分子機構

- 小胞体・ゴルジ体の形成に必須な膜融合機構p97/p47経路の新規因子として、VCIP135とp55を単離同定し、そのcDNA配列を決定した。
- ゴルジ体形成・維持に必須である、全く新規の膜融合機構を発見した。我々は、これをp97/p37経路と命名した。
- 細胞を固定すると小胞体の形態は容易に失われてしまう。そこで、小胞体を生細胞で可視化できるようにした培養細胞株を樹立し、細胞固定なくして小胞体の形態を観察できるシステムを作り上げた。
- 我々が先に発見した膜融合複合体p97/p47の部分結晶構造を明らかにした。

II 様々な生理条件や病態における小胞体・ゴルジ体の形態変化の分子機構

- 細胞分裂期におけるゴルジ体の形態変化の分子機構を明らかにした。即ち、ゴルジ体

が細胞分裂期に小胞化してその後娘細胞で再構成される分子メカニズムとして、p47の細胞内局在とそのリン酸化を見いだした。p47変異蛋白を微量注入することにより、細胞分裂期でもゴルジ体の層板構造を保つことに初めて成功し、ゴルジ体の小胞化がゴルジ体の娘細胞への均等分配に必ずしも必要でないことを初めて報告した。

- 患者血清に抗ゴルジ自己抗体が認められる膠原病の症例を明らかにした。その病態機序の解明のため、自己抗体の抗原を同定し、病態との関連を示した。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

真核生物の分泌経路のオルガネラである小胞体・ゴルジ体の形成機構の2つの経路(NSF経路とp97経路)のうち、後者に関わる5つの蛋白質因子を単離・同定したが、本SORSTではそのうちp37、p55、VCIP135の3つを明らかにした。さらに、p47の構造解析にも成功している。また、細胞周期におけるゴルジ体の娘細胞への分配について新知見を出すなど、この分野の先導的研究を推進し、大きな成果を上げた。

研究構想の段階では神経変性疾患に注目し、ゴルジ体・小胞体の形態異常とオルガネラ内での異常タンパクの封入体形成との関係に重点をおいており、モデル異常タンパクを分泌経路で凝集させ、膜融合関連因子との関係を解析するなどの計画を立てていたが、その方向での研究の進展はなかった。研究を遂行する中で、当初の計画以上に重要な成果が次々に得られたため、研究計画の変更はやむをえなかったものと考えられる。これらは病理機構の解明よりさらに本質的な成果であり、当初の研究構想から期待できる成果以上のものと言ってよい。また、中間評価においても、病理より基礎的研究の遂行が期待されたが、終了時の成果は、まさにその期待に沿ったものである。今後、病理に関する研究も、本研究を基礎として、大きく進むものと考えられる。

本プロジェクトにおける研究成果の多くは著名な雑誌に、まとまった論文として発表されている。現時点での論文発表リストを見るとやや少ないが、最新の成果と論文発表の間には時間的遅れが生じるのは当然であり、実際最新の成果を一流誌に現在投稿中とのことである。特許出願が全くなかったことは不満ではあるが、研究全体が基礎研究にシフトしていたのでやむ得ない面はある。今後は、たとえ基礎研究であってもこのことはよく考えておく必要はある。基礎研究なので、特に出願すべきものは現時点では求めなくて良いかと思う。

PRESTOから継続していた研究体制を維持していたようで、特に問題があったようには見受けられない。少人数の体制でよくやったと評価したい。イギリスの構造研究グループとの共同研究によって、研究の幅を広げていることも高く評価できる。しかしこの分野の競争の激しさを考えると、もっと大きなチームで進めれば、もっと成果が出たであろうともいえる。こうした先駆的研究へのより多くの

サポートが望まれる。成果の大きさから見て、研究費はきわめて有効に使われたと判断できる。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

真核生物におけるオルガネラの構築と動態に関する研究は、細胞機能発現の根幹に関わる問題であることから欧米では極めて重要視されており、予算も重点的に投資され、研究人口も多くなり競争が激しい。そのような世界的な趨勢のなかで、少人数のグループでありながらこのように新しい発見を次々に行っていることは、研究代表者らの研究水準の高さを証明している。オルガネラは真核細胞に課せられた複雑な機能を分散管理している。こうした細胞のサブシステムとしてのオルガネラがどのように構築され、機能し、維持されていくかという問題は、細胞生物学の中心的課題であるとともに、ゲノム/タンパク質の研究と動植物の高次機能の研究を接続する重要な役割を果たす。オルガネラの適切な構築は細胞機能に必須のプロセスであり、そのメカニズム解明をすすめていけば、いずれ病気や老化等との関連も必ず出てくるであろう。

ゴルジ体、小胞体のp97依存膜融合に関わる新しい因子の発見、その機能解析による新しい膜融合メカニズムの発見など、現在の分子細胞生物学の先端に位置するこの分野がさらに新しい方向に大きく展開する先鞭をつけるものであり、この分野における快挙と言ってよい。さらに従来困難だった *in vivo* での小胞体形態のリアルタイム観察は、今後様々な応用が可能であり、インパクトも計りしれない。

p97/p37という新しい経路を発見するとともに、p97/p47経路に関連した複数の新タンパク質を同定している。これらのタンパク質の意味が、今後の研究によってさらに明らかにされ、病気との関係でも注目されることになる予想される。

4-3. 特記事項

3年間の研究経費の総額が約3,400万円であるので、そのことを考慮すれば研究成果は優れたものと評価したい。この研究はゴルジ体の形成機構の細胞生物学研究ではレベルの高いものとなっているので、JSTとしてこのような研究を支援する意義は大きいと言える。この研究の今後の進展を期待している。また、代表者は本研究を殆ど英国で行ったものではあるが、最近帰国して、研究室を持ったとのことなので、今後、日本におけるこの研究分野のリーダーの一人となることを願っている。

研究代表者は海外に研究拠点を持っていたにもかかわらず、その研究がこのように支援され、それに応えて十分な成果をあげることができたという点で大成功であろう。特に我が国に戻りたくてもポジションがなく、やむを得ず海外で活躍する我が国の研究者にとっても、たいへん勇気づけられることと思う。内容的には細胞生物学の基幹的な基礎研究であるが、下手に応用面での目的を設定して内容をゆがめてしまうことにならなかったことも良かったと思われる。

3人だけのグループでゴルジ体形成のp97経路に関わる主要因子すべてを同定し、それぞれの機能を次々に明らかにしてきた。思い掛けない発見も得られている。これ以上費用対効果の優れた研究は考えにくい。日本の今後のリーダーとなる資質を備えた人材。日本にも帰ってきたし、サポートして良かった。