

審査の結果の要旨

氏名 吉川 悠子

本研究は細胞内分解系の一つであり、自然免疫としても機能することが報告されているオートファジーと宿主上皮細胞内に侵入した病原性細菌との関連を明らかにするため、細胞内寄生菌であるリステリア(*Listeria monocytogenes*)のオートファジー回避機構の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. リステリアが宿主細胞へ侵入し、細胞質へ脱出した後に病原性を発揮するのに必要なレシチナーゼオペロンに含まれる病原性遺伝子を一つずつ欠損させた変異株を作製し、オートファジーのマーカである GFP-LC3 を恒常的に発現するイヌ腎臓由来細胞(MDCK/pGFP-LC3)に感染させた。その結果、リステリアの細胞内運動に必要なアクチンコメット形成を司る ActA の欠損変異株のみ、菌体周囲への GFP-LC3 の集積が観察された。オートファジー阻害剤を用いた感染実験により、この GFP-LC3 の集積はオートファジー誘導によること、さらに ActA 欠損株はオートファジーにより細胞内での増殖が野生株と比べ抑制されることが示された。
2. ActA のアクチンコメット形成に関与する 3 つの機能領域(F-アクチン結合領域、Arp2/3 複合体結合領域および VASP 結合領域)または細胞壁スペーサー部分の各種変異株を作製し、MDCK/pGFP-LC3 細胞に感染させ、リステリアの細胞内運動性とオートファジー回避との関連について検討した。その結果、運動性を消失した変異株でも菌体表面に発現する変異型 ActA が宿主タンパク質の Arp2/3 複合体または VASP のどちらか一方でも菌体周囲に集積することができれば、菌はオートファジーから回避できることが示された。
3. 菌体周囲に Arp2/3 複合体および VASP のどちらも集積することができない ActA 変異株は菌体表面が直接ユビキチン化され、その後 GFP-LC3 が集積することが示された。また、オートファジー特異的に分解され、変性タンパク質からなる凝集体の形成に関与する p62 がユビキチン化された ActA 変異株に対するオートファジーに必須の分子であり、オリゴマー化した p62 がポリユビキチン鎖と LC3 の両者と直接結合することでユビキチン化された ActA 変異株が選択的にオートファジーに認識されることが示された。
4. 易凝集性タンパク質であるポリグルタミン鎖を持つ Q79C あるいは GFP-170* と ActA との融合タンパク質を用いた再構成実験により、ActA の宿主タンパク質を集積する能力依存的に融合タンパク質のユビキチン化が妨げられ、p62 による凝集体の形成が阻害されることが示された。

以上、本論文はリステリアの表面タンパク質であり、菌の細胞内運動に必須である ActA による宿主タンパク質の菌体表面への集積がオートファジー認識回避のためのリステリア特有の擬装戦略であること、さらに宿主タンパク質を集積できない場合にはリステリアが宿主細胞によって神経変性疾患の原因となるタンパク質凝集体と同様の認識機構によってオートファジーに認識されることを明らかにした。本研究はこれまで混沌としていたリステリアのオートファジー回避システムに対して明快な証拠を示し、病原性細菌を標的とするオートファジーの機構の解明に重要な貢献をなすと予想され、学位の授与に値するものと考えられる。