

- 15) Nakagawa, T., Uozumi, N., Nakano, M., Mizuno-Horikawa, Y., Okuyama, N., Taguchi, T., Gu, J., Kondo, A., Taniguchi, N., & Miyoshi, E. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 29797-29806.
- 16) Taniguchi, N., Miyoshi, E., Gu, J., Honke, K., & Matsumoto, A. (2006) *Current Opinion in Structural Biology*, **16**, 561-566.

三善 英知

(大阪大学大学院医学系研究科機能診断科学講座)

Core fucose and tumor marker

Eiji Miyoshi (Department of Molecular Biochemistry & Clinical Investigation, Osaka University Graduate School of Medicine, 1-7 Yamada-oka, Suita 565-0871, Japan)

## 細胞内輸送における Protrudin の役割

### 1. 膜リサイクリング制御タンパク質 Protrudin による神経突起形成機構

神経細胞は神経突起を出して神経回路を形成し、情報の入出力を行っている。これまで、神経突起形成のメカニズムについては、細胞骨格の再構築の制御という観点から多くの研究がなされてきた。その一方で、神経突起を形成するためには、細胞膜の構成成分が輸送供給されて突起における細胞膜表面積が増大する必要があるが、その機構についてはほとんど知られていなかった。今回筆者らは細胞内の膜リサイクル輸送システムが神経突起形成に重要であることを見出した。また、その制御の鍵となるタンパク質 Protrudin (プロトルーディン) を発見し、その詳細な作用機序を明らかにした<sup>1)</sup>。

### 2. 膜のリサイクリングによる神経突起形成

細胞内にはさまざまな小胞輸送システムが存在しており、各種膜系の変形や移動などに関与している<sup>2,3)</sup>。小胞輸送などの選択的な輸送システムはメンブレントラフィックと呼ばれており、Rabファミリーの低分子量Gタンパク質により厳密に制御されている<sup>4)</sup>。哺乳類には60種以上のRabが存在しているが、そのうちの一つのRab11はリサイクリングエンドソームに局在しており、膜のリサイクル輸送を制御している<sup>5)</sup>。

神経突起が形成されるためには、細胞内の膜成分が突起形成部位に限定して供給されなければならない。筆者らは、神経突起への膜の供給が、細胞膜のリサイクリングを

介してなされていることを提唱した。細胞膜のリサイクリングとは、細胞膜の一部が細胞内に取り込まれて(エンドサイトーシス)、リサイクリングエンドソームにいったん集められ、再び特異的な部位に向けて分泌される(エキソサイトーシス)システムである。筆者らの発見したProtrudinは、このリサイクリングシステムを制御することにより神経突起形成を誘導する新規のタンパク質であった。

### 3. 突起形成を誘導する Protrudin の発見

今回紹介する研究は偶然の発見から始まった。筆者らは以前に、膜シャペロンタンパク質のFKBP38が、結合分子の細胞内局在や機能を制御していることを明らかにした<sup>6)</sup>。FKBP38のノックアウトマウスを作製したところ、発生期の神経管閉鎖不全を呈するとともに異常な神経線維の走行が観察された。すなわち、FKBP38が神経の発生・分化に関係することが示唆された。そこでFKBP38の結合タンパク質を探索したところ、新規の膜タンパク質が同定された。

当初機能が不明であったその新規タンパク質をたまたま子宮頸がん由来のHeLa細胞株で過剰発現させたところ、神経突起を思わせるような突起が出現した。そこで「突起が伸びる」という意味の“protrude (プロトルード)”という英語にちなんで、このタンパク質を“Protrudin (プロトルーディン)”と命名した。

Protrudinは、Rab11結合ドメイン(RBD11)、膜貫通部位と予想される疎水性ドメイン(HP)、ERへの分布に関与するFFATモチーフ、タンパク質同士に結合に関与するcoiled-coilドメイン、脂質との結合に関与するFYVEドメインを有する膜タンパク質である(図1)。これらの構造的特徴から、Protrudinは細胞内の小胞輸送の制御に関与する可能性が考えられた。特に、ProtrudinはRab11結合ドメインを有することから、リサイクリングエンドソーム

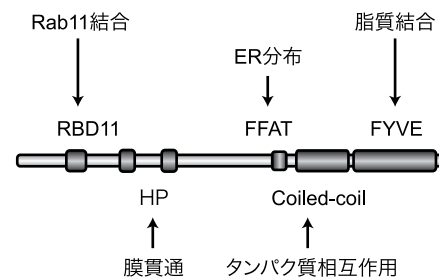


図1 Protrudin の構造

Protrudinは、Rab11結合ドメイン(RBD11)、疎水性ドメイン(HP)、ER分布に関与するFFATモチーフ、タンパク質相互作用に関与するcoiled-coilドメイン、脂質結合に関与するFYVEドメインを有する。

の機能との関連が示唆された。

#### 4. Protrudin の発現分布

Protrudin の組織発現分布を調べたところ、脳、脊髄などの中枢神経系に高い発現が認められた。

また、マウス脳神経の初代培養細胞における Protrudin の細胞内局在を観察すると、軸索にも樹状突起にも存在し

ており、特に細胞膜、核に近接する中心体の近傍、神経突起先端の成長円錐に多く存在していた。PC12細胞は、神経成長因子 NGF を添加すると神経突起を形成するが、Protrudin は NGF 添加によって顕著な局在変化を示した。すなわち、NGF 無添加時には細胞質全体に分散していたのに対して、NGF を添加すると数時間後にいったん中心体近傍に顕著に蓄積し、その後突起の伸長と共に突起先端へと移動していった。中心体近傍の Protrudin が蓄積する部位は、リサイクリングエンドソームのマーカである Rab11 の局在と一致した。

#### 5. Protrudin の抑制による神経突起形成の阻害

Protrudin が神経突起形成に関与しているのかどうかを調べるために、PC12細胞において RNAi による Protrudin のノックダウン実験を行った。Protrudin の発現を抑制すると、NGF 添加による神経突起形成が阻害され、その効果は NGF 添加の時間経過と共に顕著となっていった。すなわち、コントロール細胞では限定方向へ細胞膜が伸展して突起形成を示したのに対して、ノックダウン細胞では全方向へ細胞膜が伸展して細胞全体が広がった形態を示した(図2)。よって Protrudin は神経突起の形成に重要なタンパク質であることがわかった。

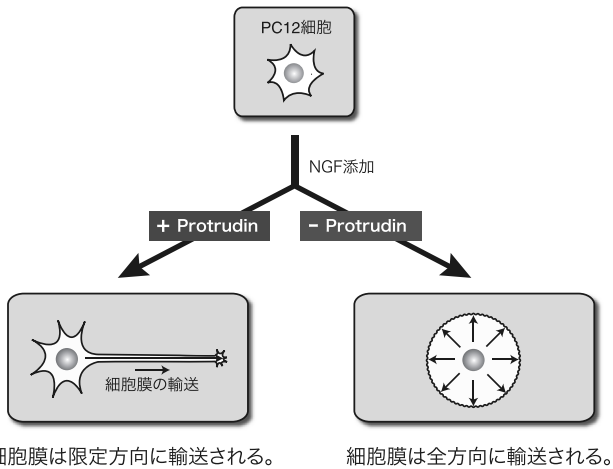


図2 Protrudin の発現抑制による神経突起形成阻害  
Protrudin が発現していると細胞膜は限定方向に輸送され、神経突起が形成される。Protrudin が発現していないと細胞膜は全方向に輸送され、神経突起が形成されない。

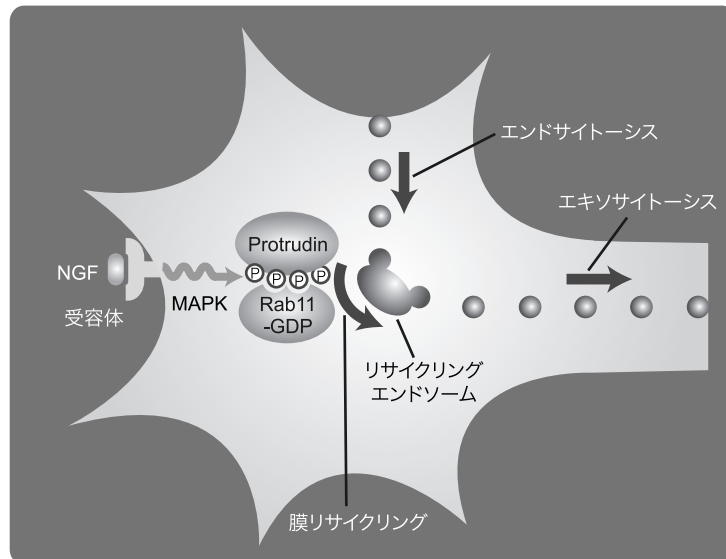


図3 Protrudin による神経突起形成のメカニズム  
Protrudin は NGF からのシグナルの下流で ERK によってリン酸化され、Rab11-GDP と結合する。そして細胞膜成分がリサイクル輸送によって突起形成部位に運ばれ、神経突起の形成が誘導される。

## 6. Protrudin と Rab11 の結合による膜リサイクリングの制御

Protrudin には RBD11 (Rab11 結合ドメイン) が存在しており、この部分は GDI (GDP dissociation inhibitor) と類似していた。配列情報から予測された通り、細胞内結合実験により Protrudin は GDP 結合型の Rab11 と結合することがわかった。多くの低分子量 G タンパク質のエフェクター分子は GTP 結合型と特異的に相互作用することが知られているが、Protrudin は GTP 結合型の Rab11 とは結合せず GDP 結合型の Rab11 とのみ特異的に結合することから、この結果は非常に稀なケースで興味深い。またこの結合は、NGF の下流のシグナルにより Protrudin がリン酸化されると促進されること、およびこのリン酸化には MAPK の ERK が関与していることが明らかになった。

さらに Protrudin の膜リサイクリングへの作用について検討するために、リサイクリングエンドソームの動態を神経軸索特異的に輸送される積み荷タンパク質 NgCAM を用いて観察した<sup>7)</sup>。NgCAM は神経軸索へ特異的に輸送される小胞膜上のタンパク質である。新規に合成された NgCAM は、まず細胞膜に輸送された後、いったんエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれてリサイクリングエンドソームに運ばれ、再び限定された方向、即ち軸索方向の細胞膜へとエキソサイトーシスにより輸送される、という動態が報告されている。これは神経軸索に特異的な小胞輸送システムであり、トランスサイトーシスの一種である。Protrudin のノックダウン実験において、NgCAM の動態を指標にして小胞輸送の流れを観察した。NgCAM は、コントロール細胞では神経突起の細胞膜に特異的に分布したのに対して、ノックダウン細胞では細胞膜全体に分散した。つまり、Protrudin は神経突起の形成される限定方向への小胞輸送を促進する作用を持つことが確認された。

以上の結果より、Protrudin は小胞膜のリサイクルシステムの制御を通じて神経突起形成に関与することが明らかになった。

上述のように Protrudin の作用機序を解析し、以下のようなメカニズムで神経突起が形成されることを突き止めた(図3)。①神経成長因子 NGF などの神経分化の誘導シグナルが細胞表面の受容体に結合する。②そのシグナルにตอบสนองして Protrudin がリン酸化される。③リン酸化された Protrudin が膜のリサイクリングを制御する Rab11 と結合する。④それに伴い、突起形成部位への細胞膜成分のリサイクル輸送が促進される。⑤その結果、神経突起形成が誘

導される。

## 7. Protrudin の神経変性疾患への関与

近年、小胞膜輸送系の異常が示唆されている遺伝性痙性対麻痺の患者家系において、Protrudin 遺伝子の変異が報告された<sup>8)</sup>。遺伝性痙性対麻痺は皮質脊髄路の神経変性により起こり、徐々に歩行困難になる病気である。Protrudin の機能異常によって細胞膜の輸送に障害が生じることが、遺伝性痙性対麻痺の原因であると考えられた。この発見はわれわれの研究成果を裏付けるものであり、今後 Protrudin による限定的細胞膜輸送システムの制御に関する研究が、この疾患の発症機構の解明や治療への応用につながると期待される。

- 1) Shirane, M. & Nakayama, K.-I. (2006) *Science*, 314, 818-882.
- 2) Tang, B.L. (2001) *J. Neurochem.*, 79, 923-930.
- 3) Behnia, R. & Munro, S. (2005) *Nature*, 438, 597-604.
- 4) Zerial, M. & McBride, H. (2001) *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 2, 107-117.
- 5) Maxfield, F.R. & McGraw, T.E. (2004) *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 5, 121-132.
- 6) Shirane, M. & Nakayama, K.I. (2003) *Nat. Cell Biol.*, 5, 28-37.
- 7) Wisco, D., Anderson, E.D., Chang, M.C., Norden, C., Boiko, T., Folsch, H., & Winckler, B. (2003) *J. Cell Biol.*, 162, 1317-1328.
- 8) Mannan, A.U. Krawen, P., Sauter, S.M., Boehm, J., Chronowska, A., Paulus, W., Neesen, J., & Engel, W. (2006) *Am. J. Hum. Genet.*, 79, 351-357.

白根 道子

(九州大学生体防御医学研究所分子発現制御学分野)

Protrudin regulates membrane recycling system  
Michiko Shirane (Department of Molecular and Cellular Biology, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, Fukuoka 812-8582, Japan)

## nucleoredoxin による Wnt シグナルの制御

### 1. はじめに

Wnt/ $\beta$ -カテニン経路は初期発生や幹細胞の多分化能維持に重要な役割を果たしている。また、Wnt シグナルの異常な活性化は種々のがんの要因となることが知られてい