

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 慶田城 迅

論 文 題 目 LRRK1 による上皮成長因子受容体(EGFR)の
細胞内輸送制御機構の解明

論文審査担当者

主 査	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	工学博士	松 本 邦 弘
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	博士(医学)	木 下 専
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	准教授	博士(理学)	久 本 直 毅

論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

ヒト LRRK1、及び LRRK2 は、ROCO キナーゼファミリーに属するタンパク質である。近年、LRRK2 がパーキンソン病の原因遺伝子として報告されたことから、臨床的に注目を浴びている。しかし、両者の機能については不明な点が多い。当研究室では、LRRK1 の機能を解析するため LC-MS / MS スクリーニングを行い、LRRK1 と相互作用する因子を探索した。その結果、アダプター分子 Grb2 を同定していた。また、その後の解析から、LRRK1 は Grb2 を介して上皮成長因子受容体 (EGFR) と結合し、EGFR のエンドサイトーシスを制御することが明らかとなってきた。活性化した EGFR は、エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれ、早期エンドソーム、後期エンドソームを経由し、最終的にリソソームで分解される。LRRK1 は EGFR の細胞内トラフィック、特に早期エンドソームから後期エンドソームへの移行をキナーゼ活性依存的に制御していた。

申請者は、LRRK1 による EGFR 細胞内トラフィックの制御機構を解明する目的で、LRRK1 の基質を探索した。その結果、LRRK1 は微小管プラス端結合因子 CLIP-170 をリン酸化することを明らかにした。さらに、LC-MS / MS による質量分析を行い、CLIP-170 のリン酸化サイトを探索したところ、LRRK1 は CLIP-170 の C 末端 zinc-knuckle モチーフに存在する Thr-1384 をリン酸化することを明らかにした。また、LRRK1 による CLIP-170 のリン酸化は、CLIP-170 と dynein / dynactin モータータンパク質複合体の結合を促進し、この複合体の微小管プラス端へのリクルートを促進することを明らかにした。siRNA を用いて CLIP-170 をノックダウンすると、EGFR の細胞内輸送が著しく阻害される。このとき、siRNA 耐性野生型 CLIP-170 はこの阻害をレスキューするが、非リン酸化型 CLIP-170 (T1384A) 変異体ではレスキューは見られなかった。また、擬リン酸化型 CLIP-170 (T1384E) 変異体は、キナーゼ不活性型 LRRK1 による EGFR 細胞内輸送の阻害を抑圧することも明らかにした。これらの結果は、LRRK1 が CLIP-170 をリン酸化することで、dynein 依存的な EGFR の細胞内トラフィックを制御していることを示している。

このように本研究は、LRRK1 の基質として初めて CLIP-170 を同定し、さらにそのリン酸化が、EGFR の細胞内トラフィックを制御していることを解明した点で新規性が高い。また、そのメカニズムとして dynein / dynactin 複合体の微小管プラス端へのリクルートが重要であることを示したことも評価に値するものである。以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。