

(様式4)

学位論文の内容の要旨

(森田 晶人)



(学位論文のタイトル)

Clathrin-mediated endocytosis is essential for the selective degradation of maternal membrane proteins and preimplantation development

(クラスリンを介したエンドサイトーシスは卵母細胞由来の細胞膜タンパク質の分解と初期胚発生に不可欠である)

(学位論文の要旨) 2,000字程度, A4判

受精は、卵内が卵子型から胚型へと移行するmaternal to zygotic transitionという過程のトリガーとなり、初期胚発生に向けた細胞内の大規模なリモデリングを引き起こす。この移行期には、ユビキチン-プロテアソームシステムとオートファジーが卵母細胞由来の成分の分解に不可欠であるが、細胞表面の構成成分の分解の意義やメカニズムは依然不明である。

本研究では、マウス胚においてグリシントランスポーターであるGlyT1aなどの複数の卵母細胞由来の細胞膜タンパク質が、2細胞期後半までに選択的に細胞膜からエンドソームに内包され、その後、リソソームに輸送されて分解されることを示した。この輸送過程は、Rab5陽性の初期エンドソーム、およびRab7陽性の後期エンドソームを経由していた。これまでに線虫卵においても卵母細胞由来のタンパク質がエンドサイトーシスされ、この過程においてユビキチン化されたタンパク質がエンドソームに蓄積している様子は観察されていたが、マウスの胚においてもユビキチン化されたタンパク質がエンドソームに蓄積することが確認された。さらに、ユビキチン化される可能性のある部位に変異を加えた変異型のGlyT1aの分解が、野生型のGlyT1aに比べて遅れていたことから、ユビキチン化がGlyT1aの分解に関与している可能性が示唆された。プロテインキナーゼC(PKC)は基質をリン酸化し、細胞内における様々なシグナル伝達や代謝の調節因子として機能している。これまでに培養細胞においてPKCがGlyT1aのユビキチン化を調節しているという報告があり、マウスの胚においても同様のメカニズムが存在するかについてPKC活性化剤、およびPKC阻害剤を用いて検討した。その結果、PKC活性化剤はコントロール胚ではGlyT1aがエンドサイトーシスされない1細胞期において、GlyT1aのエンドサイトーシスを促進した。一方、PKC阻害剤は、コントロール胚ではGlyT1aがエンドサイトーシスされる2細胞期において、GlyT1aのエンドサイトーシスを顕著に阻害した。このことから胚におけるGlyT1aのユビキチン化はPKCによって制御されている可能性が示唆された。さらに、クラスリン依存的エンドサイトーシスを抑制する阻害剤で胚を処理すると、GlyT1aのエンドサイトーシスは阻害された。クラスリン阻害剤で処理した胚では、胚発生が2細胞期で完全に停止し、4細胞期以降の卵割が阻害された。また4細胞期から8細胞期への移行も阻害された。これに対し、1細胞期から2細胞期、および8細胞期から桑実胚、胚盤胞への移行は阻害されなかった。これらの結果から、PKC依存性のクラスリンを介したエンドサイトーシスは、卵子から胚への移行期、および初期胚発生における卵母細胞由来の細胞膜タンパク質の選択的分解に不可欠であることが明らかになった。

生殖補助医療では、妊娠率、および生児獲得率を高めるために、より質の良い胚を選択することが重要である。胚発生においてクラスリンを介したエンドサイトーシスが重要な役割を果たしていることから、個々の胚のエンドサイトーシス活性を評価することで、高い妊娠率を示す胚を選択で

きるかもしれない。そのためには、他の細胞膜タンパク質の動態や、エンドサイトーシスの正確な分子メカニズムの解析、およびその新規解析法の開発をさらに進める必要がある。