

160 小胞体出芽部位の局在は分泌機能と関連するか？

馬場 崇

【目的】分泌タンパク質は小胞体内で合成されたのち、小胞体上の特別なドメインである ER exit site (ERES、小胞体出芽部位) から COPII 被覆小胞に詰め込まれ、ゴルジ体を経由して細胞外、もしくは細胞内の様々な膜区画へ運ばれる。1 細胞あたり数百個存在する ERES は、小胞体上に一様に存在するわけではなく、以下の二種類に大別される。ゴルジ体近傍に凝集した ERES (GERES) と細胞質に点状に散らばった ERES (CERES) である。CERES から出芽した小胞は、GERES から出芽した小胞に比べて、ゴルジ体まで長距離移動する必要がある。しかしながら、GERES と CERES の機能的差異に関する知見はほとんどない。細胞外の pH の低下は小胞体—ゴルジ体間輸送を遅延させることから、分泌経路における細胞外環境の重要性が増しつつある。腫瘍内では、がん細胞が解糖系亢進により多量の乳酸を産生・分泌し、結果、酸性環境である。乳酸は pH の低下だけでなく、腫瘍内に浸潤したマクロファージに作用し、*VEGFA* や *IL23A* の遺伝子発現の増加を引き起こす。一方で、乳酸がマクロファージの ERES の局在やタンパク質分泌に与える影響、また、分泌経路の各々の膜区画に与える影響は詳細に解析されていない。今回、1. 高乳酸環境における ERES の局在変化と小胞輸送との相関関係の解明、2. ERES が小胞体上を移動する分子機構の解明を試みた。

【方法】マクロファージ様細胞株である J774.1 細胞を用いて乳酸存在下における ERES 及びその他分泌経路のオルガネラの細胞内局在や形態を免疫染色及び共焦点顕微鏡により観察した。さらに HeLa 細胞を用いた COPII タンパク質の発現抑制により ERES 局在を決定するタンパク質を探索した。

【結果】非乳酸存在下において、球状の J774.1 細胞の ERES は、主に核以外の領域に点状に局在していた。加えて、一部の細胞では核近傍に ERES が集積していたが、その割合は少なかった。これは細胞の形態が丸い影響か、もしくは細胞種差によるものであると考えられる。一方で、乳酸添加によりゴルジ体付近の ERES (GERES) の割合が多くなり、また数も少なくなった。乳酸が ERES の局在に何かしらの影響を与えることが示唆された。また、細胞膜—エンドソーム間をリサイクリングするトランスフェリン受容体は、乳酸により核近傍の局在が増加した。HeLa 細胞を用いた実験では Sec23 以外の COPII 因子も ERES 局在に寄与することが分かった。

乳酸存在下における J774.1 細胞の ERES の局在

