

# 小胞体 SNARE タンパク質の多様な機能

新崎 恒平

Syntaxin 17 (Stx17) は小胞体に局在する SNARE タンパク質として、Scheller 博士らによって 2000 年に同定された。その後 Stx17 に関連するきわだった報告は滞っていたが、2012 年に Stx17 がオートファジーに重要な役割を担っていることが報告されてから、世界中の研究者の注目を浴びるタンパク質となっている。筆者らは、通常培養下における Stx17 の機能に着目して研究を行い、Stx17 が小胞体-ミトコンドリア接触部位においてミトコンドリアの分裂制御に働いていることを見いだした。さらに、肺炎を引き起こす病原菌の一種であるレジオネラ感染により Stx17 が分解されることを見いだし、レジオネラは Stx17 を分解することでオートファジーのみならずアポトーシスも抑制していることを明らかにした。

## 1. はじめに

真核細胞には種々の細胞小器官（オルガネラ）が存在しており、個々のオルガネラが適切に機能を発揮することが細胞の生存・増殖・分化等に必要不可欠である。そして、この過程においてはオルガネラ間でのコミュニケーションがきわめて重要な役割を担っている。オルガネラ間コミュニケーションの手段の一つとして「細胞内小胞輸送」がある<sup>1)</sup>。細胞内小胞輸送の分子機構に関する研究は 1980 年代ごろから精力的に行われるようになり、その中心として研究を牽引してきた Schekman 博士（カルフォルニア大学バークレイ校）、Rothman 博士（イェール大学）、Südhof 博士（スタンフォード大学）が 2013 年にノーベル生理学・医学賞を受賞したことは記憶に新しい。輸送小胞は微小管やアクチンなどの細胞骨格に沿って運搬されるため、細胞内小胞輸送のシステムでは離れたオルガネラ間におけるコミュニケーションが可能である<sup>2)</sup>。しかしながら、近年になり異なるオルガネラどうしが直接的な接触や近接を介してコミュニケーションしていることも明らかになりつつある。オルガネラ間の接触場は膜接触部位（membrane contact site：MCS）と呼ばれ、その中心に位置するオルガネラが

小胞体（ER）である。そして、小胞体はミトコンドリア・細胞膜・エンドソーム・リソソーム・ゴルジ体・脂肪滴・ペルオキシソームなど多様なオルガネラと MCS を形成し、MCS において各オルガネラとコミュニケーションすることにより多彩な機能を発揮している<sup>3)</sup>（図 1）。

## 2. 小胞体-ミトコンドリア接触部位

小胞体が形成する MCS において活発に研究が行われている領域の一つに、ミトコンドリアとの接触場（mitochondria-associated membrane：MAM）があげられる。MAM では脂質合成や  $Ca^{2+}$  の放出が盛んに行われているので、脂

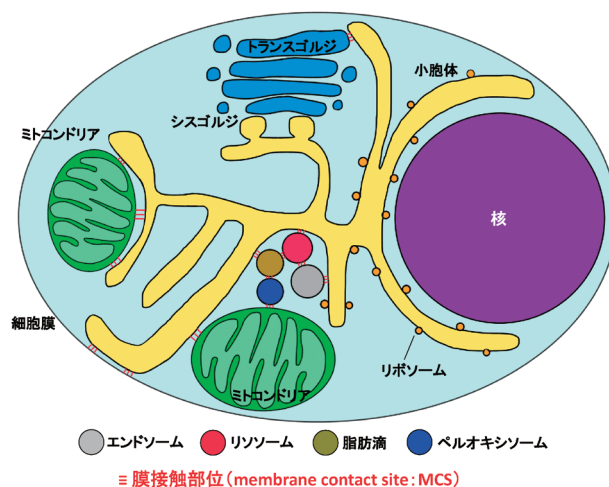


図1 細胞内におけるオルガネラコンタクト  
多くのオルガネラは、膜接触部位（MCS）を介して他のオルガネラとコミュニケーションしている。MCS では小胞輸送を介さずにオルガネラ間での脂質やイオンの交換が可能となっている。

東京薬科大学・生命科学部・分子細胞生物学研究室（東京都八王子市堀之内1432-1）

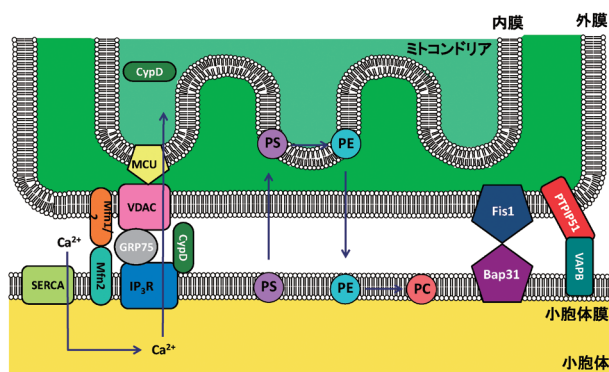
### Various functions of ER-localized SNARE protein

Kohei Arasaki (School of Life Sciences, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences Laboratory of Molecular Cell Biology, 1432-1 Horinouchi, Hachioji, Tokyo, Japan)

本総説は2017年度奨励賞を受賞した。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2018.900664

© 2018 公益社団法人日本生化学会



**図2** MAMとミトコンドリアを繋留および連結する因子  
MAMやミトコンドリアを繋留および連結する因子として、Mfn2-Mfn1/2複合体、IP<sub>3</sub>受容体 (IP<sub>3</sub>R)-GRP75-VDAC-CypD複合体、Fis1-Bap31複合体およびVAPB-PTPIP51複合体が報告されている。(左)MAMとミトコンドリアの間ではCa<sup>2+</sup>の輸送が行われている。SERCAを介して小胞体に取り込まれたCa<sup>2+</sup>は、IP<sub>3</sub>Rより放出される。放出されたCa<sup>2+</sup>はミトコンドリア外膜のVDACおよび内膜のmitochondrial Ca<sup>2+</sup> uniporter (MCU)の働きによりマトリクスへと取り込まれる。(中央)ホスファチジルセリン (PS)はMAMにおいて合成された後、ミトコンドリアへ輸送された後にホスファチジルエタノールアミン (PE)へと変換される。PEの一部は再度MAMへと戻され、肝臓ではホスファチジルコリン (PC)へと再変換される。この脂質の輸送においては小胞を必要としない。

質合成酵素やIP<sub>3</sub>受容体およびSERCAといったCa<sup>2+</sup>の動態を制御するタンパク質が濃縮されている<sup>4)</sup>(図2)。また、脂質合成酵素が豊富に存在していることから、MAMの一部はコレステロールやスフィンゴ脂質に富むラフト様の構造(細胞膜のカベオラと類似した構造)であると考えられている<sup>5,6)</sup>。さらに、近年のMAMに関連した研究の進展は目覚ましく、MAMはミトコンドリアダイナミクス・オートファジー・小胞体ストレス応答の制御のみならず、抗ウイルス作用や自然免疫応答にも関わっていることが明らかになりつつある。このように、MAMは細胞内において多彩な生理機能のプラットフォームとして重要な役割を担っているが、その構造や機能の維持に働くタンパク質の存在も明らかになりつつある。その一つがGTPaseであるマイトフュージン (Mfn)である。ミトコンドリアに局在しているMfnにはMfn1およびMfn2という二つの分子種が存在しており、ホモおよびヘテロ二量体を形成することによりミトコンドリアどうしの融合に関わることが知られている<sup>7)</sup>。さらに、2007年Scorrano博士らのグループはMfn2の一部がMAMに局在し、小胞体膜とミトコンドリア膜との繋留に関わることを明らかにした<sup>8)</sup>(図2)。それゆえ、Mfn2の機能阻害は小胞体とミトコンドリアの分離を引き起こし、MAMより放出されるCa<sup>2+</sup>の量の減少を引き起こす<sup>8)</sup>。また、小胞体-ミトコンドリアの繋留にはIP<sub>3</sub>受容体-GRP75-VDAC-CypD複合体やBap31-Fis1複合体なども関わっており、前者はCa<sup>2+</sup>ホメオスタシスに、後者はアポトーシスと密接に関わっている<sup>9,10)</sup>(図2)。なお、家族性筋萎縮性側索硬化症ALS8の原因遺伝子として知ら

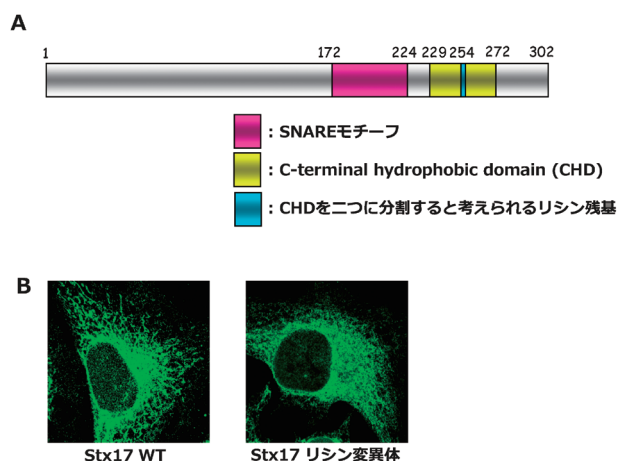
れているVAPBはミトコンドリアに局在するprotein tyrosine phosphatase-interacting protein 51 (PTPIP51)と結合してMAM-ミトコンドリアの繋留に関わっており、この相互作用はTDP-43 (ALS10原因因子)により調節されている。それゆえ、MAM-ミトコンドリアの繋留異常がALSの発症に関わることを示唆されている<sup>11)</sup>。さらに、PACS2と呼ばれるタンパク質はMAMにおいてcalnexin (CNX)と相互作用することにより、MAMの構造維持に関わることが知られている<sup>12,13)</sup>。

### 3. Syntaxin 17 (Stx17)

Stx17は2000年にScheller博士らの研究グループにより膜融合装置として働くSNAREタンパク質の一つとして発見され、滑面小胞体に局在し小胞体-ゴルジ体間の輸送小胞に含まれているv-SNAREのSec22bとSNARE複合体を形成していることが明らかになっている<sup>14)</sup>。2000年に発見されて以降、Stx17の機能解析に関連するきわだった報告は滞っていたが、最近になり最も注目されるSNAREタンパク質の一つとなった。それは、Stx17がオートファジーに重要な役割を担っていることが明らかになったからである。オートファジーは栄養飢餓などのストレスにより誘導される現象であり、小胞体より形成された隔離膜が細胞質成分や一部のオルガネラを包み込んだオートファゴソームとなる。その後、オートファゴソームはリソソームと融合し、内容物を分解することによりエネルギーやアミノ酸などの生体高分子の原料を産生する。隔離膜が小胞体のどのドメインから形成されるのかは長い間議論があったが、2013年に大阪大学の吉森博士らは隔離膜がMAMから形成されることを発見した<sup>15)</sup>。隔離膜の形成にはホスファチジルイノシトール3-リン酸 (PI3P)が産生される必要があり、その産生をつかさどっている酵素がPI3P-キナーゼ (PI3K)複合体である<sup>16)</sup>。吉森博士らのグループは栄養飢餓に伴いStx17がPI3K複合体の構成因子の一つであるAtg14Lとの相互作用を介してPI3K複合体をMAMへとリクルートし、隔離膜形成を促す役割を担っていることを明らかにした<sup>15)</sup>。一方、水島博士らは、オートファゴソームに局在化したStx17はリソソーム上のv-SNAREであるVAMP8との相互作用を介して、オートファゴソームとリソソームとの膜融合に必要であることを報告しており<sup>17)</sup>、Stx17はオートファジーにおいて、その開始点(隔離膜形成)から終着点(オートファゴソームとリソソームとの融合)まで幅広く機能しているタンパク質である。

筆者らは、通常状態(栄養条件)におけるStx17の機能に着目して解析を行った。まず栄養条件でのStx17の細胞内局在を免疫染色や細胞分画により調べたところ、免疫染色においてStx17はミトコンドリアマーカーと顕著な共局在を示し、細胞分画においては小胞体・MAM・ミトコンドリア画分にプロファイルされた。また、コレステロールに特異性のある界面活性剤であるジギトニンで細





**図3** Stx17のドメイン図と局在化に重要なアミノ酸残基  
(A) Stx17には通常のSNAREタンパク質より長い(42アミノ酸)疎水性領域(C-terminal hydrophobic domain: CHD)があり、この疎水性領域は254番目のリシンにより分割されると考えられている。また、この疎水性領域は「W型」のヘアピン様構造をとっていると推定されており、CHD領域に続くC末端テイル部分は細胞質側を向いている。(B)左:野生型のStx17の一部は小胞体を示す網目状の局在として観察されるが、大部分はミトコンドリアと近接したチューブ状の局在として観察される。右:254番目のリシンに変異を導入したStx17ではMAM局在を示すチューブ状の局在が消失し、小胞体様パターンとしてのみ観察される。

胞を処理すると、Stx17のMAMやミトコンドリア局在が消失することからStx17はMAM上のラフト様構造に豊富に存在すると推測された。これらの結果より、栄養条件におけるStx17の局在が明らかにできたので、次にStx17の局在化分子機構の解析に着手した。その際に注目したのが、Stx17のC末端に存在する疎水性領域である。通常、SNAREタンパク質はC末端に位置するSNAREドメイン(膜融合に必須なドメイン)の後に短い膜貫通領域を有するが、Stx17には254番目のLysにより二分される44アミノ酸からなる長い疎水性領域(C-terminal hydrophobic domain: CHD)が存在する(図3A)。なお、このCHDはヘアピン様の構造であると考えられており、CHDに続くC末端のテイル領域はサイトゾル側を向いている<sup>14, 17)</sup>。ヘアピン様構造を形成する疎水性領域において、その領域を二分するアミノ酸残基が機能や局在化に重要な役割を担っていることから、Stx17の254番目のLysの変異体を作製しその局在を解析した。その結果、野生型ではMAMやミトコンドリアを示すチューブ状として観察されるStx17の局在が、Lys254の変異により消失した(図3B)。よって、Stx17はCHDを二分しているLysを介してMAMやミトコンドリアへと局在化していると考えられる。

ここまでの解析により、栄養条件におけるStx17の局在と局在化機構の一端は明らかとなった。では、「栄養条件においてMAMやミトコンドリアに局在するStx17にはどのような生理機能があるのか?」が次なる疑問となる。そこで、Stx17を発現抑制した細胞における種々のオルガネラ形態の観察を行った。Stx17は小胞体に局在するSNARE

タンパク質として発見され<sup>14)</sup>、通常SNAREタンパク質は膜融合や膜輸送に重要な役割を担っていることから、解析当初はStx17の発現抑制による初期輸送に位置するオルガネラ(小胞体・小胞体-ゴルジ体中間区画(ERGIC)・ゴルジ体)への影響を解析した。しかしながら、Stx17の発現抑制ではこれらオルガネラへのきわだった影響は観察されなかった。Stx17がMAMやミトコンドリアにも局在していることを見いだしていたことから、次にStx17の発現抑制がミトコンドリアの形態に与える影響を調べた。ミトコンドリアは融合と分裂を繰り返すダイナミックなオルガネラであり、外膜と内膜の二重膜により構成されている。ミトコンドリアの融合や分裂にはGTPaseが関わっており、融合においてはMfn1/2(外膜)やOPA1(内膜)が、分裂においてはDrp1が必須な役割を担っている<sup>7, 18, 19)</sup>。通常の細胞においてミトコンドリアは一定の長さで分断されたチューブ状の形態として観察される。一方、Stx17を発現抑制した細胞において細く伸長したミトコンドリアが有意に増加していた。また、この「細く伸長する」形態はミトコンドリアの分裂活性が抑制された際に頻出する現象であることから<sup>20)</sup>、Stx17は栄養条件においてミトコンドリア分裂を促進している可能性が推測される。そして、この可能性を強く支持する報告がなされた。2011年にコロラド大学のVoeltz博士らは、ミトコンドリアの分裂が起こる部位に小胞体膜が巻きつき(MAM)、そこにDrp1が集積・会合することで分裂が引き起こされることを明らかにした<sup>21)</sup>。この報告はMAMがミトコンドリアの分裂に必要であることを示しており、MAMに局在するタンパク質もミトコンドリアの分裂制御を担っていることを意味する。それゆえ、Stx17がMAMにおけるミトコンドリア分裂制御因子として機能していても不思議なことではない。そこで、ミトコンドリア分裂制御におけるStx17の詳細な分子機構の解析に着手した。

Stx17はSNAREタンパク質であることから、Stx17単独でミトコンドリアの分裂を促進しているとは考えにくく、何らかの因子を制御することでミトコンドリア分裂に寄与している可能性が推定される。ミトコンドリアの分裂は小胞体膜(MAM)とDrp1の双方の機能を必要とすることから、MAMに局在しているStx17はDrp1の機能を制御している可能性が考えられる。その可能性を検証するために、まずStx17とDrp1との相互作用(近接)を免疫沈降およびproximity ligation assay (PLA)により調べた。免疫沈降法において、Stx17はDrp1とCHDとそれに続くC末端サイトゾル領域(CHD+Cドメイン)を介して相互作用しており、この相互作用にはDrp1の活性化(GTPとの結合)が必要であることが見いだされた。また、Stx17を発現抑制した細胞に野生型のStx17およびStx17のLys変異体や種々のドメイン欠失変異体を入れ戻し、ミトコンドリアの形態を観察したところ、野生型・SNAREドメイン欠失変異体・CHD+Cドメインを発現している細胞では分裂したミトコンドリア(形態の回復)が観察されたが、Lys変異体

やCHD+C欠失変異体では回復がみられなかった。さらに、PLAにより、Stx17とDrp1はミトコンドリアの分裂部位において近接しており、この近接には小胞体-ミトコンドリアの繫留やMAMの構造が必要 (Mfn2やPACS2の発現抑制により近接シグナルが消失) であることを明らかにした。これらの結果は、栄養条件においてStx17はCHD+Cドメインを介してMAM上でDrp1と相互作用することによりミトコンドリアの分裂を促進していることを示している。それゆえ、Stx17とDrp1との相互作用が消失することによりミトコンドリアの分裂阻害 (伸長) が引き起こされるはずである。このことを検証するために、微小管を脱重合させた細胞におけるStx17とDrp1との相互作用を解析した。以前の報告により、微小管を脱重合させた細胞において、ミトコンドリアの分裂阻害に伴う伸長が起こることが明らかとなっている<sup>22)</sup>。そこで、ノコダゾールを添加した細胞におけるStx17とDrp1との相互作用を調べたところ、微小管の脱重合によりStx17とDrp1が解離していた。また、微小管を脱重合させた細胞においてStx17がジギトニンに感受性を示さないドット構造として観察されたことから、Stx17とDrp1との相互作用はMAMのラフト様構造で起きていることが明らかになった。

ミトコンドリア分裂ではDrp1のMAM/ミトコンドリアへの集積および活性化 (オリゴマー化) が必須であるが、その過程はさまざまな分子が制御している。サイトゾルに分布していたDrp1はMff・Mid49・Mid51・Fis1などの受容体を介してMAM/ミトコンドリア膜へとリクルートされた後に活性化される<sup>23-25)</sup>が、活性化される過程においてDrp1の637番目のSer残基 (S637) の脱リン酸化が必要となる<sup>26)</sup>。また、このリン酸化にはプロテインキナーゼA (PKA) が関わっており、Rab32がDrp1とPKAを仲介することが明らかとなっている<sup>27)</sup>。それゆえ、Stx17はDrp1との相互作用を介してi) Drp1のMAM/ミトコンドリア膜へのリクルート、ii) Drp1のS637の脱リン酸化のどちらかを制御していると考えられる。もし、Stx17がDrp1のMAM/ミトコンドリア膜へのリクルートに関与しているのであれば、Stx17の発現抑制によりサイトゾルに局在するDrp1の量が増加するはずである。しかしながら、Stx17を発現抑制している細胞においてもMAM/ミトコンドリアに局在するDrp1の量に有意な変化は検出されなかった。一方、Stx17を発現抑制した際にリン酸化S637の量が著しく増加していたことから、Stx17はDrp1のS637の脱リン酸化を促進することによりミトコンドリアの分裂を制御していることが強く示唆された。さらに筆者らは、Stx17がラフト様構造のMAMにおいてRab32と結合すること、Stx17とともにRab32の発現抑制を行うとStx17の発現抑制により亢進したDrp1のS637のリン酸化レベルが低下することを見いだしており、Stx17はDrp1との相互作用を介してRab32-PKA依存的なDrp1のリン酸化を抑制することでDrp1の活性化を促進していることを明らかにした (図4; 栄養条件下)。

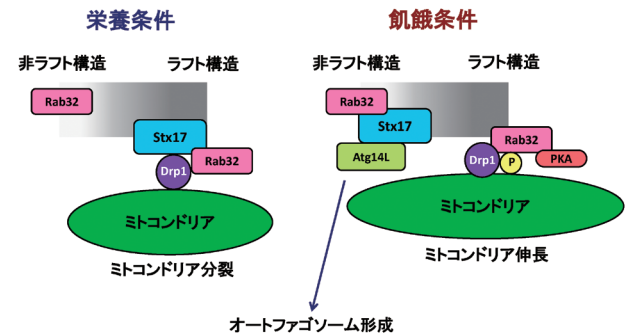


図4 栄養状態に応じたStx17の結合タンパク質および局在。栄養条件ではStx17はMAMのラフト様構造に局在し、Drp1と結合する。また、Rab32とも結合することにより、Rab32を介したPKAによるDrp1のリン酸化を抑制することでミトコンドリアの分裂を促進する。飢餓条件ではStx17は非ラフト構造においてAtg14Lと結合することによりオートファゴソーム形成を惹起する。一方、Stx17と解離したDrp1はPKAを介したリン酸化により失活し、その結果ミトコンドリアは伸長する。ミトコンドリアは伸長することにより、オートファゴソームに取り込まれることを回避する。さらに、伸長したミトコンドリアは分裂しているミトコンドリアよりも多くのATPを産生することで効率的なエネルギー供給を可能とする。

このように、Stx17は栄養条件においてDrp1と相互作用し、その活性化を制御することによりミトコンドリアの分裂に働くことが示された。しかしながら、栄養飢餓状態になるとStx17はAtg14との相互作用を介してオートファゴソーム形成を惹起し、その後にオートファゴソームとリソソームとの融合にSNAREとして働くタンパク質である<sup>15)</sup>。すなわち、Stx17は栄養状態に応じて二つの役割を担っていることになる。では、この二つの役割は独立した機能であるのか、それとも関連した機能であるのか、という問いが提起される。そこで、栄養条件および飢餓条件におけるStx17とその結合タンパク質との相互作用の状態を解析した。まずStx17とAtg14Lとの相互作用は、報告どおりに飢餓条件において亢進がみられた。一方、栄養条件で検出されたStx17とDrp1との相互作用は、飢餓条件において消失していた。さらに、飢餓条件ではStx17の局在がラフト様構造から非ラフト様構造へと移行していることも明らかとなった (図4; 飢餓条件下)。この結果は、Stx17が栄養状態に応答してその結合パートナーと機能を変換する分子スイッチとして振る舞っていることを示している (図5)。Lippincott-Schwartz博士らのグループは、細胞が飢餓状態に陥るとミトコンドリアが伸長することでオートファゴソームへの取り込みを回避していることを報告している<sup>28)</sup>。さらに、伸長したミトコンドリアは分裂したミトコンドリアよりも多くのATPを産生することで<sup>29)</sup>、飢餓時における効率的なエネルギー供給を可能としている。よって、飢餓条件下におけるStx17とDrp1の解離は、飢餓時にミトコンドリアが伸長するという現象の分子機構の一端であることを明らかにできたものと考えている。そして、これらの結果を2015年に*Developmental Cell*にて報告した<sup>30)</sup>。



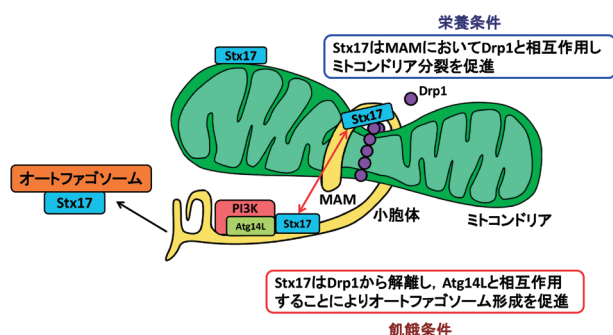


図5 栄養状態に応じた分子スイッチとしてのStx17の役割  
 栄養条件において、Stx17はDrp1との相互作用を介してDrp1を活性化し、ミトコンドリアの分裂に働く。一方、細胞が栄養飢餓に陥ると、Stx17は結合パートナーをDrp1からPI3K複合体の構成因子であるAtg14Lへと変換することでオートファゴソーム形成を促進する。また、オートファゴソームへと乗り込んだStx17はリソソームに局在するVAMP8と結合することにより、オートファゴソームとリソソームとの膜融合を触媒する。

#### 4. レジオネラ (*Legionella pneumophila*)

1976年、米国フィラデルフィアで開催されていた在郷軍人会において参加者や周辺住民が肺炎様の症状を併発した。そこで、抗生物質（当時、肺炎の治療に用いられていた薬剤）による治療が行われたが、顕著な効果が得られず罹患者の約15%が死亡する事態となった。その後、死亡した患者の肺より新種のグラム陰性桿菌が分離され、在郷軍人会（Legionnaire）にちなんで*Legionella pneumophila*と名づけられた。肺炎の原因菌としてのレジオネラの発見は1976年と比較的最近のことであるが、自然界では河川や土壌などに古くから存在している菌である。また、自然界においては、アメーバやタマホコリカビなどの原生生物を宿主としている。それゆえ、レジオネラが感染したアメーバやタマホコリカビなどが形成するバイオフィーム（微生物や原生生物など種々の生物の集合体により形成されるコロニー；例として、排水パイプのヌメリなど）を含む水源（温泉・循環風呂・空調装置）より発生するエアロゾルが感染の引き金となる。

肺に到達したレジオネラは、肺胞に存在するマクロファージにファゴサイトーシスを介して取り込まれ、*Legionella*-containing vacuole (LCV) と呼ばれる膜構造体を形成する。通常、ファゴサイトーシスとは細胞外の異物を取り込みリソソームへと輸送した後分解する機構であるが、レジオネラはLCVのリソソームへの輸送を遮断する<sup>31)</sup>。さらに、レジオネラはLCVに宿主細胞の小胞体より出芽した輸送小胞（ER小胞）を取り込み融合させる<sup>32)</sup>。その結果、LCVの膜組成がERGICやゴルジ体に近似した構造となり<sup>32)</sup>、この膜構造の変換によりLCVは小胞体と融合し、最終的にレジオネラは宿主小胞体内で増殖することで病原性を発揮する<sup>33)</sup>。そして、この一連の感染機構にはレジオネラが宿主細胞に対して放出する「レジオネラエフェクター」という多くのタンパク質群が必須であり、レ

ジオネラエフェクターはIV型分泌装置であるDot/Icm装置を介して分泌される<sup>34)</sup>。これまでの国内外の研究により多くのレジオネラエフェクターが同定されその機能が報告されてきたが、レジオネラエフェクターの歴史は2001年にRalFと呼ばれるレジオネラエフェクターが発見されたところから始まる。イエール大学のRoy博士らは野生型のレジオネラを含むLCV上でみられるArf1（細胞内小胞輸送に重要な役割を果たすGTPase）のリクルートがDot/Icm装置破壊株（*dotA*変異株）ではみられなくなるのを見だし<sup>35)</sup>、何らかのレジオネラエフェクターがArf1のリクルートに必要であると考えた。宿主細胞において、Arfタンパク質の局在化や活性化に重要な役割を果たす因子としてグアニンヌクレオチド交換因子（GEF）があり、この因子には生物種間（酵母から哺乳類）においてSec7ドメインという保存された領域が存在している<sup>35)</sup>。そこで、Roy博士らはデータベース検索を行い、Sec7と高い相同性を持つレジオネラエフェクターとしてRalFを見いだした<sup>35)</sup>。そして、RalF遺伝子破壊株を含むLCV上にArf1が集積しないことやRalFはArf1に対するGEF活性を有することを明らかにし<sup>35)</sup>、宿主細胞の生理機能を制御するレジオネラエフェクターの世界初の発見として報告した。そして、レジオネラエフェクターを中心とした研究が飛躍的に発展する。感染初期のLCVにER小胞がリクルートされることは前記したが、その過程においてレジオネラはLCV上にRab1（宿主細胞でER小胞をERGICやゴルジ体に繫留するGTPase）をリクルートしその機能を利用しており<sup>36)</sup>、DrrA（別名SidM）がLCV上におけるRab1のGEFとして同定されている<sup>37)</sup>。また、DrrAにはRab1にAMPを付加する活性（AMPylation活性）があり、AMPが付加したRab1はGTPからGDPへの加水分解が抑制されるので、結果的に活性化状態を維持できることになる<sup>38)</sup>。その後、レジオネラはSidDを用いてRab1からAMPを除去し、LepBを介してGTPからGDPへと加水分解することでRab1をLCV上から解離させていることが明らかになっている<sup>39,40)</sup>。さらに、AnkXと呼ばれるレジオネラエフェクターはRab1やRab35（リサイクリング経路に関与）にホスホコリンを付加することで、その機能を負に制御することも明らかとなっている<sup>41)</sup>。このように、レジオネラはレジオネラエフェクターを使い分けることによりきわめて巧妙に宿主小胞輸送機構を制御しているが、レジオネラエフェクターの制御する宿主生理機能は小胞輸送にとどまらず、オートファジー・アポトーシス・小胞体ストレス応答といった宿主防御機構にまで及ぶ。とりわけ、レジオネラはきわめてスマートな戦略を用いてオートファジーを制御する。

オートファジーは栄養飢餓時の栄養補填のみならず細胞内寄生菌の排除にも重要な役割を担っていることから、レジオネラとオートファジーの関連を解析する研究は精力的に行われてきた。しかしながら、「レジオネラはオートファジーを抑制する」といった報告が出てくる一方、「レジオネラは細胞内増殖のためにオートファジーを利用す

る」といった報告も出てくるなど、レジオネラとオートファジーの関連性は混沌とした状態であった。しかし、2011年にRoy博士らがRavZを発見したことにより、レジオネラがオートファジーを抑制することが決定的になった。ユビキチン様タンパク質であるAtg8はオートファゴソームへと局在化し、オートファゴソームの膜成分の供給や基質の取り込みを仲介する役割を担っている<sup>42)</sup>。通常、Atg8は細胞質に局在しているが、オートファジーが惹起されるとAtg7 (E1) とAtg3 (E2) に渡されることで、そのC末端領域にあるグリシン残基にホスファチジルエタノールアミン (PE) が付加される<sup>43)</sup>。PE化されたAtg8はオートファゴソームへと局在しその役割を発揮できる<sup>43)</sup>。その後、システインプロテアーゼであるAtg4の活性により脱PE化されることによりAtg8は再利用される<sup>44)</sup>。このAtg8のサイクルの過程において、システインプロテアーゼであるRavZはPE化したAtg8を特異的に認識し、PE化されるグリシン残基の上流を切断することで不可逆的にAtg8の機能を抑制する<sup>45)</sup>。

## 5. レジオネラとStx17

近年、MAMはウイルスや細菌感染の足場となっていることが明らかになりつつあり、レジオネラは小胞体内で増殖する細胞内発症型細菌である。それゆえ、筆者らはMAMにおいてミトコンドリア分裂やオートファジーなど種々の生理機能のプラットフォームとして働くStx17がレジオネラ感染に何らかの機能を担っていると考えた。そこで、レジオネラ感染がStx17の局在や機能に与える影響を観察したところ、驚くべきことに、レジオネラが感染している細胞においてStx17が分解されていることを見いだした (図6A)。また、この分解はレジオネラエフェクターが放出できない*dotA*変異株のレジオネラ感染ではみられないことから、何らかのレジオネラエフェクターがStx17の分解を担っていることが予測できる。そこで、Stx17を分解するレジオネラエフェクターの探索に着手し、本探索において強力なツールとなったのがisland欠損レジオネラ変異株である。宿主細胞に放出されるレジオネラエフェクターをコードする多くの遺伝子は、レジオネラゲノム上においてクラスター様の七つのislandにまとまって存在している<sup>46)</sup>。タフツ大学のIsberg博士らはレジオネラ増殖に必要な二つのislandを除く五つすべてのisland (island名: 2ab, 3, 4a, 6a, 7a) を欠損させた変異株 (pentuple変異体) および各々のislandを欠損させた変異体を樹立している<sup>46)</sup>。一つのislandにはおおむね15~30個のレジオネラエフェクターがコードされており、Stx17の分解が抑制されるisland欠損株があれば迅速かつ容易に責任分子を同定できる。これら変異株を用いた感染実験よりisland 2abの欠損株においてStx17の分解が抑制されていることを明らかにした。Island 2abには17種のレジオネラエフェクターがコードされていることから、各々のタンパク質を発現させ

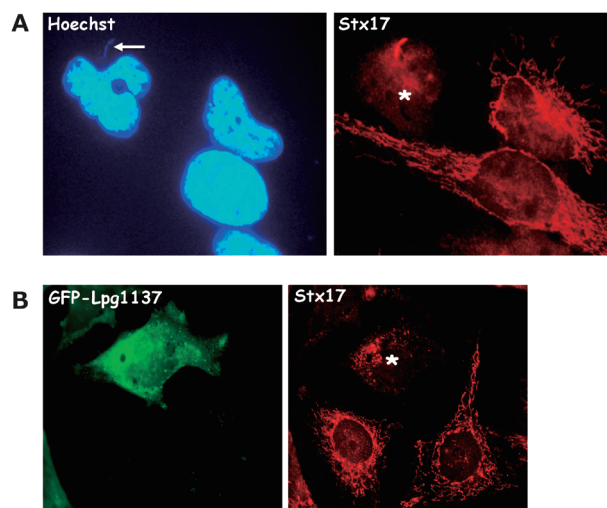


図6 レジオネラ感染やLpg1137の発現がStx17に与える影響 (A) レジオネラが感染している細胞において、Stx17は分解される。細胞にレジオネラを感染させ、DNA (左側: Hoechst) と内在性Stx17 (右側) を染色。矢印: 感染したレジオネラのDNA。アスタリスク: レジオネラが感染した細胞では、Stx17の蛍光シグナルが著しく減弱している。(B) レジオネラエフェクターLpg1137の発現によりStx17は分解される。GFP-Lpg1137を発現させた細胞のGFP (左側) および内在性Stx17 (右側) を検出。アスタリスク: Lpg1137を発現している細胞においてStx17の蛍光が消失する。

た細胞を解析することによりStx17の分解をつかさどるレジオネラエフェクターが同定できることが期待される。解析の結果、17種のレジオネラエフェクターのうちLpg1137を発現している細胞においてのみStx17の分解が検出された (図6B)。さらに、Lpg1137のORF内にトランスポゾン挿入し転写を阻害したレジオネラ変異体 (Lpg1137 TM) やLpg1137のノックアウトレジオネラ株の感染ではStx17の分解が抑制されることから、Lpg1137をStx17の分解に必須な因子として決定した。それでは、Lpg1137がどのような分子機構によりStx17を分解しているのか? また、Stx17を分解する生理的意義は何なのか?

細胞内における主なタンパク質分解機構としては、プロテアソームによる分解とプロテアーゼによる分解がある。そこで、各々の分解系の阻害がLpg1137によるStx17の分解に与える影響を評価した。MG132 (プロテアソーム阻害剤) 処理ではLpg1137によるStx17の分解への影響はみられなかった。一方、PMSF (セリンプロテアーゼ阻害剤) で処理を行った細胞ではStx17の分解が顕著に抑制されていることから、Lpg1137はStx17に対するセリンプロテアーゼであることが推測された。セリンプロテアーゼの活性中心に位置するセリン残基の周辺はGly-X-Ser-X-Gly/Alaのモチーフにより保存されていることが多く<sup>47)</sup>、Lpg1137の配列内にもこのモチーフに相当するセリン残基が2か所存在している (68番目と134番目)。これらセリン残基の変異体を作製し、Stx17の分解に対する影響を調べたところ、68番目のセリン変異体 (S68A) においてStx17分解活性が著しく低下していた。さらに、精製タンパク質を用い



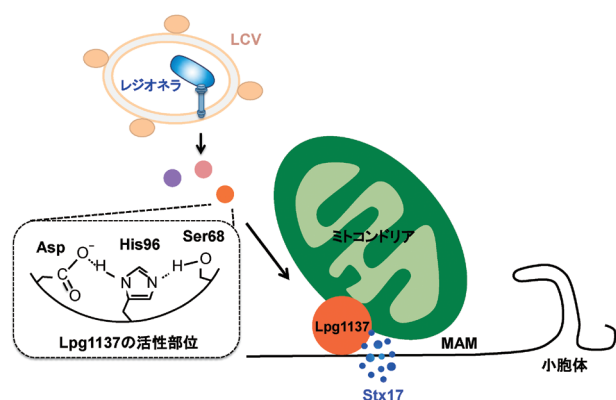


図7 Lpg1137によるStx17の分解機構

Dot/Icm装置を介して宿主細胞に分泌されたLpg1137はMAMへと局在化し、セリンプロテアーゼ活性によりStx17を分解する。Lpg1137がプロテアーゼ活性を発揮するためにはLpg1137の68番目のセリンが必須である。また、96番目のヒスチジンは活性部位において重要な残基であることが示唆されている。

た解析によりLpg1137がStx17を直接的に分解していること、Lpg1137がMAMにも豊富に存在していることを明らかにした。これらの結果は、Lpg1137がMAMに局在するStx17を認識し、プロテアーゼ活性により分解していることを示している（図7）。このことは、MAMに局在できないStx17 K254変異体はLpg1137と結合せず、また分解からも逃れていることから示された。

レジオネラがRavZを用いてオートファジーを阻害することは前述したが<sup>45)</sup>、RavZを欠損させた変異株を感染させた細胞においてオートファジー活性は抑制されたままである<sup>45)</sup>。すなわち、レジオネラはRavZ以外にもオートファジーを抑制するレジオネラエフェクターを保有していることを意味している。事実、sphingosine-1-phosphate lyase (LpSpl) と呼ばれるレジオネラエフェクターもオートファジーを抑制していることが報告された<sup>48)</sup>。Stx17はオートファジーにおいて重要な因子であることから、Lpg1137によるStx17の分解がオートファジーに与える影響を評価した。野生型のLpg1137を発現している細胞では飢餓誘導に伴うLC3（酵母Atg8の哺乳類ホモログ）の脂質化およびpuncta形成が著しく抑制された一方、S68A変異体の発現ではこの抑制効果はみられなかった。さらに、野生型のLpg1137はAtg14LやDFCP1のpuncta形成も抑制していることから、Lpg1137はStx17を分解することにより隔離膜形成の段階から阻害していることが明らかとなった。よって、レジオネラはRavZ・LpSpl・Lpg1137の三つのレジオネラエフェクターを利用することで多角的にオートファジーを抑制していることになるが、Lpg1137がStx17を分解する生理的意義はオートファジー抑制のみなのか？

筆者らは、栄養条件におけるStx17の役割としてミトコンドリアの分裂制御を見いだしている。それゆえ、レジオネラがStx17を分解することにより本機能を阻害することが、レジオネラ感染に何らかのメリットをもたらすことが

考えられる。そこで注目した現象がアポトーシスである。アポトーシスはウイルス・病原菌感染と密接に関わっており、感染細胞の防衛システムとしての最後の砦が病原菌を巻き込んだ自死である。しかしながら、レジオネラが感染した細胞はアポトーシスへの抵抗性を示すことが明らかになっている<sup>49)</sup>。アポトーシスの促進には複数の経路が存在しているが、その中でも代表的なものがミトコンドリアからのチトクロムc放出を介したカスパーゼカスケードの活性化である<sup>50)</sup>。この経路ではBaxと呼ばれるタンパク質が重要な役割を担っており、アポトーシスの刺激に伴いBaxはサイトゾルからミトコンドリア外膜へリクルートされた後にオリゴマー化することでミトコンドリア外膜にポアを形成しチトクロムcの放出を促す<sup>51)</sup>。

また、Baxのミトコンドリア外膜へのリクルートにおいて、Baxはミトコンドリアの分裂部位（すなわちMAM）にDrp1の活性依存的にリクルートされることが近年の研究により明らかとなっている<sup>52)</sup>。そこで、Lpg1137の発現がBaxにより仲介されるアポトーシスに与える影響を解析した。スタウロスポリン（STS）はBax依存的なアポトーシスを惹起する薬剤であり、細胞をSTSにより刺激すると(I)染色体の凝集、(II)細胞質へのチトクロムc放出(III)切断型（活性化型）カスパーゼ3の出現といったアポトーシスを示すインデックスが増加する。しかしながら、Lpg1137を発現している細胞ではSTS処理を行ってもこれらインデックスの増加は検出されなかった。一方、Lpg1137 S68A変異体の発現細胞にSTS処理を行った場合、コントロールの細胞と同じレベルでのインデックス上昇が認められた。また、Lpg1137 TMを感染させた細胞では野生型のレジオネラ感染でみられるアポトーシス抵抗性が有意に低下していることから、Lpg1137はStx17を分解することによりオートファジーに加えてアポトーシスも阻害していることが推測される（図8）。このことは、Stx17にはオートファジーやミトコンドリア分裂制御に加えてアポトーシス促進活性もあることを示しており、事実、Stx17を発現抑制した細胞はSTSにより誘導されるアポトーシスに対して強い抵抗性を示すようになる。さらに、STS刺激により促進されるBaxのミトコンドリア分裂部位へのリクルートがStx17の発現抑制により著しく抑制されていた。レジオネラ感染細胞がアポトーシスに抵抗性を示すことは前述しているが<sup>49)</sup>、そこに関わるレジオネラエフェクターや具体的な分子機構は不明であった。筆者らの本研究はレジオネラによるアポトーシス抑制機構およびStx17のアポトーシスへの関与という新たな機能を明らかにした点において重要な研究であると考えており、2017年の*Nature Communications*で報告した<sup>53)</sup>。

## 6. おわりに

筆者らは、オートファジー関連SNAREタンパク質として報告されたStx17のオートファジー以外の役割を見いだ

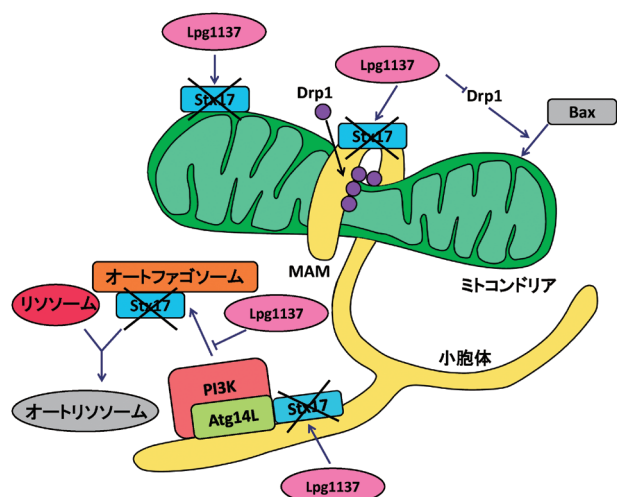


図8 Lpg1137によるStx17の分解が宿主防御機構に与える影響  
Lpg1137はStx17を分解することにより、Stx17-Atg14Lの反応を消失させる。その結果、PI3Kの活性化に伴うオートファゴソーム形成を阻害する。さらに、Stx17が分解されることによりDrp1の活性が抑制され、アポトーシス誘導下におけるDrp1活性依存的なBaxのミトコンドリア分裂部位へのリクルートが阻害される。その結果、ミトコンドリアからのチトクロムcの放出が抑制されアポトーシスの進行が阻害される。

すところから本研究に着手し、Stx17の栄養条件における局在やミトコンドリアの分裂制御への役割を発見した<sup>30)</sup>。さらに、レジオネラがLpg1137を用いてStx17を分解することで、オートファジーのみならずアポトーシスも抑制していることを見だし、レジオネラ感染を通じてStx17の新しい機能の発見に成功した<sup>53)</sup>。しかしながら、解決しなくてはならない課題が引き続き残されている。Stx17は栄養状態に応じてDrp1もしくはAtg14Lと結合することにより、ミトコンドリア分裂やオートファゴソーム形成に働くが、栄養状態に依存した結合パートナーの変換がどのような分子機構により仲介されているのかを明らかにすることはStx17の機能を理解する上できわめて重要となる。筆者らはStx17と結合するタンパク質の網羅的解析を行い、微小管関連タンパク質であるMAP1B-LC1 (LC1) を候補分子として同定している。興味深いことに、LC1を発現抑制すると栄養条件に関わらずオートファゴソーム形成が促進される (Stx17とAtg14Lとの相互作用も促進) 一方、LC1の過剰発現は飢餓条件でのオートファゴソーム形成を阻害する。また、飢餓誘導に伴いStx17はLC1から解離することも見だしており、栄養状態におけるStx17の役割はLC1との相互作用によって制御されている可能性が示唆されている。現在、この可能性を実証する解析を行っている。

Lpg1137においては、局在化の分子機構を明らかにすることが重要であると考えている。Lpg1137を発現した細胞を用いて分画を行うと、Lpg1137はMAM画分に豊富に検出される<sup>53)</sup>。ここで大切なポイントは「Stx17はLpg1137の発現により分解されている」ということである。もし、Lpg1137がStx17との結合を介してMAMなどに局在して

いるとしたらStx17の分解後は細胞質に分散すると考えられる。しかし、Stx17の分解後もLpg1137はMAMにとどまっていることから、Lpg1137にはMAMを標的化できるドメインが存在している可能性が考えられる。

多くのレジオネラエフェクターは、脂質結合ドメインを介して標的膜へと局在化していることが明らかになっている<sup>54)</sup>。よって、今後はLpg1137と親和性のある脂質の同定を試みる。なお、MAM脂質に対するよいバイオプローブは存在しておらず、もしMAMを標的化できるLpg1137の脂質結合領域を同定できればMAMに対する新規バイオプローブへの応用も期待される。

## 謝辞

本研究を遂行するにあたり、東京薬科大学生命科学部・多賀谷光男教授に多大なご指導・ご助言を賜りました。この場をかりて深くお礼申し上げます。また、サポートをしていただいた多くの先生方、仲間、学生の皆様にも深く感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) Bonifacino, J.S. & Glick, B.S. (2004) The mechanisms of vesicle budding and fusion. *Cell*, **116**, 153–166.
- 2) Allan, V.J. & Schroer, T.A. (1999) Membrane motors. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **11**, 476–482.
- 3) Simmen, T. & Tagaya, M. (2017) Organelle Communication at Membrane Contact Sites (MCS): From Curiosity to Center Stage in Cell Biology and Biomedical Research. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **997**, 1–12.
- 4) Appenzeller-Herzog, C. & Simmen, T. (2016) ER-luminal thiol/selenol-mediated regulation of  $\text{Ca}^{2+}$  signalling. *Biochem. Soc. Trans.*, **44**, 452–459.
- 5) Hayashi, T. & Su, T.P. (2007) Sigma-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate  $\text{Ca}^{2+}$  signaling and cell survival. *Cell*, **131**, 596–610.
- 6) Sano, R., Annunziata, I., Patterson, A., Moshiah, S., Gomero, E., Opferman, J., Forte, M., & d'Azzo, A. (2009) GM1-ganglioside accumulation at the mitochondria-associated ER membranes links ER stress to  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent mitochondrial apoptosis. *Mol. Cell*, **36**, 500–511.
- 7) Eura, Y., Ishihara, N., Yokota, S., & Mihara, K. (2003) Two mitofusin proteins, mammalian homologues of FZO, with distinct functions are both required for mitochondrial fusion. *J. Biochem.*, **134**, 333–344.
- 8) de Brito, O.M. & Scorrano, L. (2008) Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature*, **456**, 605–610.
- 9) Paillard, M., Tubbs, E., Thiebaut, P.A., Gomez, L., Fauconnier, J., Da Silva, C.C., Teixeira, G., Mewton, N., Belaidi, E., Durand, A., et al. (2013) Depressing mitochondria-reticulum interactions protects cardiomyocytes from lethal hypoxia-reoxygenation injury. *Circulation*, **128**, 1555–1556.
- 10) Iwasawa, R., Mahul-Mellier, A.L., Datler, C., Pazarentzos, E., & Grimm, S. (2011) Fis1 and Bap31 bridge the mitochondria-ER interface to establish a platform for apoptosis induction. *EMBO J.*, **30**, 556–568.
- 11) Stoica, R., De Vos, K.J., Paillusson, S., Mueller, S., Sancho, R.M., Lau, K.F., Vizcay-Barrena, G., Lin, W.L., Xu, Y.F., Lewis, J., et al. (2014) ER-mitochondria associations are regulated by



- the VAPB-PTPIP51 interaction and are disrupted by ALS/FTD-associated TDP-43. *Nat. Commun.*, **5**, 3996.
- 12) Simmen, T., Aslan, J.E., Blagoveshchenskaya, A.D., Thomas, L., Wan, L., Xiang, Y., Feliciangeli, S.F., Hung, C.H., Crump, C.M., & Thomas, G. (2005) PACS-2 controls endoplasmic reticulum-mitochondria communication and Bid-mediated apoptosis. *EMBO J.*, **24**, 717–729.
  - 13) Myhill, N., Lynes, E.M., Nanji, J.A., Blagoveshchenskaya, A.D., Fei, H., Carmine Simmen, K., Cooper, T.J., Thomas, G., & Simmen, T. (2008) The subcellular distribution of calnexin is mediated by PACS-2. *Mol. Biol. Cell*, **19**, 2777–2788.
  - 14) Steegmaier, M., Oorschot, V., Klumperman, J., & Scheller, R.H. (2000) Syntaxin 17 is abundant in steroidogenic cells and implicated in smooth endoplasmic reticulum membrane dynamics. *Mol. Biol. Cell*, **11**, 2719–2731.
  - 15) Hamasaki, M., Furuta, N., Matsuda, A., Nezu, A., Yamamoto, A., Fujita, N., Oomori, H., Noda, T., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., et al. (2013) Autophagosomes form at ER-mitochondria contact sites. *Nature*, **495**, 389–393.
  - 16) Sun, Q., Fan, W., Chen, K., Ding, X., Chen, S., & Zhong, Q. (2008) Identification of Barkor as a mammalian autophagy-specific factor for Beclin 1 and class III phosphatidylinositol 3-kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 19211–19216.
  - 17) Itakura, E., Kishi-Itakura, C., & Mizushima, N. (2012) The hairpin-type tail-anchored SNARE syntaxin 17 targets to autophagosomes for fusion with endosomes/lysosomes. *Cell*, **151**, 1256–1269.
  - 18) Olichon, A., Baricault, L., Gas, N., Guillou, E., Valette, A., Belenguer, P., & Lenaers, G. (2003) Loss of OPA1 perturbs the mitochondrial inner membrane structure and integrity, leading to cytochrome c release and apoptosis. *J. Biol. Chem.*, **278**, 7743–7746.
  - 19) Yoon, Y., Pitts, K.R., Dahan, S., & McNiven, M.A. (1998) A human dynamin-related protein controls the distribution of mitochondria. *J. Cell Biol.*, **140**, 779–793.
  - 20) Smirnova, E., Griparic, L., Shurland, D.L., & van der Bliek, A.M. (2001) Dynamin-related protein **Drp1** is required for mitochondrial division in mammalian cells. *Mol. Biol. Cell*, **12**, 2245–2256.
  - 21) Friedman, J.R., Lackner, L.L., West, M., DiBenedetto, J.R., Nunnari, J., & Voeltz, G.K. (2011) ER tubules mark sites of mitochondrial division. *Science*, **334**, 358–362.
  - 22) Legros, F., Lombès, A., Frachon, P., & Rojo, M. (2002) Mitochondrial fusion in human cells is efficient, requires the inner membrane potential, and is mediated by mitofusins. *Mol. Biol. Cell*, **13**, 4343–4354.
  - 23) Otera, H., Wang, C., Cleland, M.M., Setoguchi, K., Yokota, S., Youle, R.J., & Mihara, K. (2010) Mff is an essential factor for mitochondrial recruitment of Drp1 during mitochondrial fission in mammalian cells. *J. Cell Biol.*, **191**, 1141–1158.
  - 24) Palmer, C.S., Osellame, L.D., Laine, D., Koutsopoulos, O.S., Frazier, A.E., & Ryan, M.T. (2011) MiD49 and MiD51, new components of the mitochondrial fission machinery. *EMBO Rep.*, **12**, 565–573.
  - 25) Yoon, Y., Krueger, E.W., Oswald, B.J., & McNiven, M.A. (2003) The mitochondrial protein hFis1 regulates mitochondrial fission in mammalian cells through an interaction with the dynamin-like protein DLP1. *Mol. Cell Biol.*, **23**, 5409–5420.
  - 26) Cereghetti, G.M., Stangherlin, A., Martins de Brito, O., Chang, C.R., Blackstone, C., Bernardi, P., & Scorrano, L. (2008) De-phosphorylation by calcineurin regulates translocation of Drp1 to mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 15803–15808.
  - 27) Bui, M., Gilady, S.Y., Fitzsimmons, R.E., Benson, M.D., Lynes, E.M., Gesson, K., Alto, N.M., Strack, S., Scott, J.D., & Simmen, T. (2010) Rab32 modulates apoptosis onset and mitochondria-associated membrane (MAM) properties. *J. Biol. Chem.*, **285**, 31590–31602.
  - 28) Rambold, A.S., Kostecky, B., Elia, N., & Lippincott-Schwartz, J. (2011) Tubular network formation protects mitochondria from autophagosomal degradation during nutrient starvation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 10190–10195.
  - 29) Gomes, L.C., Di Benedetto, G., & Scorrano, L. (2011) During autophagy mitochondria elongate, are spared from degradation and sustain cell viability. *Nat. Cell Biol.*, **13**, 589–798.
  - 30) Arasaki, K., Shimizu, H., Mogari, H., Nishida, N., Hirota, N., Furuno, A., Kudo, Y., Baba, M., Baba, N., Cheng, J., et al. (2015) A role for the ancient SNARE syntaxin 17 in regulating mitochondrial division. *Dev. Cell*, **32**, 304–317.
  - 31) Horwitz, M.A. (1983) The Legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) inhibits phagosome-lysosome fusion in human monocytes. *J. Exp. Med.*, **58**, 2108–2126.
  - 32) Kagan, J.C. & Roy, C.R. (2002) *Legionella* phagosomes intercept vesicular traffic from endoplasmic reticulum exit sites. *Nat. Cell Biol.*, **4**, 945–954.
  - 33) Robinson, C.G. & Roy, C.R. (2006) Attachment and fusion of endoplasmic reticulum with vacuoles containing *Legionella pneumophila*. *Cell. Microbiol.*, **8**, 793–805.
  - 34) Nagai, H. & Roy, C.R. (2001) The DotA protein from *Legionella pneumophila* is secreted by a novel process that requires the **Dot/Icm** transporter. *EMBO J.*, **20**, 5962–5970.
  - 35) Nagai, H., Kagan, J.C., Zhu, X., Kahn, R.A., & Roy, C.R. (2002) A bacterial guanine nucleotide exchange factor activates ARF on *Legionella* phagosomes. *Science*, **295**, 679–682.
  - 36) Kagan, J.C., Stein, M.P., Pypaert, M., & Roy, C.R. (2004) *Legionella* subvert the functions of Rab1 and Sec22b to create a replicative organelle. *J. Exp. Med.*, **199**, 1201–1211.
  - 37) Murata, T., Delprato, A., Ingmundson, A., Toomre, D.K., Lambright, D.G., & Roy, C.R. (2006) The *Legionella pneumophila* effector protein DrrA is a Rab1 guanine nucleotide-exchange factor. *Nat. Cell Biol.*, **8**, 971–977.
  - 38) Müller, M.P., Peters, H., Blümer, J., Blankenfeldt, W., Goody, R.S., & Itzen, A. (2010) The *Legionella* effector protein DrrA AMPylates the membrane traffic regulator Rab1b. *Science*, **329**, 946–949.
  - 39) Neunuebel, M.R., Chen, Y., Gaspar, A.H., Backlund, P.S. Jr., Yergey, A., & Machner, M.P. (2011) De-AMPylation of the small GTPase Rab1 by the pathogen *Legionella pneumophila*. *Science*, **333**, 453–456.
  - 40) Ingmundson, A., Delprato, A., Lambright, D.G., & Roy, C.R. (2007) *Legionella pneumophila* proteins that regulate Rab1 membrane cycling. *Nature*, **450**, 365–369.
  - 41) Mukherjee, S., Liu, X., Arasaki, K., McDonough, J., Galán, J.E., & Roy, C.R. (2011) Modulation of Rab GTPase function by a protein phosphocholine transferase. *Nature*, **477**, 103–106.
  - 42) Kirisako, T., Baba, M., Ishihara, N., Miyazawa, K., Ohsumi, M., Yoshimori, T., Noda, T., & Ohsumi, Y. (1999) Formation process of autophagosome is traced with Apg8/Aut7p in yeast. *J. Cell Biol.*, **147**, 435–436.
  - 43) Ichimura, Y., Kirisako, T., Takao, T., Satomi, Y., Shimonishi, Y., Ishihara, N., Mizushima, N., Tanida, I., Kominami, E., Ohsumi, M., et al. (2000) A ubiquitin-like system mediates protein lipidation. *Nature*, **408**, 488–492.
  - 44) Kirisako, T., Ichimura, Y., Okada, H., Kabeya, Y., Mizushima, N., Yoshimori, T., Ohsumi, M., Takao, T., Noda, T., & Ohsumi, Y. (2000) The reversible modification regulates the membrane-

- binding state of Apg8/Aut7 essential for autophagy and the cytoplasm to vacuole targeting pathway. *J. Cell Biol.*, **151**, 263–276.
- 45) Choy, A., Dancourt, J., Mugo, B., O'Connor, T.J., Isberg, R.R., Melia, T.J., & Roy, C.R. (2012) The *Legionella* effector RavZ inhibits host autophagy through irreversible Atg8 deconjugation. *Science*, **338**, 1072–1076.
- 46) O'Connor, T.J., Adepoju, Y., Boyd, D., & Isberg, R.R. (2011) Minimization of the *Legionella pneumophila* genome reveals chromosomal regions involved in host range expansion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 14733–14740.
- 47) Jonassen, I., Eidhammer, I., & Taylor, W.R. (1999) Discovery of local packing motifs in protein structures. *Proteins*, **34**, 206–219.
- 48) Rolando, M., Escoll, P., Nora, T., Botti, J., Boitez, V., Bedia, C., Daniels, C., Abraham, G., Stogios, P.J., Skarina, T., et al. (2016) *Legionella pneumophila* S1P-lyase targets host sphingolipid metabolism and restrains autophagy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 1901–1906.
- 49) Banga, S., Gao, P., Shen, X., Fiscus, V., Zong, W.X., Chen, L., & Luo, Z.Q. (2007) *Legionella pneumophila* inhibits macrophage apoptosis by targeting pro-death members of the Bcl2 protein family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 5121–5126.
- 50) Liu, X., Kim, C.N., Yang, J., Jemmerson, R., & Wang, X. (1996) Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c. *Cell*, **86**, 147–157.
- 51) Annis, M.G., Soucie, E.L., Dlugosz, P.J., Cruz-Aguado, J.A., Penn, L.Z., Leber, B., & Andrews, D.W. (2005) Bax forms multi-spanning monomers that oligomerize to permeabilize membranes during apoptosis. *EMBO J.*, **24**, 2096–2103.
- 52) Prudent, J., Zunino, R., Sugiura, A., Mattie, S., Shore, G.C., & McBride, H.M. (2015) MAPL SUMOylation of Drp1 Stabilizes an ER/Mitochondrial Platform Required for Cell Death. *Mol. Cell*, **59**, 941–955.
- 53) Arasaki, K., Mikami, Y., Shames, S.R., Inoue, H., Wakana, Y., & Tagaya, M. (2017) *Legionella* effector Lpg1137 shuts down ER-mitochondria communication through cleavage of syntaxin 17. *Nat. Commun.*, **8**, 15406.
- 54) Haneburger, I. & Hilbi, H. (2013) Phosphoinositide lipids and the *Legionella* pathogen vacuole. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **376**, 155–173.

## 著者寸描

### ●新崎 恒平 (あらさき こうへい)



東京薬科大学生命科学部准教授。生命科学博士。

■略歴 2006年東京薬科大学大学院生命科学研究科博士課程修了。07年Yale大学医学部博士研究員。11年東京薬科大学生命科学部助教。15年同講師。18年現職。

■研究テーマと抱負 小胞体-ミトコンドリア接触部位 (MAM) における syntaxin 17 の役割。Syntaxin 17 のMAM

における多彩な生理機能の全体像を解明するために、これからの研究に励んで行きたい。

■ウェブサイト <http://www.toyaku.ac.jp/~lmcb-6/>

■趣味 スポーツ観戦 (サッカー、野球など)。