

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	小池 雅昭
論文題目	神経変性疾患に関与する VCP の翻訳後修飾とその機能解析		
(論文内容の要旨)			
<p>アルツハイマー病、パーキンソン病、ポリグルタミン病など、多くの神経変性疾患では、変性タンパク質の蓄積、神経細胞の萎縮や脱落といった共通の病理像が観察される。それぞれ原因遺伝子は異なるが、非常に似た病理像を示すことより共通の分子機構の存在を考えることができる。申請者の属する研究室では、これまでに AAA ファミリーに属する ATPase である VCP が神経変性疾患に関与することを生化学的、また遺伝学的実験を用いて示してきた。しかし、VCP がどのように神経変性疾患に関与するのかについての詳細なメカニズムは不明であった。</p> <p>本論文では、第一章において、VCP が神経変性疾患で観察される変性タンパク質蓄積時に特異的なリン酸化とアセチル化の翻訳後修飾を受けることを示した。翻訳後修飾を模倣した VCP のアミノ酸置換体 (修飾模倣 VCP) は核移行し、ヒストンの脱アセチル化を伴う転写抑制を介して、新規タンパク質合成の抑制を担っていることを示した。さらに、VCP の核移行を抑制することによって、ポリグルタミンによるヒストンのアセチル化の低下、神経細胞萎縮、細胞変性を軽減できること明らかにした。これらの結果は、変性タンパク質蓄積時には、転写を抑制してタンパク質合成を抑制するというフィードバック機構の存在を示しており、さらに、その機構に VCP が関与していること、また、神経変性疾患ではそのフィードバック機構が過剰に作用するために、神経萎縮などの病態が誘導されることを示している。</p> <p>第二章においては、異常タンパク質の蓄積によって誘導される修飾模倣 VCP がフォスファターゼタンパク質 PP2A と結合し、PP2A のフォスファターゼ活性を抑制することを示した。そして、この PP2A 活性抑制がヒストン H3 の 10 番目のセリンのリン酸化の亢進を引き起こし、第一章で明らかにしたヒストンのアセチル化の低下を誘導することを明らかにした。また PP2A を活性化することで、修飾模倣 VCP、または、ポリグルタミンによる培養神経細胞の萎縮を軽減できることを示した。これらの結果は、異常タンパク質蓄積時に誘導される VCP の翻訳後修飾による PP2A 不活性化が、転写抑制の 1 つの分子機構であることを示唆している。また、この PP2A の抑制が、アルツハイマー病で観察されるリン酸化タウの蓄積、パーキンソン病での α シヌクレインのリン酸化、筋萎縮性側索硬化症での TDP-43 のリン酸化など、異常タンパク質のリン酸化に関わっている可能性を示唆している。</p> <p>第三章においては、HEK293 細胞を飢餓条件下で培養すると VCP がビメンチンと会合し、太い線維状の構造物 (VCP-fiber) を形成することを示した。さらに、飢餓条件下における VCP-fiber の形成を阻害すると、細胞内 ATP の枯渇、そして細胞死が引き起こされることを示し、飢餓条件下における細胞内 ATP の維持機構として、細胞内の主要な ATPase である VCP の構造変化による調節機構の存在を示した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、AAA (ATPase associated with diverse cellular activities)ファミリーの ATPase である VCP (valosin-containing protein)の神経変性疾患発症における役割について詳細な解析を行い、これまでに全く知られていなかった VCP の機能の幾つかを明らかにしたものである。

申請者の所属している研究室では、これまでに、神経変性疾患の発症には異常な折り畳みをしたタンパク質(変性タンパク質)の蓄積が密接に関与することを明らかにしてきた。さらに、そのような変性タンパク質を認識し、神経細胞変性や細胞死を実行する分子として VCP を同定していた。しかしながら、VCP がどのように神経変性疾患に関わっているのかについての具体的な分子機構は未解明であった。

申請者は、ポリグルタミンに代表される変性タンパク質が蓄積した細胞では、通常細胞質に存在する VCP が核移行していることに気づき、そのような細胞から VCP を精製し、LC/MS/MS を用いた解析を行った。その結果、VCP の 612 番目のセリンと 613 番目のスレオニンがリン酸化をそして 614 番目のリジンがアセチル化を受けることを見いだした。続いて、これらのアミノ酸修飾の意義を調べるために修飾を模倣するアミノ酸置換体(修飾模倣体 VCP)を構築し、培養神経細胞に発現させその表現型を解析した。その結果、修飾模倣体 VCP が核移行し、神経突起の退縮・神経萎縮を引き起こすことを見いだした。この時、ヒストンの脱アセチル化を伴う転写の抑制が起こり、それが長期間持続することで、細胞全体でのタンパク質の合成抑制を引き起こしていることを明らかにした。これらの結果は、異常タンパク質の蓄積に対する新たなフィードバック機構の存在を解明したものであり、さらに、このフィードバック機構の過剰応答によって神経変性が引き起こされていることを示したもので、神経変性疾患発症に関与する VCP の新たな機能を解明した、極めて独創性の高い研究である。

さらに、申請者は、ヒストンのアセチル化の低下が引き起こされる分子メカニズムとして、修飾模倣体 VCP の結合によるフォスファターゼ PP2A の活性抑制を示した。即ち、この PP2A 活性抑制がヒストン H3 の Ser10 のリン酸化の亢進とヒストンアセチル化レベルの低下を誘導すること、逆に PP2A を活性化することで、修飾模倣体 VCP 及びポリグルタミンによる培養神経細胞の萎縮を軽減できることを示した。一方、この変異タンパク質の蓄積時にひきおこされる PP2A の不活性化は、アルツハイマー病で観察されるリン酸化タウの蓄積、パーキンソン病での α シヌクレインのリン酸化、筋萎縮性側索硬化症での TDP-43 のリン酸化などにも関わっている可能性があり、本研究結果は、VCP が引き起こす転写抑制機構の解明のみならず、神経変性疾患で蓄積が観察されるリン酸化タンパク質の成因の解明にも寄与する可能性を含む発見である。

一方、申請者は、VCP が関わる新たな ATP の維持機構も明らかにした。培養 HEK293 細胞を飢餓状態にすると VCP がビメンチン陽性の太い線維状の構造物を形成することを見いだし、これを VCP-fiber と命名した。ビメンチンをノックダウンした細胞では、飢餓時にも VCP-fiber が形成されず、その時、細胞内の ATP 量の急激な減少と細胞死が引き起こされることを見いだした。即ち、本研究結果は、細胞が飢餓状態になった場合、細胞内の主要な ATPase の構造変化を誘導することで、細胞内の ATP 消費を抑制する分子機構の存在を示している。

本論文は、細胞内の主要な ATPase である VCP の詳細な機能解析の結果、VCP による新たなタンパク質合成抑制のフィードバック機構、脱リン酸化酵素の活性抑制機構、細胞内 ATPase の維持機構を解明したもので、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。また、平成 22 年 8 月 2 日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公開可能日：2012 年 3 月 31 日