

氏名	の ぐち まさ かつ 野 口 昌 克
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学位記番号	生 博 第 74 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	生命科学 研究科 高次生命科学 専攻
学位論文題目	神経変性疾患の発症機構における VCP の役割

(主査)
論文調査委員 教授 垣塚 彰 教授 西田 栄介 教授 米原 伸

論 文 内 容 の 要 旨

VCP は、AAA (ATPases associated with diverse cellular activities) ファミリーに属する蛋白質で、膜融合や蛋白質分解に関与している。当研究室では、ポリグルタミン病をモデルとして、多くの神経変性疾患の発症において、異常蛋白質を認識し、細胞障害および細胞死を誘導する蛋白質として VCP を同定した。さらに最近、細胞内凝集体を伴う家族性筋ミオパチーの一群である IBMPFD (Inclusion body myopathy associated with Paget disease of bone and frontotemporal dementia) の原因遺伝子として VCP が同定された。ATPase 活性を失った変異体 VCP は、ユビキチン化蛋白質の蓄積や細胞質の空胞、細胞死を誘導する。この観察像が神経変性疾患の病理像と共通点をもつことから、病理的な状況における VCP の ATP 分解活性の制御機構を解析することが神経変性疾患の発症機構の解明にとって重要であると考えられた。

第一章

VCP の ATPase 活性を制御する機構の解析を行い、(1) VCP の ATPase 活性が、活性酸素/窒素種によって低下すること、(2) 活性酸素/窒素種による VCP の活性制御が、522番目のシステイン残基の酸化修飾によって担われていること、(3) 細胞内においても、活性酸素種の発生によって VCP の ATPase 活性は低下すること、(4) 過剰な活性酸素種は、VCP の機能低下を介して、小胞体の機能障害を引き起こすこと、さらに、(5) 酵母を用いた *in vivo* の実験で、活性酸素種による VCP の酸化修飾が細胞死を誘導することを示した。以上の結果から、VCP が活性酸素/窒素種の重要なターゲットの一つであり、活性酸素/窒素種による VCP の ATPase 活性の低下が、細胞障害および細胞死を引き起こすことが示唆された。活性酸素/窒素種は以前から神経変性疾患の発症に関与していることが指摘されており、VCP がその標的蛋白質の一つの候補であることが示唆される。

第二章

IBMPFD では、細胞内において細胞質の空胞や蛋白質凝集体が観察される。これらの病理像が、ATPase 活性を失った変異体 VCP が引き起こす細胞障害と共通点を持つことから、変異体 VCP の ATPase 活性は低下していることが推測された。IBMPFD で見いだされた変異体 VCP の解析を行い、以下の点を明らかにした。(1) IBMPFD で見つかった変異体 VCP の活性を測定したところ、すべての変異体の ATPase 活性が亢進していた。(2) IBMPFD の変異体 VCP は、プロテアソーム阻害剤によって誘導されるユビキチン化蛋白質の凝集体の形成を促進していた。さらに、(3) IBMPFD の変異体 VCP はポリグルタミンの凝集体の形成も促進した。(4) 一方、ATPase 活性の失った変異体 VCP では凝集体の形成は抑制された。以上の結果から、IBMPFD は、VCP の活性が低下したためではなく、活性が亢進した変異体 VCP によって凝集体形成が促進されたために病理像を引き起こしていることが示唆された。

以上、本研究では、VCP の ATPase 活性の制御機構および凝集体形成における VCP の役割について解析を行い、VCP の ATPase 活性が細胞内で厳密に制御されており、その破綻が細胞障害死を誘導する可能性を明らかにした。

論文審査の結果の要旨

パーキンソン病、アルツハイマー病やポリグルタミン病など多くの神経変性疾患に共通して罹患部位の神経細胞内に異常蛋白質の凝集体が観察されている。このことから、多くの神経変性疾患の発症において、異常な蛋白質凝集体が細胞障害および細胞死を誘導することが共通する分子機構と考えられている。しかしながら、神経変性疾患の詳細な発症機構ははまだ解明されておらず、そのため根本的な治療法も確立されていない。VCPは、申請者の属する研究室において、神経変性疾患の発症において異常蛋白質を認識し、細胞障害および細胞死を誘導する蛋白質の候補として同定され、多くの神経変性疾患の蛋白質凝集体に共局在していることが見出されている蛋白質である。さらにVCPは、細胞内凝集体を伴う家族性筋ミオパチーの一群であるIBMPFD (Inclusion body myopathy associated with Paget disease of bone and frontotemporal dementia) の原因遺伝子としても同定され、異常な蛋白質凝集体に共局在していることが病理像として観察されている。

VCPは、AAA (ATPases associated with diverse cellular activities) ファミリーに属する蛋白質でATPase活性を持っており、さまざまなコファクターと共に膜融合や蛋白質分解などに関与していることが明らかになってきた。一方、ATPase活性を失った変異体VCPを細胞に発現させると、細胞質の空胞形成や蛋白質分解機構の障害が引き起こされ、最終的に細胞死が誘導される。これらの知見から、VCPのATPase活性の制御機構、および神経変性疾患でみられる蛋白質凝集体の形成におけるVCPの役割を解析することが、神経変性疾患の発症機構の解明にとって重要であると考えられた。

申請者は、まずVCPのATPase活性を制御する機構について解析を行った。その結果、VCPのATPase活性が活性酸素/窒素種によって低下すること、この活性制御が522番目のシステイン残基の酸化修飾によって担われていたことを示した。つづいて申請者は、過剰な活性酸素種が、VCPの機能低下を介して小胞体の機能障害を引き起こすことを見いだした。さらに、活性酸素種によるVCPの酸化修飾が細胞死を誘導することを、酵母を用いた*in vivo*の実験において示した。これらの結果から、申請者は、VCPが活性酸素/窒素種の重要なターゲットの一つであり、活性酸素/窒素種によるVCPのATPase活性の低下が、細胞障害および細胞死を引き起こす可能性を提示した。

つづいて、蛋白質の凝集体形成におけるVCPの役割について解析を行い、VCPが異常蛋白質の凝集体形成に関与していることを見出した。まず、申請者はIBMPFDで見出された変異体VCPは、ATPase活性が亢進していること、さらに、コファクターとの結合が強化していることを示した。つづいて、ATPase活性の亢進が凝集体形成を促進すること、VCPのコファクターもVCPと同様凝集体に共局在していることを示した。さらに申請者は、VCPの局在によって、蛋白質凝集体の局在が規定されていることを示唆した。これらの結果より、申請者はVCPのATPase活性が蛋白質凝集体の形成に深く関与している可能性を提示した。

以上の結果は、VCPの機能が活性酸素/窒素種によって失活を受け、それが細胞障害および細胞死を引き起こす可能性を提示し、また、VCPのATPase活性によって細胞内の凝集体形成が促進される可能性を示したもので、VCPの機能制御や神経変性疾患及びIBMPFDの病態の理解に大きく寄与するものであると考えられる。よって、審査委員は、全員一致で、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。さらに、平成18年1月23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。