

| | | | |
|--|--|----|--------|
| 京都大学 | 博士（医科学） | 氏名 | 根本 悠宇里 |
| 論文題目 | Dynamic Meso-Scale Anchorage of GPI-Anchored Receptors in the Plasma Membrane: Prion Protein vs. Thy1 (細胞膜上の GPI アンカー型受容体のダイナミックなメゾスケール領域への結合と閉じ込め：プリオンタンパク質 vs. Thy1) | | |
| (論文内容の要旨) | | | |
| <p>ヒトのクロイツフェルト・ヤコブ病やウシの狂牛病に代表されるプリオン病の発生の中心的なメカニズムは、正常型プリオンタンパク質 (PrP) が異常型 PrP と相互作用することによって、PrP のミスフォールディングが次々と引き起こされるためだと考えられている。このプロセスは PrP が本来持つ、ホモ 2 量体化あるいはオリゴマー化する性質により、より促進される可能性がある。PrP は飽和リン脂質グリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) アンカー型タンパク質という膜タンパク質の一種である。先行研究により、PrP と同じく GPI アンカー型タンパク質である CD59 が 200 ミリ秒程度の短時間の寿命をもつ一過性のホモダイマーを形成し、これがシグナル伝達のプラットフォームを形成するユニットとして機能していることが報告されている。また、免疫電顕と生化学実験による研究から、PrP が神経細胞膜上でクラスターを形成していること、さらに、神経細胞に豊富に存在する GPI アンカー型タンパク質である Thy1 とは異なるクラスターを形成していることが報告された。しかし、これまで PrP が生細胞膜上でどのような挙動を示すのかは、ほとんど知られていなかった。本研究では、PrP と Thy1 の蛍光 1 分子イメージングを行い、ラット海馬神経細胞と株細胞 (CHO-K1 細胞) の細胞膜上での PrP に特徴的な挙動を解明した。</p> <p>定常状態の神経細胞および CHO-K1 細胞の細胞膜上で、PrP、Thy1 は、ともに 2 次元並進拡散と一時停留を繰り返す、という挙動を示した。この一時停留を、Temporary Arrest of Lateral diffusion (TALL) と名付けた。1 分子イメージングから得られた軌跡を (1) 観察の間ずっと停留していた分子、(2) 拡散運動と停留を繰り返していた分子、(3) 観察の間ずっと拡散運動を行っていた分子、の 3 種類にモード分けし、この分類をもとに各モードの時間割合、継続時間、停留範囲の大きさ、拡散係数を比較し、以下の 4 点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 停留している時間が総観察時間に占める割合は、PrP が Thy1 に比べて神経細胞で 1.4 倍、CHO-K1 細胞で 1.9 倍大きかった 2. 1 回あたりの停留の継続時間、停留範囲の大きさに有意差はなく、PrP、Thy1 とともに 1 秒未満の停留時間であった 3. 一方、拡散運動の継続時間は PrP が Thy1 より 30-40% 短かった。これらの結果は、PrP は Thy1 に比べて停留頻度が高いため、全体としては、停留する時間割合が大きくなっていることを示している 4. 軌跡の全長から算出した拡散係数を比較すると、PrP の拡散係数は Thy1 より 50-80% 小さかった (拡散運動が遅かった)。軌跡のうち mobile 部分のみの拡散係数で比較しても、PrP の拡散係数は Thy1 より 30-40% 小さかった (拡散運動が遅かった) | | | |

| |
|--|
| <p>以上の結果を統合すると、PrP 分子は Thy1 よりも拡散係数の遅い他の PrP 分子や PrP クラスターと一過的に相互作用する傾向があり、その際、PrP クラスターに巻き込まれたり結合したりすることで、水平拡散が一時的に停止すると考えられる。PrP の停留頻度の高さから、PrP-PrP の結合が Thy1-Thy1 の結合よりも結合速度が速いことが示唆された。すなわち、PrP 分子は静止しておらず拡散能を維持していること、しかも頻繁に一過性のオリゴマーやクラスターを形成する性質をもつことが分かった。これは、異常型 PrP が生成したとき、正常型 PrP が異常型 PrP と次々と衝突でき、それによって異常型が増加する基盤となっている可能性を示唆する。また、本研究の手法は、PrP 会合体形成の解析技術の基礎となるものである。</p> |
| <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>プリオン病は、何らかの原因で生じた異常型プリオンタンパク質が、正常型プリオンタンパク質 (PrP) と相互作用して異常型への構造変化を誘起し、これが連鎖反応を起こして異常型の集合体が形成されることで発病すると考えられている。しかし、神経細胞の細胞膜上での PrP の動的挙動は不明であった。本学位授与申請者は、PrP の細胞膜上での挙動を、先行研究で PrP と異なるドメインを形成すると報告されている別のグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) アンカー型タンパク質である Thy1 と比較し、PrP の挙動の特徴を解明した。</p> <p>申請者は PrP と Thy1 を、ラット海馬初代培養神経細胞 (1、2 週目) と内在性 PrP・Thy1 の発現が少ない株細胞 CHO-K1 細胞とに発現させて蛍光標識し、外部刺激がない状態での PrP と Thy1 の 1 分子イメージングをおこなった。その結果、両者とも頻繁に 1 秒未満の停留を起こすこと、PrP は Thy1 に比べて停留頻度が高いことが分かった。また PrP は、抗体で誘導した Thy1 の会合体と似た挙動を示したことから、定常状態で PrP はすでに会合体を形成している可能性が示唆された。</p> <p>以上の研究は、正常型 PrP の細胞膜上での一時停留や会合などの動的挙動の解明に貢献し、プリオンタンパク質の集合体形成を解析する技術開発に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士 (医科学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 4 年 2 月 18 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p> |
| <p>要旨公開可能日： 年 月 日以降</p> |