様式２

論　文　の　要　約

報告番号	甲 第　229　号 乙	氏　名	山下　ありさ
学位論文題目	凝集体難病の治療法開発に向けた小胞体膜微小環境の分子基盤整備		

本研究は凝集体難病治療法開発に向けて、世界初となる小胞体を標的とした汎用性の高い治療法創出を目指したものである。
タンパク質凝集体の形成・蓄積は筋萎縮性側索硬化症をはじめとする多様な神経筋肉変性疾患やII型糖尿病等に共通する形態学的特徴であり、発症・進行と関連づけられている。これら凝集体難病には根治療法が未だ確立されておらず、発症機序は不明である。凝集体難病では易凝集性病原性タンパク質および凝集体の細胞内への蓄積を妨げる方法が求められている一方で、凝集体形成に関連する生体内分子機序は未解明であり、その実現は困難を極めているのが現状である。
　私はこれまでに、常染色体優性遺伝性筋肉変性疾患alphaクリスタリノパチー（以降クリスタリノパチー）を凝集体難病モデル疾患とし、本疾患を代表する変異体であるR120G変異体を用いて「シャペロン分子alphaBクリスタリン（以降alphaBC）を小胞体膜上に強制的に発現させると、凝集体および変異体タンパク質の蓄積を抑制できる」ことを明らかにした。これは世界で初めて小胞体膜微小環境が凝集体形成を抑制する機能を有することを実証したものである。そしてこれはER･BCと協働する分子が同病の治療標的分子となりうることを意味する。この実績に基づき、本研究ではこの分子基盤の解明とその汎用性を追求した。
ER･BC特異的に結合する分子を精製し、リソソーム蓄積症と関連する小胞体7回膜貫通タンパク質CLN6および機能未知の小胞体膜貫通タンパク質ABER2を単離・同定した。HeLa細胞を用いたノックダウン及び過剰発現を行った結果、CLN6がERalphaBCの下流分子として働くだけではなく、それ自身でも抗凝集体能を発揮すること、同時に変異体タンパク質の蓄積も予防することを明らかにした。その一方で、ABER2はタンパク質凝集体の形成を促進した。以上のことから、小胞体膜上には異常タンパク質凝集体の形成を下方向のみならず上方向にも制御する分子が存在することを見出した。「ERalphaBCの抗凝集体形成能の実態は、CLN6の機能促進およびABER2の機能阻害の双方がもたらす相乗効果である」と結論付けた。
さらに、クリスタリノパチー全体への汎用性を検証すべく、より重症度の高い心筋障害を発症する他の変異体D109H、G154S、R157Hにおいても小胞体操作が有効であるのかを検討した。クリスタリノパチーの症状は発現する発現するalphaBC変異体の違いで異なり、･BC変異体がそれぞれに備わる独自の病態誘導機構が想定される。その結果、ER･BC、CLN6ともに凝集体および変異体の蓄積を予防した。また、ALSでみられるSOD1変異体についても検討を行ったところ、抗凝集体効果が発揮された。以上のことから、凝集体難病への汎用的応用の可能性が示唆された。
ERalphaBCとCLN6の機能の背景を検証するためにタンパク質分解系に対する阻害剤を用いて解析を行った。その結果、凝集を免れたCLN6がalphaBC変異体の運命に違いが生じたことから、小胞体操作を支える複数のシグナル伝達経路の存在が明らかになった。