

病態生化学分野ミニシンポジウム

日時：2024年3月14日（木）16時～18時

会場：東京医科歯科大学 M&D タワー11階 大学院講義室3

URL: <https://www.tmd.ac.jp/outline/campus-map/>

細胞内のタンパク質をパトロールする 「シャペロン依存性（介在性）オートファジー」

第一部（大学院特別講義）

「神経変性疾患の治療・予防標的としてのシャペロン介在性オートファジー」

関 貴弘（姫路獨協大学 薬学部 薬理学研究室）

アルツハイマー病、パーキンソン病などに代表される神経変性疾患では、タンパク質の異常な蓄積と考えられる封入体が神経細胞内に頻繁に観察されることから、タンパク質分解系の活性低下が神経変性疾患発症と関連すると想定されている。オートファジー・リソソーム系タンパク質分解は細胞内タンパク質の主要な分解系の一つであり、リソソームに基質を運ぶ経路により、マクロオートファジー（いわゆるオートファジー）、ミクロオートファジー、シャペロン介在性オートファジー(CMA)に大別される。CMAでは分子シャペロン Hsc70 に認識された基質がリソソーム膜タンパク質 LAMP2A に依存してリソソームに取り込まれて分解を受ける。マクロオートファジーやミクロオートファジーと異なり、CMAは哺乳細胞のみに存在する経路であり、特に高次機能に関与すると考えられている。パーキンソン病で蓄積する α -synuclein の分解に CMA が関与することが2004年に報告されて以降、パーキンソン病発症における CMA 活性低下を示唆する報告が数多くなされた。私は神経変性疾患の中でも脊髄小脳失調症(SCA)に注目し、CMAの関連について解析を行ってきた。SCAは原因遺伝子の違いにより SCA1~49 に分類されているが、原因遺伝子の機能は多種多様であり、共通の発症機序は不明のままである。CMA活性マーカーを開発し、初代培養小脳神経細胞における CMA 活性を蛍光観察により簡便に評価する実験系を確立した。この方法を用いて、様々な SCA 原因タンパク質により共通に CMA 活性低下が誘導されることを明らかにした。さらに小脳神経細胞選択的な LAMP2A の発現抑制により CMA 活性を低下させると、SCA 様の表現型が引き起こされることを解明した。以上の結果から、SCA 共通の発症機序に CMA 活性低下が関与することが強く示唆される。アルツハイマー病や筋萎縮性側索硬化症(ALS)、ハンチントン病などその他の神経変性疾患と CMA 活性低下の関与も報告され、CMA は神経変性疾患の治療・予防標的として注目を集めている。

注意：本大学院特別講義は第二部（次頁）との二部立てで行います。出席については第二部終了時（18時頃）に確認しますので、ご注意ください。

第二部

「拡張遺伝暗号技術を利用したシャペロン依存性オートファジーの分子機構の解析」

横山 三紀（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 病態生化学分野）

これまでの研究についてお話しする機会をいただきましたので、いろいろな経緯のもとにシャペロン依存性オートファジー(Chaperone-mediated autophagy, CMA)に巡り合ったことについてお話ししたいと考えています（大学院講義の一部なので、主に CMA の分子機構に関する話になりますが）。もともと膜の上でのタンパク質の立ち姿に興味をもち、研究生生活の前半でリンパ球表面抗原 CD38 が細胞膜の上で四量体を形成することを示す結果を得ました。膜の上での CD38 多量体の構造を調べるために、「拡張遺伝暗号技術」を用いて光反応性の架橋部位を部位特異的に導入することが有効であることがわかりました。

「拡張遺伝暗号技術」は私の出身研究室で研究されていたものでしたが、十数年後に初めてその意義に気づきました。CD38 の経験を踏まえて、次にリソソーム膜に存在するタンパク質、Lysosomal-associated membrane protein 1/2 (LAMP1/LAMP2)の解析を行うことにしました。LAMP1/LAMP2 はいずれも一回膜貫通タンパク質でタンパク質の大部分はリソソームの内腔側に存在し、C 末端のわずか 11 アミノ酸残基の短い部分だけを細胞質側に突き出しています。両者はよく似た構造をしています。LAMP1 欠損マウスはほぼ正常なのに対して LAMP2 欠損マウスは半数が生後 40 日までに致死となります。実験してみると LAMP1 と LAMP2 では多量体形成の様式が異なる可能性が示唆されました。そこで LAMP2 に「拡張遺伝暗号技術」を適用して、多量体化の構造基盤を解明する研究を行いました。LAMP2 には C 末端の構造が異なる 3 つのバリエーション LAMP2A/2B/2C があり、LAMP2A は CMA(シャペロンタンパク質 Hsc70 に認識された細胞内のタンパク質がリソソームに取り込まれて分解される経路)の必須因子です。CMA の機能的な役割や病態との関連について多くの報告がありますが、CMA の分子機構には未解明な部分が多いことに驚きました。これまでに「拡張遺伝暗号技術」を利用して、リソソーム膜上及びリソソーム内腔側での LAMP2A 多量体、Hsc70、CMA で分解されるタンパク質の相互作用の解析を進めており、CMA の分子機構の解明につながることを期待しています。

連絡先：大学院特別講義については横山 三紀（病態生化学分野 03-5803-5449）

ミニシンポジウム全体については渡部 徹郎（病態生化学分野 03-5803-5449）