

論文審査の要旨

報告番号	総研第 401 号	学位申請者	佐々木 なつき
審査委員	主査	武田 泰生	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	宮田 篤郎	副査 橋口 照人
	副査	柴田 昌宏	副査 池田 龍二

Chorein interacts with α -tubulin and histone deacetylase 6, and overexpression preserves cell viability during nutrient deprivation in human embryonic kidney 293 cells

(Chorein は α -tubulin や HDAC6 と相互作用し、chorein の過剰発現は HEK293 細胞において飢餓状態下の細胞生存率を上昇させる)

有棘赤血球舞踏病 (chorea-acanthocytosis; ChAc) は Huntington 病類似の精神神経症状と有棘赤血球症を呈し、常染色体劣性遺伝形式をとる稀な神経変性疾患である。責任遺伝子は *VPS13A* で、その遺伝子産物 chorein の機能的欠失が ChAc を引き起こすことは明らかであるが、chorein の分子的機能の詳細は未だ明らかとなっていない。オートファジーは細胞飢餓状態などで誘発され、細胞内小器官や異常蛋白質のクリアランスに寄与することが知られている。近年、Parkinson 病や Huntington 病などの神経変性疾患において、原因となる異常蛋白質のクリアランスにオートファジーが関与しており、その機構には微小管の動きや α -tubulin の脱アセチル化酵素である HDAC6 の関与があることが報告されている。学位申請者らは、本研究で、HEK293 細胞にて飢餓誘発性オートファジーを誘導し、chorein とオートファジーに関連する解析を行い、chorein の機能や相互作用する蛋白質を明らかにした。

- HEK293 細胞において飢餓誘発性オートファジーを誘導したところ、全長 *VPS13A* cDNA を過剰発現させた chorein 安定過剰発現細胞では mock 細胞に比べて有意に細胞生存率が保たれていた。また、chorein 安定過剰発現細胞では mock 細胞に比べて、飢餓誘発時のオートファジー誘導の指標である LC3-II/LC3-I 比が有意に高かった。飢餓状態において chorein 安定過剰発現細胞ではオートファジーにおける主要なアダプター蛋白質である SQSTM1/p62 は有意に減少した。また、オートファジー誘導を阻害し、chorein 安定過剰発現細胞で有意にオートファジーが進行していることを証明した。
- 免疫沈降において、chorein と α -tubulin の共沈が確認された。また、tubulin の重合阻害剤である nocodazole 処理後の細胞生存率の比較では、chorein 安定過剰発現細胞は mock 細胞に比べて有意に生存率が保たれていた。これらから chorein は α -tubulin と相互作用して、microtubules の安定化に関与していることが示唆された。
- 免疫沈降において、chorein と HDAC6 の共沈が確認され、また、chorein 安定過剰発現細胞で mock 細胞に比べて acetylated tubulin の免疫反応が有意に低かった。chorein と HDAC6 との相互作用が α -tubulin の脱アセチル化を促進していることが示唆された。

オートファジーとは細胞内のタンパク質や細胞小器官を分解する機能で、隔離膜によってオートファゴソームが形成されリソソームと融合し内容物が分解される。LC3-II/LC3-I はオートファゴソームの数と正の相関を示し、また SQSTM1/p62 はオートファジーによって分解される代表的な基質である。Chorein 安定発現細胞ではオートファジーを促進することによって飢餓状態において細胞生存率を保っていることが示唆された。微小管は HDAC6 と相互作用しオートファゴソーム形成や動きに関与して、細胞内輸送の足場となっていると言われている。HDAC6 による α -tubulin のアセチル化は微小管の動きに関与していると言われている。Chorein は α -tubulin と相互作用しており、微小管の重合脱重合に関与していることが示唆され、chorein は tubulin の脱アセチル化作用を持つ HDAC6 とも相互作用しており tubulin の脱アセチル化を促進していると考えられた。

今回の研究結果から、chorein は α -tubulin や HDAC6 と相互作用することによって、オートファジーを介した細胞内小器官や異常蛋白質のクリアランスに関与していることが示唆された。これらの機構の破綻が ChAc の分子病態の可能性を示唆するものである。神経変性疾患の病態解明の一端を示したものであり、本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。