

論文内容要旨

論文題目

α -シヌクレインの脂肪酸結合部位の同定および

脂肪酸による可溶性重合体形成についての検討

責任講座： 内科学第三 講座

氏 名： 軽部 宏紀

【内容要旨】

背景：パーキンソン病（PD）は、安静時振戦，無動・寡動，筋固縮，姿勢反射障害の四症状を特徴とする比較的頻度の高い神経変性疾患である。神経病理学的には中脳黒質のドーパミン神経細胞の変性・脱落とレビー小体と呼ばれる神経細胞内封入体により特徴づけられる。このレビー小体は α -シヌクレイン（ α -Synuclein； α S）を主要構成成分としている。 α Sは140アミノ酸で構成される可溶性タンパク質であるが、その生理的機能は未だ不明である。また、なぜ可溶性タンパク質である α Sがレビー小体という不溶性凝集体を作るのか、その機序についても不明である。 α Sはそれ自身でも凝集しやすい性質を示すが、C末端領域の欠失やリン酸化によってさらに凝集しやすい性質になることが知られている。近年、凝集体形成に至る過程で生じる可溶性 α S重合体の神経毒性が提唱されている。 α Sは脂肪酸結合タンパク質（FABP）の一種としての働きが示唆され、FABPの脂肪酸結合モチーフと、 α SのN末端領域およびC末端領域で高い相同性が示されている。さらに不飽和脂肪酸によって可溶性 α S重合体の形成が促進されることも明らかになっている。

目的：本研究では、 α Sのアミノ酸配列を欠失させた各種変異体を作成して、*in vitro*並びに培養細胞を用いた解析を行い、1）脂肪酸と結合する α S分子内の領域（アミノ酸配列）を同定、2）脂肪酸により引き起こされる可溶性 α S重合体の形成は、脂肪酸との直接的な結合を介して生じるのか、それとも易凝集性が知られている α SのC末端領域の切断ならびにC末端領域のリン酸化による影響がより優位なのか、という点について検討した。

結果：*in vitro*の脂肪酸結合分析では、 α Sのアミノ酸配列2—19および20—60の領域で脂肪酸と結合することが示された。培養細胞では脂肪酸を介した可溶性 α S重合体形成を確認することができ、さらに*in vitro*の実験結果と同様に、アミノ酸配列2—19および20—60の領域にある脂肪酸結合領域での脂肪酸との結合が、可溶性 α S重合体形成を惹起することが示された。さらに、*in vitro*で易凝集性が明らかにされているC末端領域欠失や129番目のセリン残基をリン酸化した α Sにおいても、脂肪酸により惹起される α S重合体形成は、アミノ酸配列2—19および20—60の領域に依存していた。

結論： α Sは、そのN末端領域を介して脂肪酸と結合することが示唆された。脂肪酸により誘導される可溶性 α S重合体形成は、N末端領域が重要な役割を果たし、C末端領域の欠失やリン酸化は、むしろ重合体形成のための促進因子である可能性を示した。

平成 18 年 1 月 30 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 軽部 宏紀

論文題目： α -シヌクレインの脂肪酸結合部位の同定および脂肪酸による可溶性重合体形成についての検討

審査委員：主審査委員 加藤 宏司

副審査委員 大谷 浩一

副審査委員 内藤 輝



審査終了日：平成 18 年 1 月 23 日

【 学位論文審査結果の要旨 】

パーキンソン病Parkinson's disease (PD)は、①筋固縮rigidity、②寡動・無動、③振戦tremor、④姿勢保持障害、を4主徴とする黒質ドーパミン作動性ニューロンの変性・脱落を原因とする進行性の神経変性疾患である。通常は中年以降に発症し、我が国の有病率は人口10万人あたり100人から150人と推定され、頻度の高い疾患である。神経病理学的には中脳黒質のニューロンの変性・脱落とレビー小体 Lewy bodyといわれる細胞内封入体が特徴である。レビー小体は α -シヌクレイン α -synuclein (α S)といわれるタンパク質が主要な構成成分であり、 α Sは140個のアミノ酸で構成されている。 α Sはそれ自体でも凝集能を持つが、凝集体を形成する前に可溶性重合体を形成し、これが神経毒性をもたらす可能性が指摘されている。つまり、 α Sの不飽和脂肪酸との結合ならびにリン酸化が重合体形成を促進し、これがパーキンソン病の病因につながっている可能性が指摘されている。そこで、本研究では、1) α Sの脂肪酸の結合部位の同定、および2) α Sの脂肪酸結合領域の可溶性重合体形成に対する役割について検討することを目的とした。

方法としては、 α Sアミノ酸配列の一部を欠失させたcDNAおよび組換えタンパク質を作成し、in vitroおよび培養細胞で解析した。その結果は以下のようであった。

- 1) in vitroの検討で、アミノ酸配列の2-19および20-60領域が、 α Sと脂肪酸との結合に関与している。一方、C末端領域は脂肪酸結合には関与していない。
- 2) 培養細胞の検討でも、in vitroの結果と同様に、アミノ酸配列の2-19および20-60領域が、 α Sと脂肪酸との結合に関与していることが示され、脂肪酸により惹起される可溶性 α Sの重合体形成には、N末端側にある脂肪酸結合領域と脂肪酸との結合が誘因になっていることが明らかになった。
- 3) 易凝集性を示すことが知られているC末端の切断、およびリン酸化Ser129- α Sとして修飾した結果からも、脂肪酸により惹起される可溶性 α S重合体形成は、N末端側に依存していることが明らかになった。

以上の結果から著者は、①レヴィ小体を構成する α Sの重合体形成にはN末端側と脂肪酸との結合が主要な役割を果たしていること、②C末端側領域の修飾による重合体形成もN末端側に依存していると結論した。この実験結果は、PDの病因に新しい知見を加えたものであり、臨床的意義が大きいと評価した。従って、本研究の著者が博士(医学)の学位を取得するのに値するものと判断した。