

<研究課題>

アルツハイマー病発症機構におけるタンパク質 SUMO 化の意義の解明

代表研究者 和歌山県立医科大学医学部 准教授 松崎 伸介
共同研究者 大阪大学大学院連合小児発達学研究科研究科 助教 高村 明孝

【まとめ】

アルツハイマー病 (以下 AD) でみられる病理所見の一つタウ蛋白質の凝集・沈着がタンパク質翻訳後修飾 SUMO の抗体で共染色されることから、AD 発症過程において SUMO 化が関与している可能性を見出した。そこで、本研究ではタウオパチーの一つである AD の発症機構解明をタウ蛋白質 SUMO 化の観点から行うことを目的に研究を開始した。結果として、SUMO1 修飾によりタウ蛋白質の凝集促進効果が誘導される可能性が示された。

1. 研究の目的

AD をはじめとしたタウオパチーにみられるタウ蛋白質の病理像形成過程を明らかにすることで痴呆性疾患に共通した発症機構の解明を目的に以下の研究を実施した。

- 1-1 タウオパチーにおける SUMO 化の意義の解明
- 1-2 タウ蛋白質の細胞外分泌機構における SUMO 化の重要性
- 1-3 凝集シードとしてのタウ蛋白質の SUMO 化の意義の解明

2. 研究方法と経過

2-1 タウオパチーにおける SUMO 化の意義

発症過程においてタウ蛋白質の沈着が重要な意義を持ち特徴的な病理像として有する所謂タウオパチー全般でタウ蛋白質の SUMO 化が重要であるのか否かを確認するため、AD 以外の疾患として進行性核上性麻痺 (以下 PSP) におけるタウ蛋白質の SUMO 抗体による免疫染色を行った。

2-2 タウ蛋白質の細胞外分泌機構における SUMO 化の重要性

SUMO 化の有無によるタウ蛋白質の細胞外分泌への影響を確認するため、Crispr/Cas9 によるゲノム編集法を用いて UBC9 ノックアウト細胞 (UBC-KO 細胞) を

作成した。それらの細胞にタウ蛋白質発現ベクターを同量導入、細胞培養液等の量を同一にするなど同一条件で培養。24 時間後に細胞外へ分泌されるタウ蛋白質の量への影響をウェスタンブロット法 (WB 法) で確認した。

2-3 凝集シードとしてのタウ蛋白質の SUMO 化の意義

各 SUMO isoform がタウ蛋白質の凝集形成に影響するの否かを検討するためタウ蛋白質と SUMOs を共発現させることで凝集体形成への影響を検討する予定をしていたが、安定した SUMO 化レベルを再現するため、SUMOs をタウ蛋白質配列にタンデムに連結させた SUMO-タウ蛋白質 fusion タンパク質を発現するベクターを構築。細胞内に過剰発現させることでタウ蛋白質の凝集形成への影響を確認した。

3. 研究の成果

3-1 タウオパチーにおける SUMO 化の意義

AD・PSP におけるタウ蛋白質の沈着領域を SUMO1 抗体・SUMO23 抗体で染色した結果、タウ蛋白質の沈着領域は SUMO1 抗体では染色され、SUMO2/3 抗体では染色されなかった。このことから、タウオパチーでみられるタウ蛋白質の沈着には SUMO1 が関与している可能性が強く示唆された。

3-2 タウ蛋白質の細胞外分泌機構における SUMO 化の重要性

UBC9-KO 細胞と 293 細胞にタウ蛋白質発現ベクターを導入し、培養液中に排出されるタウ蛋白質の量を WB 法で比較したが両者に大きな差は認めず、我々の系においては細胞外分泌への影響を確認することが出来なかった。本結果のみでは、細胞外分泌と細胞内取込についての詳細な結果を得られず、単に細胞外排出と取り込のバランス

に有意な差が無いとの結果のみであり、正確な結論には至らなかった。

3-3 凝集シードとしてのタウ蛋白質のSUMO化

SUMO isoform が凝集形成に強く作用するの
かを SUMO-タウ蛋白質 fusion タンパク質に
より検討したところ、Tau タンパク質の凝
集は SUMO1・SUMO2・SUMO3 全てで促進され
ていた。その中でも SUMO1 が最も強い凝集
作用を示すことが確認された。

4. 今後の課題

なぜ SUMO1 がタウ蛋白質の凝集体形成を誘
導しやすいのかを解明することが最も大き
な課題である。ただ単に“SUMO1 修飾が最
も強くユビキチン化と拮抗しタウ蛋白質の
発現量を増加させるだけ？”なのか、“SUMO1

修飾はシード蛋白質としてのポテンシャル
が高いのか？” “SUMO1 修飾は他の修飾に
比べ一度細胞外に排出されたのちに再度取
り込まれる割合が高くシード蛋白質として
作用しているのか？” など、SUMO1 修飾に
よるタウ蛋白質凝集過程への影響を明らか
とすることで、AD を中心としたタウオパチ
ー発症経路の解明をすすめていくことを予
定している。

5. 研究成果の公表方法

本研究の成果は学会発表並びに国際誌へ
の論文投稿、並びに所属教室のホームペー
ジに掲載する等より、結果を公表する。

以上