

ミトコンドリア蛋白 TPPP に着目した多系統萎縮症の治療法探索

業務担当責任者：石川欽也 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学
(神経内科)

研究協力者：太田浄文¹⁾²⁾，大北 倫¹⁾，横田隆徳¹⁾，水澤英洋¹⁾³⁾

1) 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学
(神経内科)

2) JA とりで総合医療センター神経内科

3) 国立精神・神経医療研究センター

研究要旨

TPPP(tubulin polymerization promoting protein)は oligodendroglia (ODG)に特異的に発現する蛋白で、多系統萎縮症(MSA)においては TPPP が ODG 内で分布を変化させ、GCI 形成と共にミトコンドリア蛋白の異常集積にも関係している可能性がある。本研究では TPPP を培養細胞に発現させ、ミトコンドリアの形態を観察した。未だ研究は完結していないが、目下のところミトコンドリアの形態異常を伴っていると考えられた。今後、TPPP 過剰発現によるミトコンドリア異常の機序を解明し、MSA の病態解明に挑みたい。

A. 研究目的

TPPP(tubulin polymerization promoting protein)は oligodendroglia (ODG)に特異的に発現する蛋白で、多系統萎縮症(MSA)においては α シヌクレイン(α SYN)の沈着に先行して核周囲の細胞体に集積するという報告¹⁾もある。我々は TPPP が正常な状態では ODG の細胞質だけでなく核と、細胞質内小器官ではミトコンドリアにも局在すること、MSA 患者の ODG 内ではミトコンドリア蛋白と共局在する様に膨化した細胞質内で TPPP が集積し、しばしばグリア細胞質内封入体(GCI)に一致するように局在を変化していることを発見し報告した²⁾。しかし、TPPP の機能とミトコンドリアの関係は不明であり、MSA の ODG のように、細胞質に TPPP が集積し

た際にミトコンドリアにどのような影響が起きるかも不明である。

本研究の目的は、TPPP を過剰発現した際のミトコンドリアの変化を明らかにすることである。

B. 研究方法

TPPP を組み込んだ pALC ベクターを作製し HeLa 細胞に導入した。対照には MBP を組み込んだベクターと empty なベクターを用いた。TPPP を導入した細胞の画分で、TPPP の細胞内局在を Western blotting(WB)で検討した。

ミトコンドリアの形態学的評価は、pDSRed2-Mito ベクターを同時に導入しその蛍光を顕微鏡下で観察した。

(倫理面への配慮)

東京医科歯科大学の医学部遺伝子解析研究に関する倫理委員会において審査を受け、承認を得て行った。

C. 研究結果

レコンビナント(r)TPPP は細胞質とミトコンドリアに局在していたが核には分布していなかった。一方、rMBP は細胞質のみに局在していた。rTPPP を導入した細胞群では断片化されたように見えるミトコンドリアが増加していた。

D. 考察

今回の研究は未だ最終結論には至っていないが、レコンビナント TPPP を、本来 TPPP を発現していない培養細胞に強制的に発現させると、核ではなく細胞質に集積し、さらにミトコンドリアに形態的变化を起こす可能性を得た。これまで TPPP は細胞質に局在する蛋白として報告されてきたが、我々は TPPP がミトコンドリアにも局在する蛋白であることを確認している。この蛋白がミトコンドリアに集積すると、ミトコンドリアの分裂などの形態異常を起こす可能性が考えられる。現時点では未だ TPPP の過剰発現が、ミトコンドリアのどのような機能障害を起こすかは不明である。特にミトコンドリアの形態的異常が TPPP の過剰発現による直接的な影響である確証もないため、今後さらなる研究が必要である。

E. 結論

培養細胞を用いた実験では、TPPP を過剰発現すると一部は確かにミトコンドリアに局在することがわかった。また、TPPP を過剰発現させたときには HeLa 細胞ではミトコンドリアが断片化する。この病態は不明であり、今後解明する必要がある。さらに、MSA 患

者脳 ODG 内のミトコンドリア形態変化も併せて検索する必要がある。

[参考文献]

1. Song YJ, Lundvig DM, Huang Y, Gai WP, Blumbergs PC, Hojrup P, Otzen D, Halliday GM, Jensen PH. p25 α relocalizes in oligodendroglia from myelin to cytoplasmic inclusions in multiple system atrophy. *Am J Pathol* 171:1291-1303, 2007.
2. Ota K, Obayashi M, Ozaki K, Ichinose S, Kakita A, Tada M, Takahashi H, Ando N, Eishi Y, Mizusawa H, and Ishikawa K. Relocation of p25 α /tubulin polymerization promoting protein from the nucleus to the perinuclear cytoplasm in the oligodendroglia of sporadic and *COQ2* mutant multiple system atrophy. *Acta Neuropathol Commun*, 2014, Sep 11;2(1):136. [Epub ahead of print]

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表 (2014/4/1~2015/3/31 発表)

1. 論文発表

- 1) Ota K, Obayashi M, Ozaki K, Ichinose S, Kakita A, Tada M, Takahashi H, Ando N, Eishi Y, Mizusawa H, and Ishikawa K. Relocation of p25 α /tubulin polymerization promoting protein from the nucleus to the perinuclear cytoplasm in the oligodendroglia of sporadic and *COQ2* mutant multiple system atrophy. *Acta Neuropathol Commun*, 2014, Sep 11;2(1):136. [Epub ahead of print]

- 2) Obayashi M, Stevanin G, et al. Spinocerebellar ataxia 36 exists in diverse populations and can be caused by a short hexanucleotide GGCTG repeat expansion. *J Neurol Neurosurg & Psychiatry*, 2014, Dec 4. Online.
- 3) Ozaki K, Sanjo N, Ishikawa K, Higahsi M, Hattori T, Tanuma N, Miyata R, Hayashi M, Yokota T, Okawa A, Mizusawa H. Elevation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in the cerebrospinal fluid of three patients with superficial siderosis. *Neurology and Clinical Neuroscience*, In press.
- 4) Ozaki K, Irioka T, Ishikawa K, Mizusawa H. CADASIL with a Novel NOTCH3 Mutation (Cys478Tyr). *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. In press.
- 5) Yamashita C, Tomiyama H, Funayama M, Inamizu S, Ando M, Li Y, Yoshino H, Araki T, Ichikawa T, Ehara Y, Ishikawa K, Mizusawa H, Hattori N. The evaluation of polyglutamine repeats in autosomal dominant Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 35(7):1779.e17-21, 2014.
- 6) 榊原聡子, 饗場郁子, 齋藤由扶子, 犬飼晃, 石川欽也, 水澤英洋. Spinocerebellar ataxia type 31 (SCA31)の臨床像, 画像所見—Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6)との小脳外症候の比較検討— *臨床神経学* 54:473-479, 2014.

2.学会発表

太田浄文, 尾崎 心, 市野瀬志津子, 他田真理, 柿田明美, 高橋 均, 石川欽也, 水澤英洋. 多系統萎縮症において p25 α /TPPP はオリゴデンドログリアの核から細胞質に局在変

化を起こす. 第 55 回日本神経病理学会総会 学術研究会, 東京, 2014 年 6 月 6 日.

3. 総説など

- 1) 石川欽也. XV.小脳の障害と運動失調 .1. 小脳の解剖と機能. In: 橋本信夫監修、三國信啓、深谷 親編集, 「脳神経外科ブラックティス. 3.脳神経外科医のための脳機能と局在診断」文光堂, 2014; 278-282.
- 2) 石川欽也. XV.小脳の障害と運動失調 .2. 小脳機能障害の分類. In: 橋本信夫監修、三國信啓、深谷 親編集, 「脳神経外科ブラックティス. 3.脳神経外科医のための脳機能と局在診断」文光堂, 2014; 283-284 .
- 3) 石川欽也. XV.小脳の障害と運動失調 .3. 小脳機能障害の評価. In: 橋本信夫監修、三國信啓、深谷 親編集, 「脳神経外科ブラックティス. 3.脳神経外科医のための脳機能と局在診断」文光堂, 2014; 285-287 .
- 4) 石川欽也, 水澤英洋. 脊髄小脳変性症の分類. In: 別冊 日本臨床. 新領域別症候群シリーズ No.27. 神経症候群(第 2 版) その他の神経疾患を含めて. II. 日本臨床, 2014; 330-335.
- 5) 佐藤 望, 石川欽也, 水澤英洋. 16q-ADCA (SCA31). In: 別冊 日本臨床. 新領域別症候群シリーズ No.27. 神経症候群(第 2 版) その他の神経疾患を含めて. II. 日本臨床, 2014; 365-368.
- 6) 石川欽也, 水澤英洋. 周期性失調症 II 型. In: 別冊 日本臨床. 新領域別症候群シリーズ No.27. 神経症候群(第 2 版) その他の神経疾患を含めて. II. 日本臨床, 2014; 452-455.
- 7) 石川欽也. 脊髄小脳変性症, ALS. In: 星 恵子、大野 勲、齋藤英胤、藤井 聡、

増子佳世、三木知博、水谷顕洋、武藤章弘、山下直美 編集,「やさしい臨床医学テキスト」第 3 版 薬事日報社, 2014; 43-45 .

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許出願

- 1) 発明の名称 : ALS の原因タンパク毒性を軽減する核酸.

石川欽也、水澤英洋、永井義隆、横田隆徳、石黒太郎、佐藤 望、和田圭司

出願番号 : 特願 2014-244034

(東京医科歯科大学/国立精神・神経医療研究センター)

【出願日 : 平成 26 年 12 月 2 日】

- 2) 発明の名称 : 脊髄小脳失調症 3 1 型 (SCA31) 治療剤

石川欽也、水澤英洋、永井義隆、石黒太郎、佐藤 望、和田圭司

出願番号 : 特願 2014-244350

(東京医科歯科大学/国立精神・神経医療研究センター)

【出願日 : 平成 26 年 12 月 2 日】

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし