

Title	Two serine residues distinctly regulate the rescue function of Humanin, an inhibiting facotor of Alzheimer's disease-related neurotoxicity : functional potentiation by isomerization and dimerization
Sub Title	2個 of セリン残基によるアルツハイマー病関連神経細胞死抑制因子ヒューマニンの活性制御機構 : 異性体化と2量体化による増強
Author	寺下, 謙三(Terashita, Kenzo)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.4 (2005. 12) ,p.24-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0024

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Two serine residues distinctly regulate the rescue function of Humanin, an inhibiting factor of Alzheimer's disease-related neurotoxicity : functional potentiation by isomerization and dimerization

(2個のセリン残基によるアルツハイマー病関連神経細胞死抑制因子ヒューマニンの
活性制御機構：異性体化と2量体化による増強)

寺 下 謙 三

内容の要旨

我々はアルツハイマー病（A病）関連遺伝子やAβによる神経細胞死を特異的に抑制する、24残基からなるペプチド性因子ヒューマニン（HN）「MAPRGFSCLLL LTSEIDL PVKRRRA」を発見し、その強力かつA病特異的な神経保護作用をin vitroで明らかにしてきた。一次構造上、HNは7番目と14番目にセリン残基を有する。既に報告した様に、我々は14番目のセリン（S14）がグリシン置換される（S14G-HN）ことによりHNの神経細胞保護作用が100-1000倍上昇することを発見した。今回、我々はこのグリシン置換によるHN活性上昇が、実は生体内で実際に起きている何らかのS14の翻訳後活性化修飾をミミックしているのではないかという仮説をたてて、種々のS14翻訳後修飾によるHN活性化の有無を検討した。その結果、S14残基のD体化により、S14G-HNと同程度までHNの神経保護作用効果が増強されることを発見した。近年の研究により脳神経組織のグリア細胞にセリンのD体化変換酵素であるセリンラセメースが存在することが報告されており、HNのS14のD体化が脳神経組織において実際に起きている可能性は十分あると考えられる。また、7番目のセリン（S7）に関しても同様な検討を行ったが、S7はD体化してもHNの神経保護作用は変化せず、アルギニンへの置換によりHNの神経保護作用は消失した。更に一連の実験により最終的に、HNの2量体化がHNの神経保護作用発現には不可欠な過程であり、S7はHNが自らを2量体化することに必須なアミノ酸であることを発見した。今回の研究の結果を基に創り上げたHNの最も強力な誘導体（EF-AGA-HNG）は1-10pMのレベルで、Aβの神経毒性から完全に保護する力を有する。生体内で実際にHN中のセリン残基の活性修飾が起こっていることの証明は今後の課題ではあるが、これらの知見はHNの神経保護作用機序の解明の重要な手がかりや手段になるのみならず、今後アルツハイマー病の治療薬の開発あるいはHNの毒性を抑制する拮抗薬開発に寄与することが期待される。

論文審査の要旨

アルツハイマー病に関連する神経細胞死を特異的に抑制するペプチド性因子ヒューマニン（HN）は、一次構造上7番目と14番目にセリン残基を有する。14番目のセリン（S14）がグリシン置換される（S14G-HN）ことによりHNの神経細胞保護作用が100-1000倍上昇するが、このグリシン置換によるHN活性上昇が、実は生体内で実際に起きている何らかのS14の翻訳後活性化修飾をミミックしているのではないかという仮説のもと、種々のS14翻訳後修飾によるHN活性化の有無が検討された。その結果、S14残基のD体化により、S14G-HNと同程度までHNの神経保護作用効果が増強されることが示された。近年の研究により脳神経組織のグリア細胞にセリンのD体化変換酵素

であるセリンラセメースが存在することが報告されており、HNのS14のD体化が脳神経組織において実際に起きている可能性が議論された。また、7番目のセリン（S7）に関しても同様な検討が行なわれた。S7がD体化してもHNの神経保護作用は変化しなかったが、アラニンに置換するとHNの神経保護作用は消失した。一連の実験により、HNの2量体化がHNの神経保護作用発現には不可欠な過程であり、S7はHNが自らを2量体化することに必須なアミノ酸であることが示された。

審査に当たり、まず神経細胞死のアッセイ方法について、特に初代培養における培養条件を中心に質問がなされた。それに対し、初代神経細胞の採取培養条件とその純度およびviabilityが結論の妥当性に支障とならない範囲内である事が説明された。また、2量体化がHNの活性化機構であるとの仮説をたてた経緯、そしてそれと関連して、HNと同じくPro, Glyの置換で活性が変化する前例が知られているかの質問に対して、今まで他分子ではそのような報告はないがアミノ酸配列とHN活性との関連とを検討する過程でこの仮説に至ったと回答された。さらに、HNの生体内での役割に関連して、ラットにおいて見出された関連物質であるRattinおよびHNの作用機構についてはRattinとHNの作用の類似性および情報伝達経路の説明がなされ、生体内でのHNの作用とアルツハイマー病発症の因果関係についてはHNはアルツハイマー病の防御因子である可能性があり、その活性の低下が脳萎縮を伴う真の意味でのアルツハイマー病動物モデル作成に重要ではある可能性があるとの説明がなされた。なお、HNによる神経細胞死抑制のアッセイ系としてヒト由来の培養細胞を用いる系を確立すべきであるとの助言が審査員よりあった。

本論文で提唱されたHN中のセリン残基の活性修飾が生体内で実際に起こっていることの最終証明は今後の課題ではあるが、今回明らかにされた知見はHNの神経保護作用機序の解明の重要な手がかりや手段になるのみならず、今後アルツハイマー病治療薬の開発あるいはHNの毒性を抑制する拮抗薬開発に寄与することが期待されるものであった。

以上より本論文は今後のアルツハイマー病の病態解明、治療法開発において意義ある研究であり、博士論文として妥当なものであるものと認められた。

論文審査担当者 主査 解剖学 相磯 貞和
内科学 鈴木 則宏 解剖学 仲嶋 一範
生理学 岡野 朱之
学力確認担当者：北島 政樹、鈴木 則宏
審査委員長：鈴木 則宏

試問日：平成17年 4月13日