

| | |
|------------------|---|
| Title | Alsin, the Product of ALS2 Gene, Suppresses SOD1 Mutant Neurotoxicity through RhoGEF Domain by Interacting with SOD1 Mutants |
| Sub Title | ALS2遺伝子がコードする蛋白AlsinはRhoGEFドメインを介してSOD1変異体が誘導する神経毒性を抑制する。 |
| Author | 金蔵, 孝介(Kanekura, Kosuke) |
| Publisher | 慶應医学会 |
| Publication year | 2005 |
| Jtitle | 慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.15- |
| JaLC DOI | |
| Abstract | |
| Notes | 号外 |
| Genre | Journal Article |
| URL | https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0015 |

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.

Alsin, the Product of *ALS2* Gene, Suppresses SOD1 Mutant Neurotoxicity through RhoGEF Domain by Interacting with SOD1 Mutants

(*ALS2*遺伝子がコードする蛋白AlsinはRhoGEFドメインを介してSOD1変異体が誘導する神経毒性を抑制する。)

金 蔵 孝 介

内容の要旨

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は上位下位運動神経細胞が進行性に脱落する神経変性疾患で、90%が孤発性、10%が家族性に発症する。1993年、常染色体優性遺伝ALSの原因遺伝子として、*Superoxide dismutase 1* (*SOD1*) の変異が報告された。以降、SOD1変異体が神経細胞死を起こすこと及びSOD1変異体トランスジェニックマウスがALS様の症状を示すことなどが明らかにされたが、未だにその神経毒性機構の詳細はほとんど解明されていない。また、2001年に常染色体劣性遺伝ALSの家系からalsin蛋白をコードする新規ALS原因遺伝子*ALS2*が同定された。alsinはsmall G proteinのグアニン交換促進因子 (GEF) と相同部位を複数持ち、何らかのシグナル伝達に関与することが予想されている。未だその正確な機能は解明されていないが、少なくとも一部の症例においては*ALS2*の遺伝子変異によるalsinの機能損失がALS発症にいたる原因であると想像されている。本研究では、alsinが運動神経細胞の生存を維持するシグナル伝達機構に関与している分子ではないかという仮説のもと、alsinがSOD1変異体の引き起こす運動神経細胞死にどのような影響をおよぼすか検討した。

まず*ALS2*遺伝子の2つのスプライシングバリエーション、*ALS2 long form* (*ALS2LF*) と*ALS2 short form* (*ALS2SF*) をヒトcDNAよりクローニングし、SOD1変異体とマウス運動神経細胞株NSC34細胞に共発現させたところ、*ALS2LF*がコードするalsinLFはSOD1変異体が惹起する神経細胞死を著明に抑制することを見出した。注目すべきことに、この神経保護作用はSOD1変異体誘導性細胞死特異的であり、アルツハイマー病関連など他の神経変性疾患侵害刺激に対しては無効であった。さらにalsinLFの神経保護作用の責任ドメインがsmall G proteinのひとつRhoを活性化するRhoGEFドメインであることを見出した。不完全なRhoGEFを持つalsinLF変異体では神経保護作用が失われたことから、alsinLFの神経保護作用にはRhoGEF活性が必要であることが示唆された。また、免疫染色によって、両者の細胞内局在を検討したところ、alsinとSOD1変異体の細胞内局在が一致した。さらに、alsinとSOD1とを共発現させた細胞融解液を用いて免疫沈降を行うと、alsinLFがSOD1と共沈することから、alsinLFとSOD1とは直接結合していることが示唆された。最後に、種々の欠損alsinLF変異蛋白質を作成し、変異型SOD1と種々の共沈実験を行った結果、alsinLFはRhoGEFドメインを介してSOD1変異体と結合していることが明らかとなった。以上の実験結果を総合すると、alsinLFはRhoGEF領域を介して変異SOD1と結合し、変異SOD1の引き起こす神経毒性を抑制すると結論された。この結果は、alsinLFが運動神経細胞の生存を維持する機能を持つことを示唆するのみならず、従来全く異なる機序でALSを引き起こすと考えられていた*ALS2*と*SOD1*の遺伝子異常が実は密接に機能的相互作用していることを示唆している。今後、両者の関与する神経細胞死シグナル伝達経路や生存シグナル伝達経路の解明がALSの原因解明および治療法開発に大きく貢献すると考えられる。

論文審査の要旨

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は進行性に運動神経細胞が脱落していく神経変性疾患であり、その選択的運動神経細胞死機構は未だ不明のままである。本研究では常染色体優性遺伝ALSの原因遺伝子SOD1変異体の持つ神経毒性に対し、新規に同定された常染色体劣性遺伝ALS原因遺伝子*ALS2*がコードする蛋白alsinの示す神経保護作用について検討がなされた。運動神経細胞株NSC34細胞にSOD1変異体を発現させると顕著な神経細胞死が惹起されるが、alsin long form (alsinLF) はそれを抑制した。さらにalsinLFの神経保護作用には疾患特異性が見られた。神経保護作用の責任ドメインはalsinのRhoGEFドメインであった。次いで、神経保護作用機構検討の結果、alsinとSOD1変異体の細胞内における局在が一致し、さらに細胞内で結合していることが示された。この結合の責任ドメインもRhoGEFドメインであり、変異SOD1のみと特異的に結合することが示された。

審査に当たり、まずSOD1変異体の毒性機構およびalsinの神経保護作用機構の詳細について質問があり、現在知られている変異SOD1の毒性に関する諸仮説について説明がなされ、さらに発表者が見いだしたalsin/Rac1/PI3K/Akt3抗アポトーシス系路に関する説明がなされるとともに、それに関してAkt3特異的にシグナルを伝える分子の介在を考慮に入れて現在scaffold蛋白などを含め探索中であると回答された。次にalsinの生体内での発現およびその役割に対する質問では、全身性に発現していること、その役割に関してはin vitroでの検討のみでin vivoにおいては未知であることの回答がなされた。また、in vivoにおける神経保護作用の検討の必要性も議論され、現在alsinLF高発現マウスとSOD1変異体マウス交配実験中であるとの回答がなされた。なお、ALSの変異に起因する症例では上位運動神経優位に障害されることから、上位運動神経細胞を用いた検討の必要性が助言されるとともに、運動神経細胞と他の細胞との比較検討を行うことにより、ALSの病態解明へつながるのではないかと助言がなされた。最後に家族性ALSと孤発性ALSとの類似および相違についての質疑があり、今後家族性ALSの研究成果を孤発例に応用する重要性についての助言があった。

以上より、本論文は家族性ALSにおける病態の中心である神経細胞死に関してAlsinの果たす機序とその意義について先駆的な知見を表したものであり、今後の同疾患の病態解明研究と治療法開発に大きな影響を与えるものとして、その内容は学位論文として十分に値するものであることが認められた。

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
医化学 末松 誠

学力確認担当者 :

審査委員長 : 鈴木 則宏

試問日 : 平成17年 2月18日