

課題番号 3

## パーキンソン病モデルショウジョウバエを用いた加齢依存的 神経変性メカニズムの研究

[1] 組織

代表者：高橋 良輔  
(京都大学大学院医学研究科)

対応者：今居 謙  
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：  
小林 芳人 (京都大学大学院医学研究科)  
澤田 知世 (京都大学大学院医学研究科)

研究費：物件費 51 万 1.5 千円，旅費 8 万 8.5 千円

[2] 研究経過

パーキンソン病の約10%を遺伝性パーキンソン病が占め、現在までに幾つかの原因遺伝子が明らかとなってきた。*PINK1*および*LRRK2*はそれぞれ若年性および晩発性パーキンソン病原因遺伝子として同定されたが、その変異が加齢依存的な神経変性を引き起こす分子メカニズムは明らかとなっていない。本共同研究では、遺伝学的解析にすぐれたショウジョウバエを用いて、*PINK1*および*LRRK2*変異による神経変性の病理メカニズムの解明を目的として研究を行った。

以下に、研究活動状況の概要を記す。

本年度はパーキンソン病モデルショウジョウバエを用いて得られた結果をもとに、哺乳類で同様の分子メカニズムが保存されているかを、主にヒト培養細胞を用いた系で分子生物学的解析を行った。

分担者の澤田は3カ月間加齢医学研究所に滞在し、共同研究を行った。滞在期間終了後も対応研究者と常に綿密な連絡を取り研究を遂行した。分担者の小林は臨床医としての勤務があるため京都大学から離れることが困難であったが、研究代表者指導の下、対応研究者と綿密なディスカッションを行いながら、研究を行った。

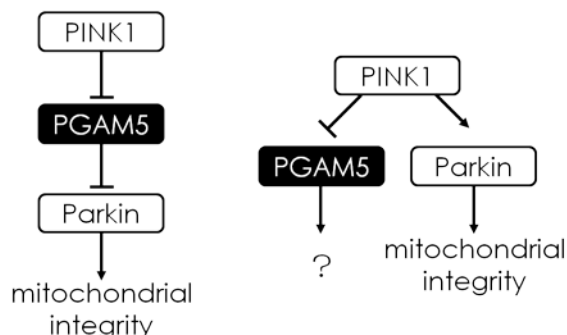
[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

*PINK1* の研究に関しては、まず第1にミトコンドリアの変性を主体とする *PINK1* 欠損の表現型が

*PGAM5* の欠損により部分的に改善されることを、パーキンソン病モデルショウジョウバエを用いて明らかにした。*PINK1* は、別の若年性パーキンソン病の原因遺伝子産物であるユビキチンリガーゼ (*E3*) *Parkin* と協同してミトコンドリアの機能・形態維持に重要であることが示唆されている。ショウジョウバエにおいて、*Parkin* の欠損も *PINK1* 欠損同様の表現型を呈するが、*PGAM5* の欠損は *Parkin* 欠損の表現型を改善させることができないことから、*PGAM5* は *PINK1*-*Parkin* pathway において *PINK1* の下流かつ *Parkin* の上流または並列の関係で機能することが示唆された (図)。



第2に、*PGAM5* の発現抑制が *Parkin* の *E3* 活性を上昇させることを培養細胞系で明らかにした。これは、ミトコンドリアの機能・形態維持における *PINK1* のシグナルを *PGAM5* が負に制御する可能性を示唆する上記のショウジョウバエで得られた結果を支持するものであった。

また *PINK1* の結合タンパク質として前年度までに同定済みであった *HECT* 型ユビキチンリガーゼ *Huwe1/Mule* と *PINK1* の相互作用についても研究を行った。その結果、*Huwe1/Mule* が *PINK1* のタンパク質安定性を制御しており、この制御がミトコンドリアの機能維持にも関与する可能性が示唆された。

*LRRK2* の研究においては、前年度までに対応研究者らが *LRRK2* 結合タンパク質 *LBP1*, *LBP2* を同定していた。ショウジョウバエにおいて *LBP1*, *LBP2* は *LRRK2* と共に *Notch* シグナルを修飾するという観察を得ていた。今年度は、*Notch* ligand

Dll1 を発現する細胞と Notch receptor を発現する細胞の共培養系を確立し、Notch シグナルのレポーターアッセイにて、LRRK2, LBP1, LBP2 が Notch シグナルに及ぼす影響を検討した。その結果、LRRK2, LBP1 が Notch シグナルの cis-inhibition を誘導することを見出した。これは、LBP1, LRRK2 が Dll1 の、エンドサイトーシス後の分解を抑制しているためであることが、Dll1 の pulse-chase 実験およびユビキチン化実験の結果により示唆された。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

PGAM5 により Parkin E3 活性が調節を受けるといふ本共同研究の発見は、ミトコンドリア局在タンパク質によって若年性パーキンソン病遺伝子産物の酵素活性が制御されるという新しい概念を確立すると考えられる。PGAM5 はグルコース代謝に関与していることがショウジョウバエ遺伝学的解析により示唆されており、アルツハイマー病同様、グルコース代謝の制御が若年性パーキンソン病の新たな治療法の開発につながる可能性が示唆され、今後の発展が期待される。

LRRK2 および  $\alpha$ -synuclein は、パーキンソン病の大部分を占める孤発性パーキンソン病の危険因子であることが明らかとなっている。ショウジョウバエ遺伝学的解析により、両遺伝子共に Notch シグナルを修飾することが対応研究者らの研究により明らかになっており、細胞内小胞輸送の障害、あるいは Notch シグナルの修飾が、本疾患のドーパミン神経変性の主因である可能性が考えられる。この発見は、パーキンソン病基礎研究に大きなヒントを与えることになるとともに、ヒト疾患研究におけるショウジョウバエ遺伝学の有効性を広く示すことになることと期待される。

#### [4] 成果資料

(1) Imai, Y., Kanao, T., Sawada, T., Kobayashi, Y., Moriwaki, Y., Ishida, Y., Takeda, K., Ichijo, H., Lu, B., Takahashi, R.: The Loss of PGAM5 Suppresses the Mitochondrial Degeneration Caused by Inactivation of PINK1 in *Drosophila*. *PLoS Genet.* 6(12): e1001229.

#### [5] 学会発表

##### Oral Presentation

(1) Sawada, T., Kanao, T., Kobayashi, Y., Takahashi, R., Imai, Y. Regulation of the PINK1 signaling by a mitochondrial protein PGAM5. Neuro2010, 2 September 2010, Kobe, Japan

(2) Imai, Y., Kanao, T., Sawada, T., Kobayashi, Y., Moriwaki, Y., Ishida, Y., Takeda, K., Ichijo, H., Lu, B., Takahashi, R.: The Loss of PGAM5 Suppresses the Mitochondrial Degeneration Caused by Inactivation of PINK1 in *Drosophila*. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会 2010年12月7日、神戸

##### Poster Presentation

(1) 澤田知世、金尾智子、小林芳人、高橋良輔、今居讓. PINK1 のユビキチンリガーゼ候補としての Mule の解析 MDSJ、2010年10月9日、京都

(2) Imai, Y., Kanao, T., Sawada, T., Kobayashi, Y., Moriwaki, Y., Ishida, Y., Takeda, K., Ichijo, H., Lu, B., Takahashi, R.: The Loss of PGAM5 Suppresses the Mitochondrial Degeneration Caused by Inactivation of PINK1 in *Drosophila*. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会 2010年12月8日、神戸

(3) 澤田知世、金尾智子、小林芳人、高橋良輔、今居讓. Identification of Mule as a candidate ubiquitin ligase of PINK1. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会、2010年12月8日、神戸

(4) Sawada, T., Kanao, T., Kobayashi, Y., Takahashi, R., Imai, Y. The HECT-type ubiquitin ligase Huwe1 mediates the stability of PINK1. 3<sup>rd</sup> AOPMC 2011, 25-27 March 2011, Taipei