

審査の結果の要旨

氏名 浦野 泰臣

本研究においてアルツハイマー病に関わる膜タンパク質である γ セクレターゼ複合体について解析を行い、以下の結果を得た。

γ セクレターゼ複合体の基本構成因子である PS、NCT、APH-1、PEN-2 について BV 上に発現させることが出来た。さらに NCT に対する特異的なモノクローナル抗体を作製し、BV が免疫用の抗原として使用可能であることを示した。発現が困難であり、抗体作製に煩雑な過程が必要とされる膜タンパク質について、ウイルスディスプレイ法は簡便、かつ有効なツールとなる可能性が示唆された。今後 BV 上への発現効率の上昇や発現メカニズムの解明などの検討は必要であるが、複数回膜貫通型タンパク質についても免疫用抗原として応用されることが期待される。

ウイルスディスプレイ法の応用として γ セクレターゼ複合体が BV 上で機能的かつ選択的に再構成され、哺乳類細胞の γ セクレターゼと生化学的、酵素的に類似した性質を持ち、高い比活性を示すことを明らかにした。これは複数の膜タンパク質からなる複合体を機能的に BV 上に発現できる可能性を示した重要な結果であるといえる。今後複合体を発現した BV を抗原として使用すれば、活性型特異的抗体や活性を阻害する抗体を作製出来る可能性も考えられる。また BV をバイオチップとして用いれば、医薬品のスクリーニング系として応用可能となることも期待される。

膜マイクロドメインの解析から、 γ セクレターゼ複合体はコレステロールに依存して脂質ラフト構造へ集積され、細胞膜上に局在する可能性が示唆された。脂質ラフトは小胞輸送と共に細胞内情報伝達の間として、伝達に必要な分子を集合させることにより効率を上げる一方で、異なる伝達経路に関わる分子を別々のラフトに配置することで、不要なクロストークを防いでいると考えられており、APP と α 、 β 、 γ セクレターゼの局在の関係を脂質ラフトという面から総合的に知ることは興味深い。 γ セクレターゼは様々な一回膜貫通型タンパク質を基質としており、脳神経細胞以外の組織においても重要な役割を果たしていると考えられるが、他の基質について脂質ラフトとの関係を示した報告はない。治療薬としての γ セクレターゼの阻害剤は、広範な基質の切断を抑制することによる副作用が懸念されている。今後 γ セクレターゼと基質との関係を脂質ラフトという局面から解析することは重要であり、直接活性を阻害するのではなく、特定のドメインへの集積の抑制という点から酵素と基質の結合を抑えることは、治療薬開発に向けた新たな標的となる可能性が考えられる。

脂質ラフトの解析を行う上で、ショ糖密度勾配遠心法により調製された DRM が細胞膜上のどのような構造に対応するかは現在のところ不明である。本研究で提示された BV を用いた抗体作製法は、膜タンパク質の持つ本来の立体構造に則した抗体の作製が可能であり、今回作製された抗 NCT 抗体や、 γ セクレターゼ複合体に対する抗体の作製は、免疫組織抗体法を用いた局在解析や、免疫沈降・マススペクトル解析による複合体タンパク質の同定など、脂質マイクロドメインの解明を進める上で強力なツールとなりうると考えられる。

本研究はコレステロール代謝と脂質ラフトにおける γ セクレターゼの関係を明らかにし、医学、生物学へ寄与するものと考えられる。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。