



# 岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

## $\alpha$ シヌクレインによるプリオン蛋白質の異常化抑制機構

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-05-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山下, 敬 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/82055">http://hdl.handle.net/20.500.12099/82055</a>

氏名（本籍）	山下 敬（滋賀県）
学位の種類	博士（医科学）
学位授与番号	甲第 60 号
学位授与日付	令和 3 年 6 月 25 日
専攻	医療情報学専攻
学位論文題目	$\alpha$ -シヌクレインによるプリオンタンパク質の異常化抑制機構 (Inhibitory mechanism of $\alpha$ -synuclein upon prion's pathogenic conversion reaction)
学位論文審査委員	(主査) 教授 下澤 伸行 (副査) 教授 上田 浩 (副査) 教授 桑田 一夫

### 論文内容の要旨

我々はこれまでの研究を通して、ヒト  $\alpha$ -シヌクレイン ( $\alpha$ S) が一過性に蓄積されたヒトプリオンタンパク質 (hPrP) 中間体に結合することで、hPrP のアミロイド生成を抑制すると予想した。しかし、この仮説を支持する直接的なエビデンスはこれまで報告されていなかった。

本研究では、高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM)、動的光散乱法 (DLS) および多次元多核磁気共鳴 (NMR) を用いて、hPrP と  $\alpha$ S との相互作用を観察することにより、これを事実として立証した。正常のプリオン蛋白質は、サイズの異なるオリゴマーを形成して存在していた。一方、 $\alpha$ S は、ランダムな構造を持つモノマーとして存在していた。hPrP に  $\alpha$ S を添加すると、hPrP の多重分散性はすぐに失われ、hPrP と  $\alpha$ S とのヘテロオリゴマー形成 (三量体、次いで二量体形成) がコヒーレントに開始された。しかし、オリゴマーよりサイズの大きい多量体形成、例えばアミロイド形成は観察されなかった。

さらに、ヘテロ核 NMR 分光法を用いて、最終産物である hPrP- $\alpha$ S 二量体の溶液構造を調べた。このヘテロ二量体では、hPrP の C 末端らせん領域はモルテングロビュール様の状態にあるが、 $\alpha$ S のホットスポットと C 末端領域は hPrP と選択的に相互作用していることがわかった。

これらの観察結果により、 $\alpha$ S は hPrP と安定なヘテロ二量体を形成することで hPrP 中間体を捕捉し、hPrP のアミロイド生成を抑制していると考えられた。

### 論文審査結果の要旨

これまでの我々の研究から、ヒト  $\alpha$ -シヌクレイン ( $\alpha$ S) が hPrP のアミロイド形成を抑制することが分かった。その機序として、一過性に蓄積されたヒトプリオンタンパク質 (hPrP) のフォールディング中間体に結合することによると予想された。しかし、この仮説を支持する直接的なエビデンスはこれまで報告されていなかった。

本研究では、高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM)、動的光散乱法 (DLS) および核磁気共鳴 (NMR) を用いて、hPrP と  $\alpha$ S との相互作用を観察することにより、 $\alpha$ S による hPrP アミロイド抑制機構を具体的に明らかにした。HS-AFM により、正常のプリオン蛋白質は、サイズの異なるオリゴマーを形成して存在していることが分かった。一方、 $\alpha$ S はランダムな構造を持つモノマーとして存在した。hPrP に  $\alpha$ S を添加す

ると、hPrP の多重分散性はすぐに失われ、hPrP と  $\alpha$ S とのヘテロオリゴマー形成（三量体、次いで二量体形成）反応がコヒーレントに開始された。この反応は二量体形成が最終産物であり、アミロイドの形成は観測されなかった。DLS 観測においても、最終的なポピュレーションは、ヘテロ二量体であった。

さらに、多次元多核 NMR 分光法を用いて、最終産物である hPrP- $\alpha$ S 二量体の溶液構造を調べた。このヘテロ二量体では、hPrP の C 末端らせん領域はモルテングロビュール様状態であったが、 $\alpha$ S においては、そのホットスポットと C 末端領域において hPrP と選択的に結合していることがわかった。これらの観察結果より、 $\alpha$ S は安定なヘテロ二量体を形成することにより、hPrP 中間体を捕捉し、hPrP のアミロイド生成を抑制していることが明らかになった。

申請者が見出した知見は、 $\alpha$  シヌクレインのヒトプリオンタンパク質アミロイド抑制機構を分子及び原子分解能で解明した画期的なものであり、今後のアミロイド疾患の治療法開発にも役立つ内容を含んでいる。こうした観点より、申請者山下敬氏の論文は学術的価値が極めて高く、博士学位論文に値するものと判定した。

### 最終試験結果の要旨

山下氏の論文は、 $\alpha$  シヌクレインが安定なヘテロ二量体を形成することにより、ヒトプリオン蛋白質の中間体を捕捉し、プリオンタンパク質のアミロイド生成を抑制することを、分子及び原子分解能で解明したものである。

申請者が見出した知見は、 $\alpha$  シヌクレインによるヒトプリオンタンパク質アミロイド抑制機構の解明のみでなく、今後のアミロイド疾患の治療法開発にも結び付く画期的な内容であり、審査付き論文として公表済みの論文に基づく、完成された内容であることを確認した。

また、公聴会において、学位論文の内容に関する事項、すなわち、高速原子間力顕微鏡や NMR による構造解析の詳細、 $\alpha$  シヌクレインとヒトプリオン蛋白質によるヘテロ二量体の特徴、今後の研究の方向性などについての諮問を行った。

申請者からは、十分な内容の回答が得られたので、博士（医科学）に値するものと判断し、最終試験に合格したと判断した。

### 論文リスト

1. Satoshi Yamashita, Yuji O Kamatari, Ryo Honda, Ayumi Niwa, Hiroyuki Tomiata, Akira Har  
a, Kazuo Kuwata, Monomeric  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ S) inhibits amyloidogenesis of human prion protein  
(hPrP) by forming a stable  $\alpha$ S-hPrP hetero-dimer. *Prion* **15**, 37-43, 2021 (IF 1.95)