

平成 25 年度国際交流助成(海外渡航)

研究課題

「精神神経疾患発症におけるミトコンドリアダイナミクスとタンパク SUMO 化の関与」

高村 明孝

大阪大学大学院連合小児発達学研究所

Tanz Centre for Research in Neurodegenerative diseases (CRND),
University of Toronto

【研究目的】

ミトコンドリアは生命活動維持に重要な役割を果たす細胞内小器官であり、その機能異常は生体にとって重篤な障害をもたらす。近年、ミトコンドリア自身の劇的な構造変化(ミトコンドリアダイナミクス)によって、その機能が維持されることが明らかとなり、精神神経疾患への関与が示唆されている。また、翻訳後修飾の1つであるタンパク質SUMO化のミトコンドリアダイナミクスへの関与、神経機能制御における重要性についても報告されつつある。

本研究ではミトコンドリアダイナミクスとタンパク質SUMO化メカニズムの詳細な検討、およびそれらの精神神経疾患発症との関連の解明を目的とする

【背景】

ミトコンドリアは内部に独自のゲノム(mtDNA)を持つ2重膜構造の細胞内小器官であり、エネルギー産生を始めとした様々な細胞内の代謝経路において中心的な役割を果たし、生命活動維持に重要な役割を果たしている。これまでの研究から、ミトコンドリア異常と疾患の関連が明らかになりつつある。例えば、主に mtDNA の変異によって引き起こされるミトコンドリアの呼吸活性障害は一般にミトコンドリア病と呼ばれ、特に脳や骨格筋、心筋に異常をきたす。また、パーキンソン病やアルツハイマー病をはじめとした神経変性疾患、双極性障害や自閉症をはじめとした精神疾患、さらには脱髄疾患の原因としてもミトコンドリアの機能異常が報告されている。しかしながら国内外で多くの研究が行われているものの、どのようにしてミトコンドリアの異常が疾患発症に結びつくのか、その詳細については不明な点が多い。

近年、ミトコンドリアを生きた細胞内で動的にとらえる研究が進み、ミトコンドリアが生体内において分裂と融合を繰り返し、劇的にその構造を変化させながらその機能を維持しているというミトコンドリアダイナミクスという概念が注目を浴びている(Friedman & Nunnari, 2014)。現在までに様々な分子がミトコンドリアダイナミクスに関与することが報告されており(van der Bliek et al., 2013)、

特にミトコンドリア融合因子である Mfn1、Mfn2、OPA1、ミトコンドリア分裂因子である Drp1、Fis1、Mff が中心となり、そのバランスによってミトコンドリアダイナミクスが制御されると考えられている(図 1)。近年、神経・脳機能と

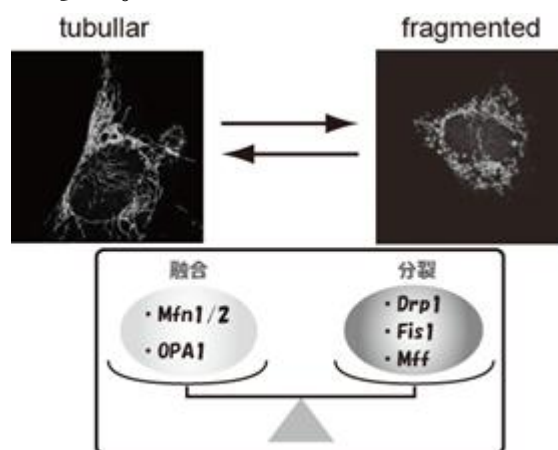


図1、ミトコンドリアダイナミクス

の関連についてもいくつかの重要な報告がされており、神経変性疾患発症との関連(Chen & Chan, 2009)、および脳発達への関与(Ishihara et al., 2009)が報告されつつある。

一方で、タンパク質 SUMO 化は転写制御やタンパク安定化、タンパク輸送など様々な細胞内現象に関与するタンパク質翻訳後修飾のひとつである。生体内の様々な現象において重要な役割を果たしていると考えられ、神経・脳機能においてはシナプス・スパイン形成や神経伝達(Craig & Henley, 2012; Wilkinson et al., 2010)、神経変性疾患(Lee et al., 2013; Kim et al., 2011)に関与することが近年報告されている。また、ミトコンドリアダイナミクスとの関連についても報告されており、ミトコンドリア分裂タンパクの1つである Drp1 の安定化が SUMO 化によって制御されることが報告されている(Anderson & Blackstone, 2013; Harder et al., 2004)。

このようにミトコンドリアダイナミクスとタンパク SUMO 化はそれぞれ個別に様々な現象への重要性が報告されているものの、精神神経疾患、ミトコンドリアダイナミクスとタンパク SUMO 化という3つのつながりについてはいまだ不明な点が多い。これらの解明は精神神経疾患治療薬の新規ターゲットとなる可能性がある。そこで本研究ではこれらのメカニズムとその関係に注目し、詳細に検討することで精神神経疾患発症メカニズムの解明を目指して研究を行った。

【結果と考察】

SUMO については現在のところ SUMO1 から SUMO4 までの4つの isoform が報告されており、それぞれの isoform が異なる機能を持つことが報告されている。そこでまず、

SUMO1 トランスジェニックマウスを用いて SUMO1 機能の解明を目指して研究を行った。SUMO1 トランスジェニックマウスの脳サンプルを用い、SUMO1 による SUMO 化候補因子を IP-MS によって解析したところ、

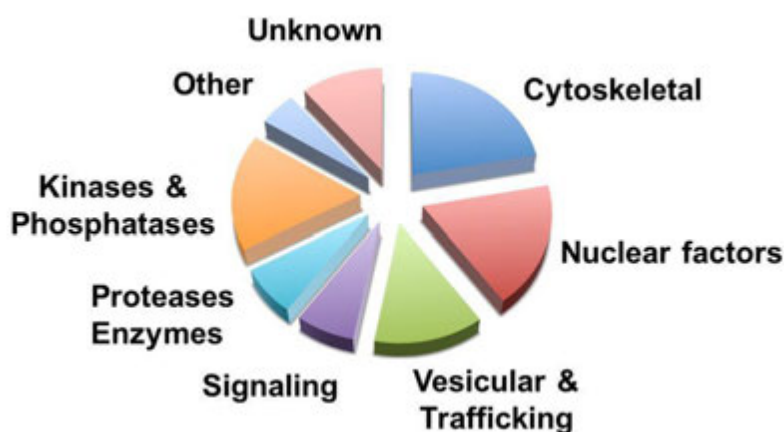


図 2、IP-MS による SUMO 化候補因子

100 以上の候補因子が得られた(図 2)。そこで現在、これらの中でも特にシナプ

ス形成、ミトコンドリア機能、統合失調症や自閉症および神経変性疾患といった精神神経疾患発症に関与する分子に注目し、免疫沈降法による結合の確認、それらの分子の SUMO 化による機能制御、局在変化について、マウス初代培養神経細胞や神経芽細胞腫 SH-SY5Y などの培養細胞およびマウス脳サンプルを用いて検討を進めている。また、SUMO1 の脳発達における役割を明らかにするため、ゴルジ染色による神経細胞突起・シナプス形態の観察を行っている。さらに、SUMO isoform による基質特異性を明らかにするため、SUMO2 トランスジェニックマウスを用い、同様に IP-MS による SUMO 化候補因子の解析、ゴルジ染色による神経回路網形成における役割の検討等を SUMO1 トランスジェニックマウスと同様に解析を進めている。

一方で、前述のマウスにおけるミトコンドリア形態異常を MitoTracker を用いた Live Cell Imaging 法によって観察し、ミトコンドリア形態制御因子の発現・局在変化を免疫組織化学染色法およびウエスタンブロット法によって検討を行っている。

今後、上記のようなマウスや培養細胞を用いた実験で得られた結果から精神神経疾患との関連が示唆された場合、さらにそれぞれの疾患患者死後脳を用いた実験を行うことを検討している。以上の研究結果から、ミトコンドリアダイナミクスとタンパク SUMO 化の制御メカニズムを解明し、精神神経疾患発症との関連を明らかにすることで疾患発症メカニズムの解明、新規治療薬の開発に寄与できると考えている。

【参考文献】

1. Friedman JR, Nunnari J. Mitochondrial form and function. *Nature*. 2014 Jan 16;505(7483):335-43.
2. van der Bliek AM, Shen Q, Kawajiri S. Mechanisms of mitochondrial fission and fusion. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013 Jun 1;5(6).
3. Ishihara N, Nomura M, Jofuku A, Kato H, Suzuki SO, Masuda K, Otera H, Nakanishi Y, Nonaka I, Goto Y, Taguchi N, Morinaga H, Maeda M, Takayanagi R, Yokota S, Mihara K. Mitochondrial fission factor Drp1 is essential for embryonic development and synapse formation in mice. *Nat Cell Biol*. 2009 Aug;11(8):958-66.

4. Chen H, Chan DC. Mitochondrial dynamics--fusion, fission, movement, and mitophagy--in neurodegenerative diseases. *Hum Mol Genet.* 2009 Oct 15;18(R2):R169-76.
5. Craig TJ, Henley JM. Protein SUMOylation in spine structure and function. *Curr Opin Neurobiol.* 2012 Jun;22(3):480-7.
6. Wilkinson KA, Nakamura Y, Henley JM. Targets and consequences of protein SUMOylation in neurons. *Brain Res Rev.* 2010 Sep;64(1):195-212.
7. Lee L, Sakurai M, Matsuzaki S, Arancio O, Fraser P. SUMO and Alzheimer's disease. *Neuromolecular Med.* 2013 Dec;15(4):720-36.
8. Kim YM, Jang WH, Quezado MM, Oh Y, Chung KC, Junn E, Mouradian MM. Proteasome inhibition induces α -synuclein SUMOylation and aggregate formation. *J Neurol Sci.* 2011 Aug 15;307(1-2):157-61.
9. Anderson CA, Blackstone C. SUMO wrestling with Drp1 at mitochondria. *EMBO J.* 2013 May 29;32(11):1496-8.
10. Harder Z, Zunino R, McBride H. Sumo1 conjugates mitochondrial substrates and participates in mitochondrial fission. *Curr Biol.* 2004 Feb 17;14(4):340-5.