

## 学位論文の要約

論文題目 筋萎縮性側索硬化症関連タンパク質 VAP の生理機能と分泌機構解析  
(Investigating physiological functions and secretion mechanism of ALS-related protein VAP)

広島大学大学院統合生命科学研究科  
生命医科学プログラム  
氏名 亀村 興輔

細胞内オルガネラがその構造維持に必要な不可欠な脂質の供給を受けるには、脂質の供給源である小胞体に「接触」する必要がある。この際、細胞内オルガネラの「繋ぎ止め分子」として機能するのが VAP と呼ばれる小胞体膜タンパク質である。VAP は酵母からヒトまで進化的に保存されており、膜貫通ドメインによって小胞体膜にアンカーされ、N 末の MSP ドメインが細胞質側を向くと考えられている。ヒト VAP の 1 つ VAPB/ALS8 における点突然変異は筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を引き起こす。近年、VAPB の MSP ドメインが切断・分泌され、他の細胞の様々な膜受容体に結合することが分かった。このことから、VAPB は細胞内において「繋ぎ止め分子」として機能すると同時に、細胞外でも機能する可能性が示唆されている。興味深いことに、VAPB に変異の入っていない孤発性 ALS 患者においても、脊髄の VAPB mRNA 量が減少し、脳脊髄液中の MSP 切断断片が減少しているという報告がある。上記研究背景を踏まえ本研究では、VAPB の細胞内外における生理機能と分泌メカニズムの解明を目的とした。さらに、本研究で得られた知見を通して、VAPB がどのように ALS 発症に関与しているかを明らかにすることを目指した。モデル生物として、遺伝学的解析に適したショウジョウバエを採用した。

本論文の結果 (1) ~ (3) においては、神経細胞の形態形成・維持における VAPB の生理機能を解析した結果、および ALS8 疾患変異によって神経細胞に生じる異常に関する結果を示す。これらの結果から、Vap33 は神経の形態維持とオルガネラの細胞内局在に必要であること、ALS 疾患変異によってシナプスタンパク質の局在や小胞体品質管理機構に異常が生じることが示唆されている。

本論文の結果 (4) ~ (13) においては、VAPB の細胞外生理機能及び分泌機構を解析した結果を示す。「非分泌型 *vap33* 変異タンパク質」を作製し、*vap33* 機能欠失変異体に過剰発現したところ、個体の致死性が誘発されたことから、分泌された MSP ドメインが個体生存に重要な役割を果たしていることが明らかになった。また、Vap33 MSP ドメインの分泌に重要な遺伝子を特定するために、*vap33* 機能欠失変異体を用いた遺伝学的スクリーニング及び S2 細胞を用いた生化学的実験を行った。その結果、Vap33 は典型的分泌経路を介して細胞膜まで輸送される過程でトポロジを逆転させ、その後 MMP1/2 プロテアーゼによる切断を受けることで結果的に MSP ドメインが分泌されることを明らかにした。今後、MMP1 発現量や細胞膜上 VAPB のトポロジー状態を調節することで MSP ドメインの分泌量を制御し、これが ALS の新しい治療戦略につながることを期待している。