

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19057007

研究課題名（和文） 神経細胞における Cdk5/p35 の活用戦略とシグナル伝達抑制因子としての役割

研究課題名（英文） Utilization of Cdk5/p35 and its role as a negative modulator in signal transduction pathways in neurons.

研究代表者

久永 眞市 (HISANAGA SHIN-ICHI)

首都大学東京・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：20181092

研究代表者の専門分野：神経生化学

科研費の分科・細目：脳神経科学

キーワード：サイクリン依存性キナーゼ，分化，増殖，神経細胞，細胞死，シグナル伝達，

### 1. 研究計画の概要

Cdk5 は最終分化した神経細胞において、p35 との結合で活性化されるサイクリン依存性キナーゼ (Cdk) である。p35 のカルパインによる p25 への限定分解は Cdk5 を異常活性化させ、細胞死を誘導する。神経細胞はこのような死のリスクにも関わらず、Cdk5/p35 を巧妙に利用している。Cdk5 は脳形成やシナプス可塑性など多様な機能に関与するが、その特徴は PKA、CaMKII、PKC などのセカンドメッセンジャー依存性キナーゼとの拮抗性にある。即ち、Cdk5 はシグナル伝達の負の制御因子として、過剰な反応や興奮を抑えていると推測される。本研究では神経細胞が Cdk5 を有効利用する戦略と興奮抑制因子としての役割について明らかにする。

### 2. 研究の進捗状況

(1) 神経細胞が Cdk5 を有効利用する方策についての研究：Cdk5 は神経細胞の細胞質に存在する。Cdk5 が核内に移行すると細胞死を引き起こすと考えられる。Cdk5 を細胞質に留めておく戦略について検討した。活性化サブユニット p35 のミリスチル化を介した膜結合がその本質であると考え、ミリスチル化できない p35G2A 変異体を作成し、細胞内局在について、株化細胞、培養神経細胞を用いて検討した。その結果、Cdk5-p35 が細胞質に局在する主な理由は、p35 のミリスチル化にあることが示された。また、ミリスチル化以外にも、p35N 末に存在するリジンクラスターも関わることを示された。

(2) p35 がカルパインによって限定分解されると、膜結合活性が失われ、Cdk5-p25 は核内に入っていきることが考えられる。p35 の限定

分解機構について検討した。p35G2A にすると限定分解が抑制されることから、膜近傍で限定分解が起こっていることが示された。

(3) Cdk5-p25 の細胞死誘導活性を小胞体ストレス誘導細胞死によって調べた。神経細胞に小胞体ストレスを与えると 3-4 日後に細胞死が引き起こされる。この時、p35 は p25 へと限定分解され、核の中に移行し細胞死を誘導することが示された。

(4) Cdk5 の神経生存活性を明らかにした。パーキンソン病誘導試薬である MPP+ で神経細胞を処理すると細胞死が誘導される。その際、細胞死が起こる前に p35 の著しい分解と Cdk5 活性の低下が見られた。MPP+ はミトコンドリア障害を介して p35 の分解を誘導していた。p35 を補うと神経細胞死が抑制され、p35 を減少させると MPP+ に対する感受性が増すことから、Cdk5 の活性低下は細胞死を引き起こすこと、即ち Cdk5 には神経細胞生存活性があることが示された。

(5) ハンチントン病はハンチンチンのポリグルタミン鎖が伸長し、細胞内で凝集を起こし、神経細胞死を誘導する神経変性疾患である。Cdk5 を高発現すると異常ハンチンチンの凝集が抑えられることを明らかにした。また、この効果は Cdk5 の微小管への影響を介していることが示唆された。

(6) タウの異常リン酸化はアルツハイマー病の特徴の一つである。異常リン酸化に関わるキナーゼの一つが Cdk5 である。Cdk5 によるリン酸化を脱リン酸化の観点から調べた。Cdk5 でリン酸化したタウは PP2A で脱リン酸化された。Pin1 を加えると脱リン酸化が促進された。Pin1 による脱リン酸化促進効果は FTDP17 型変異タウでは観察されなかった。タ

ウの脱リン酸化は微小管に結合すると完全に抑制された。FTDP17型変異タウの高リン酸化の原因の一部は変異による Pin1 感受性の喪失ではないかと考えられた。

### 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している

### 4. 今後の研究の推進方策

Cdk5 と神経細胞の生死、神経変性疾患などとの関連についてはこのペースで研究を続け、最終的には神経変性疾患の抑制法などの開発につなげられることを期待している。シナプス可塑性などシグナル伝達抑制因子としての役割については、Cdk5 の基質となる幾つかの新しい因子を見つけているので、その因子を手がかりに発展させていくことを考えている。

### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 15 件)

(1) Endo, R., Saito, T., Asada, A., Kawahara, H., Ohshima, T. and Hisanaga, S. Commitment of MPP+-induced neuronal cell death by proteasome-mediated degradation of p35 Cdk5 activator. *J. Biol. Chem.*, 284, 26029-26039, 2009.

(2) Yotsumoto, K., Saito, T., Asada, A., Oikawa, T., Kimura, T., Uchida, C., Ishiguro, K., Uchida, T., Hasegawa, M., and Hisanaga, S. Effect of pin1 or microtubule binding on dephosphorylation of FTDP-17 mutant tau. *J. Biol. Chem.* 284, 16840-16847, 2009.

(3) Kaminosono, S., Saito, T., Oyama, F., Ohshima, T., Asada, A., Nagai, Y., Nukina, N., and Hisanaga, S. Suppression of mutant huntingtin aggregate formation by Cdk5/p35 through the effect on microtubule stability. *J. Neurosci.* 28, 8747-8755, 2008.

(4) Asada, A., Yamamoto, N., Gohda, M., Saito, T., Hayashi, N., and Hisanaga, S. Myristoylation of p39 and p35 is a determinant of cytoplasmic or nuclear localization of active cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5) complexes. *J. Neurochem.* 106, 1325-1336, 2008.

(5) Saito, T., Konno, T., Asada, A. and Hisanaga, S. p25/Cdk5 promotes the

progression of cell death in nucleus of ER-stressed neurons. *J. Neurochem.* 102, 133-140, 2007.

[学会発表] (計 58 件)

(1) Hisanaga, S. Pro-survival and pro-apoptotic activity of neuron-specific protein kinase Cdk5. 27th Annual conference of Indian Academy of Neuroscience (12月, インド)

(2) Hisanaga, S. Neuronal development and neurodegeneration on Cdk5 and related signaling. 第32回日本神経科学大会シンポジウム (9月, 名古屋)

(3) Hisanaga, S. (2009) Effect of PIN1 and micro-tubules binding on dephosphorylation of FTDP-17 mutant Tau. International Conference on Alzheimer's Disease. (7月, ウィーン)

(4) 久永真市, 浅田明子, 斎藤太郎. (2008) サイクリン依存性キナーゼ5の活性制御と神経変性疾患. 第31回日本分子生物学会シンポジウム (12月; 神戸)

(5) 久永真市, 浅田明子, 斎藤太郎. (2007) 神経細胞の生死を決める Cdk5 の膜結合と核移行. 第30回分子生物学会ワークショップ (12月, 横浜)

[図書] (計 2 件)

久永真市. 多様な神経機能を制御するキナーゼ Cdk5, 特集にあたって. 蛋白質 核酸 酵素 54, 789-792, 2009.

Hisanaga, S. and Ishiguro, K. The Kinase Activity of Cdk5 and Its Regulation. In Cdk5 book, eds. Ip, N. and Tsai, L-H. Springer, NY. 2008.

[その他]

ホームページ

<http://www.sci.metro-u.ac.jp/mnc/>