

自己評価報告書

平成23年5月2日現在

機関番号：15301
研究種目：新学術領域研究
研究期間：2008～2012
課題番号：20117011
研究課題名（和文）孤発性神経変性疾患発症に関わるニトロソ化シグナルの分子作用メカニズム
研究課題名（英文）Molecular mechanism of nitrosative stress in sporadic neurodegenerative disorders.
研究代表者
上原 孝 (UEHARA TAKASHI)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：00261321

研究分野：生物系薬学

科研費の分科・細目：薬理学

キーワード：一酸化窒素，酸化ストレス，S-ニトロシル化，シグナル伝達，ユビキチン

1. 研究計画の概要

アルツハイマー病，パーキンソン病などの孤発性神経変性疾患発症のメカニズムについては精力的な研究が展開されているものの，今もって不明な点が多く残されている．これらの発症機序を明らかにすることは治療・予防薬の開発上必要不可欠である．

申請者は病態時に蛋白質システイン残基のニトロソ化が起こり，触媒活性に影響を及ぼす結果，細胞死が惹起されることを証明してきた．そこで，本研究では神経細胞死に関わる新規ニトロソ化蛋白質の同定とその影響について詳細に検討することで，神経変性疾患発症機構の本質に迫ることを目的とし，さらにその成果に基づく簡便な病態診断法の開発を目指す．

2. 研究の進捗状況

特異的S-ニトロソ(SNO)化蛋白質同定法と抗体アレイ法をハイブリッドしたスクリーニングにより，NOの標的蛋白質としてPTENを単離同定することに成功した．そこで，PTENとNOの関係について詳細な解析を進めた．まず，PTENのニトロシル化は非常に低濃度のNOによって起こること，また標的となるシステイン残基はこれまでに報告のあつ

た過酸化水素によるそれと異なる部位

(Cys83)で起こることを新たに発見した．

これは酸化ストレスの種類によって修飾される部位が異なる初めての例であり，非常に興味深い知見であった．さらには，低濃度のNO処理によってAktが活性化すること，高濃度のNOではAktが抑制されることがわかった．このとき，PTENはいずれの濃度のNOによって抑制されていた．したがって，PTENはNOに対する感受性が高く低濃度NOによって特異的にS-ニトロシル化されることで活性が抑制されて，その結果としてAktシグナルがonになることが明らかとなった．

また，酵母ツーハイブリッド法によりiNOS結合蛋白質として単離したSPSB2とそのファミリーメンバーの機能解析を行った．SPSB1，SPSB2，およびSPSB4がiNOSのN末端にあるDINNN配列を認識して結合することがわかった．これらのSPSBはECS型ユビキチンリガーゼとiNOSを繋ぐことにより，iNOSのユビキチン/プロテアソーム依存的分解を誘導した．DINNN配列を含むiNOSのN末断片はiNOSとSPSBの結合を阻害した．これをマクロファージに発現させるとiNOSの寿命が延長されて，それに伴いNO産生量が増大し，マクロファージの細胞死が誘導された．これらの

結果から、SPSBはiNOS寿命の制御分子であることがわかった。

3. 現在までの達成度

〈区分〉② 本研究課題は順調な成果を挙げており、すでに原著論文として2報、英文総説として1報を公表している。さらに現在、改訂再投稿中である。

4. 今後の研究の推進方策

当初の予定通り、次のNO標的蛋白質に関する研究を中心に行う。とくに小胞体に存在する蛋白質品質管理系システムに対する影響を分子レベルで解析する。

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8件)

- ① Matsumoto K, Nishiya T, Maekawa S, Horinouchi T, Ogasawara K, Uehara T, & Miwa S. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011 印刷中 査読有
- ② Nishiya T & Uehara T. *Nitric Oxide* 2011 印刷中 査読有
- ③ Nishiya T, Matsumoto K, Maekawa S, Kajita E, Horinouchi T, Fujimuro M, Ogasawara K, Uehara T, & Miwa S. *J. Biol. Chem.* 286, 9009-9019. 2011 査読有
- ④ Watanabe Y, Kaida Y, Fukuhara S, Takechi K, Uehara T, & Kamei C. *Epilepsia* 52, 140-150. 2011 査読有
- ⑤ Katayama T, Sakaguchi E, Komatsu Y, Oguma T, Uehara T, & Minami M. *Eur. J. Neurosci.* 31, 1359-1367. 2010 査読有

[学会発表] (計32件)

- ① 上原 孝, 蛋白質S-ニトロシル化による

新規シグナリング調節機構, 日本薬学会第131年会, 2011.3.29, 静岡グランシップ

- ② 上原 孝, 抗体アレイを使用した新規S-ニトロシル化蛋白質の探索, 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会, 2010.12.9, 神戸国際会議場
- ③ Takashi Uehara, Detection of oxidized protein-disulfide isomerase with a specific antibody, 40th Annual Meeting Neuroscience 2010, 2010.11.15, San Diego Convention Centre
- ④ 上原 孝, ニトロソ化ストレスを切り口とした神経変性疾患の早期診断/治療薬開発へのアプローチ, 生体機能と創薬シンポジウム 2010 京都, 2010.9.9, グラソルビア京都
- ⑤ 上原 孝, 生理的条件下におけるS-ニトロシル化蛋白質の網羅的同定と機能解析」第81回日本生化学会大会/第31回日本分子生物学会年会合同大会, 2008.12.10, 神戸国際会議場

[図書] (計1件)

- ① 上原 孝, 羊土社, 実験医学, 2009, 5ページ

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ

http://web.me.com/takashi_uehara/ サイト /Welcome.html