

学内グラント 報告書

平成23年度 学内グラント終了時報告書

ペルオキシソーム局在プロテアーゼ Tysnd1 の脳神経系での役割

研究代表者 水野 由美 (ゲノム医学研究センター)

研究分担者 穂田 真澄*

緒言

ペルオキシソームは細胞内小器官の一つで超長鎖脂肪酸の代謝、フィタン酸等分岐鎖脂肪酸の代謝、リン脂質の一種であるプラズマローゲン合成などを担う。ペルオキシソームやペルオキシソームタンパク質が欠損するペルオキシソーム病では発達障害、精神発達遅滞、運動能力、視力、聴力の低下などが見られる。また、予後不良で重篤な事が多く生体内でのペルオキシソームの機能が重要であると思われた。しかし、ペルオキシソームの障害がなぜ神経症状を呈するかについての明確な答えはまだ見つかっていない。このような中、2007年に新たに同定されたTysnd1は、ペルオキシソームでの脂質代謝を担う酵素を切断するペルオキシソームプロセッシングプロテアーゼである事が明らかとなった。これまでの研究で、Tysnd1によるペルオキシソームの脂質代謝酵素の切断は、ペルオキシソームの脂質代謝機能の安定に重要である事を明らかにした(論文投稿中)。しかし、まだ、Tysnd1と脳の機能についての解析はなされていない。

そこで本研究では、Tysnd1欠損マウスを用い、ペルオキシソーム局在プロテアーゼであるTysnd1の脳での役割を解明する為の基礎となる解析を行った。

材料と方法

Tysnd1欠損マウスはCre-LoxPシステムによりTysnd1のエキソン2-4を欠失させた、全身でTysnd1が欠損しているものを解析に使用した。ホモのTysnd1欠損マウスはヘテロマウス同士の交配により得た。動物実験は埼玉医科大学動物実験委員会の承認を得た。また、動物福祉の観点から出来るだけ動物に苦痛を与えない実験方法を選択し、埼玉医科大学実験動物指針に従い行った。

マウスの脳の観察は、パラフィン切片をつくり、ヘマトキシリン・エオシン染色またはトルイジンブルー

染色にて行った。

結果

Tysnd1欠損マウスの脳のパラフィン切片を作り小脳、海馬、大脳皮質を光学顕微鏡観察したところ、長期飼育をしたTysnd1欠損マウスにおいて特徴的な所見が見られた(data not shown)。しかし、個体差の可能性もあるためさらに個体数を増やして解析をする必要があり継続中である。

また、神経症状との関連を調べるための行動解析では、9週令の野生型とTysnd1欠損マウスを各20匹、合計40匹用意した。マウスの行動解析では、各実験群をn=20の系で網羅的スクリーニングを行うのが一般的である。このため、実験に必要十分なマウスを得るための親のヘテロのマウスを雌雄あわせて80匹用意する必要があったことから時間がかかり、解析は現在進行中である。

考察

Tysnd1欠損マウスは出生時には野生型マウスとの見かけ上の差は無いが、長期飼育によって脳神経系に違いが認められる可能性がある。ペルオキシソームの脂質代謝機能の低下による疾患、特に、中年期以降に症状の現れるヒト神経変性疾患との関連性や、その発症のメカニズムの解析にTysnd1欠損マウスが有用であると思われる。引き続き行動解析等を詳細に進める事で、これらの点について明らかにできると考える。

研究成果リスト

学会発表

- 1) Mizuno Y, Ninomiya Y, Iseki M, Iwasa H, Nakachi Y, Akita M, Tsukui T, Ito C, Toshimori K, Shimozawa N, Nishimukai M, Hara H, Maeba R, Okazaki T, Horai Y, Watanabe M, Motegi H, Wakana S, Noda T, Kurochkin IV, Mizuno Y, Schoenbach C, Okazaki Y. Tysnd1 deficiency interferes with mouse

*中央研究施設 形態部門

- peroxisomal functions, 第34回日本分子生物学会年会, 4T18pII-4, 2011年12月16日, 横浜市
- 2) 水野由美, 伊関美緒子, 穂田真澄, 水野洋介, 岡崎康司. Tysnd1 欠損細胞を用いたペルオキシ

ソームタンパク質の細胞内局在解析, 第9回RCGMフロンティアシンポジウム, P30, 2011年11月3日, 埼玉県