

シナプス研究会(12月14-15日) 要旨

脊髄小脳失調症 14 型(SCA14)の原因となる変異 γ PKC は初代培養小脳プルキンエ細胞樹状突起の縮小とスパインの減少を引き起こす。

広島大学大学院医歯薬学総合研究科

関 貴弘、酒井規雄

2003年に神経変性疾患の1つである脊髄小脳失調症14型(SCA14)の原因として γ PKC遺伝子のmissense変異が同定された。我々はこれまでに変異 γ PKCを培養細胞株(CHO、SH-SY5Y)に発現させることにより、変異 γ PKCが凝集体を形成し、アポトーシスを誘発することを明らかにしており、これらの性質がSCA14の発症に関与していると示唆される。本研究ではSCA14の病変部位である小脳プルキンエ細胞(PC)に変異 γ PKCがどのような影響を及ぼすかを検討した。

蛍光タンパク質GFP(Green fluorescent protein)を融合させた変異 γ PKC-GFPをマウス胎仔由来初代培養小脳PCに発現させた。胎生14日目のマウス胎仔から小脳を単離し、分散培養を行った。培養14日目(DIV14)もしくはDIV21にアデノウイルスベクターを用いて、PC特異的に野生型および2種類の変異 γ PKC-GFP(S119P、G128D)を発現させ、DIV28に細胞の観察を行った。

野生型 γ PKC-GFPはPCの細胞体および樹状突起に均一に発現する一方で、変異 γ PKC-GFPの発現するPCの多くで変異 γ PKC-GFP凝集体が観察された。また、野生型 γ PKC-GFP発現PCと比較して、変異 γ PKC-GFP発現PCでは細胞面積、特に樹状突起面積の減少やスパイン密度の低下が観察された。これらの現象は凝集体の有無に関係なく観察された。一方、PCに発現した野生型 γ PKC-GFPは高濃度 K^+ 刺激により樹状突起において細胞質から細胞膜へと一過性の速いトランスロケーションを示したが、変異 γ PKC-GFPではこのトランスロケーションはほんのわずかしか観察されなかった。この原因を調べるため、FRAP(Fluorescent recovery after photobleaching)解析を行ったところ、PCにおいて変異 γ PKC-GFPは野生型と比較して、著しく流動性が低下していた。

以上の結果より、変異 γ PKCは小脳PCでも凝集体を形成する一方で、凝集体形成とは無関係に樹状突起の形態、スパイン密度の低下といった形態的な変化を引き起こすことが明らかとなった。これらは、変異 γ PKCの細胞内流動性により刺激依存性トランスロケーションが障害された結果、樹状突起シグナル伝達に異常が生じる結果として引き起こされたのではないかと考えられる。