

cells. These results together suggested that SH3BP5 mediates HN activity as an essential downstream effector and that SH3BP5 inhibits the JNK-mediated proapoptotic signal by directly binding to JNK.

## P2-22

### Calmodulin-like skin protein (CLSP) は Pick 病の新しいバイオマーカーである

(医学部 3 年)

○森岡 博美

(医学部 4 年)

積 知輝

(医学部 5 年)

玉城 博章

(神経生理学)

西島 佳奈、Tim Dekker、八谷 如美

金子 清俊

Pick 病は進行性の神経変性疾患であり、前頭葉および側頭葉の前方皮質の障害および病理学的には細胞内封入体 (Pick 小体) の存在を特徴とする。封入体を形成する疾患は様々あるが、なかでも Pick 病における Pick 小体は凝集性が高く、いかなる変性剤や界面活性剤でも可溶化が困難で、その構成成分は異常リン酸化タウタンパク質のみが知られているだけである。我々は、Pick 小体における新たなバイオマーカーを同定する目的で、出芽酵母から単離した強力なタンパク質可溶化活性をもつ Unfoldin を利用し、liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) ショットガン法により解析した。まず、Pick 病剖検脳由来凍結切片を異常リン酸化タウタンパク質に対する抗体 AT8 で免疫染色し、Pick 小体を可視化したのち、極微小領域を切り出すレーザーマイクロダイセクターを用いて Pick 小体のみを 514 個単離・回収した。これらを ATP 存在下に Unfoldin を用いて可溶化したのち、LC-MS/MS ショットガン法により得られた構成成分のなかから、今回、Calmodulin-like skin protein (CLSP) に着目し、CLSP が免疫組織染色法により Pick 小体上に局在するか否かを検証した。免疫組織染色には、Pick 病剖検脳由来凍結切片 Y337F/Y337T (female, 71 y, frontal/temporal)、Y332F/Y332T (male, 72 y, frontal/temporal) を用いた。

AT8 および抗 CLSP 抗体を用いて ABC 法にて二重染色した結果、個体間および部位間による差はなく、全サンプルで AT8 と CLSP が共局在している Pick 小体が観察された。以上のことから、CLSP はピック病の新しいバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

## P2-23

### Clusterin は正常型プリオンタンパク質が引き起こす神経細胞死に関与する

(医学部 3 年)

○平昭 吉野

(神経生理学)

加藤 大樹、八谷 如美、金子 清俊

【背景】 プリオン病は、正常型プリオンタンパク質 (PrP<sup>C</sup>) が異常型に構造変換し感染性を有することで、認知症、運動失調などから無動性無言の経過を経て最終的に死に至る疾患である。近年、プリオン病の中で最も多くを占める孤発性疾患においては、PrP<sup>C</sup> 依存性の神経細胞死が疾患の本体であり、必ずしも感染性を伴わないことが提唱されてきており、プリオン病発症の分子機構の研究が注目されている。PrP はマウスでは全長 254 アミノ酸のタンパク質で、分泌タンパクの輸送経路を経て細胞膜に輸送される。以前我々は PrP<sup>C</sup> が本来の輸送経路を外れ、ミトコンドリアに標的化すると凝集体を形成し細胞死を引き起こすことを報告した (Hachiya et al., *Neurosci. Lett.*, 2005, and BBRC, 2006)。また細胞質に局在すると、PrP<sup>C</sup> が凝集し細胞毒性を持つことも明らかになっている。

【目的】 PrP<sup>C</sup> 依存性の神経細胞死には PrP<sup>C</sup> の凝集体形成が関与することから、この過程に関わる細胞内因子を同定することを目的とした。

【方法】 細胞質に局在し凝集を起こす PrP (23-230) と、ミトコンドリアに局在しミトコンドリアの凝集を引き起こす PrP (1-139) を発現するプラスミドを、それぞれマウス神経芽細胞腫由来細胞株 Neuro2a に導入したのち、タンパク質凝集に関わるとされる因子 HDAC6、Vimentin、Ubiquitin 抗体、および孤発性プリオン病のプリオン斑で検出され凝集に関わると示唆されている Clusterin 抗体で細胞免疫染色を行い、デルタビジョン蛍光顕微鏡にて観察した。