

PSMC5, a 19S Proteasomal ATPase, Regulates Cocaine Action in the Nucleus Accumbens

大西, 陽子

<https://hdl.handle.net/2324/1807145>

出版情報 : 九州大学, 2016, 博士 (医学), 論文博士
バージョン :
権利関係 : 全文ファイル公表済

(別紙様式2)

氏名	大西 陽子			
論文名	PSMC5, a 19S Proteasomal ATPase, Regulates Cocaine Action in the Nucleus Accumbens			
論文調査委員	主査	九州大学	教授	神庭 重信
	副査	九州大学	教授	中山 敬一
	副査	九州大学	教授	中島 欽一

論文審査の結果の要旨

コカイン投与により AP-1 転写因子群の一つである *FosB* 遺伝子の転写が活性化され、二種類の mRNA、*FosB* と Δ *FosB* を生じ、*FosB* と Δ *FosB* タンパク質が作られる。*FosB* の C 末端には転写活性化部位とユビキチン化部位があるが、 Δ *FosB* はこの部位を欠損しているため分解されにくい。このため Δ *FosB* はコカインの繰り返し投与により脳に蓄積することが分かっている。 Δ *FosB* をマウスの側坐核に過剰発現させるとコカインにより誘発される自発運動が促進されるが、その分子メカニズムは分かっていない。

そこで本研究では、Yeast two-hybrid screening により Δ *FosB* の新規結合分子を同定し、そのタンパク質がコカインによる自発運動にどのように関わっているかを調べた。Yeast two-hybrid screening の結果、26S プロテアソーム ATPase の一つである PSMC5 が Δ *FosB* と結合することを同定した。次に、Neuro2A 細胞に Δ *FosB* と PSMC5 を過剰発現させて免疫沈降実験を行い、 Δ *FosB* と PSMC5 が細胞の中で相互作用しているのを確認し、PSMC5 の coiled-coil ドメインが Δ *FosB* との結合に必須であること、また、 Δ *FosB* のロイシンジッパードメインが PSMC5 との結合に必須であることが分かった。次にコカインをマウスに慢性投与すると、側坐核での PSMC5 の発現が核では 2 倍上昇していたが、細胞質では変化がなかった。側坐核において Δ *FosB* と PSMC5 が同一の細胞に発現しており、相互作用していることを確認した。さらに PSMC5 を Rat 1A 細胞に過剰発現させると、血清刺激 3 時間後において、コントロールと比較して Δ *FosB* の発現が有意に増加していた。また、PSMC5 を siRNA によりノックダウンさせると血清刺激 3 時間後の *FosB*/ Δ *FosB* の発現量はコントロールと比較して有意に減少していた。その他に PSMC5- Δ *FosB* 複合体が CBP(CREB binding protein)/p300 と結合し、この結合には Δ *FosB* のロイシンジッパードメインが重要であること、また SWI/SNF 複合体のサブユニットである Brg1 とも結合していることが分かり、PSMC5- Δ *FosB* 複合体は CBP/p300 及び Brg1 と結合し、転写を活性化する可能性が示唆された。最後に単純ヘルペスウイルスベクターにより PSMC5 をマウスの側坐核に過剰発現させることでコカインにより誘発される自発運動がコントロールと比較して有意に増加することが分かった。これは PSMC5 の ATPase 活性を持たない変異体でも、同様の活性がみられたのに対し、coiled-coil ドメインを欠損した変異体ではこの活性は認められなかった。これらの結果より、 Δ *FosB* は PSMC5、CBP/p300、Brg1 と結合し、標的遺伝子の転写を活性化させ、コカインにより誘発される自発運動を活性化する可能性が示唆された。