

氏名（本籍）	いけ だ あき ひと 池 田 聡 人（東京都）
学位の種類	博士（工学）
学位記番号	乙第 1101 号
学位授与の日付	2021 年 3 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	ヒト VASH1/SVBP 複合体の構造解析

論文審査委員	（主査）教授 十島 二郎
	教授 有村源一郎      教授 清水 公徳
	准教授 西野 達哉      教授 宮崎 智

## 論文内容の要旨

本稿では、血管新生関連因子および微小管を形成する  $\alpha$ -チューブリン C 末端の脱チロシン化酵素として同定された vasohibin タンパク質複合体の X 線結晶構造解析について纏めた。

vasohibin は血管内皮細胞が産生する血管新生因子として同定された。ヒトにおいて 2 つのサブタイプ vasohibin1(VASH1) と vasohibin2(VASH2) が存在し、どちらも small vasohibin binding protein(SVBP) と安定に複合体を形成し、細胞外へと分泌される。特に発生初期段階の血管内皮細胞で血管内皮細胞増殖因子(VEGF)によって誘導され、VASH1 は血管新生に抑制的、VASH2 は亢進的に働くことが知られている。特にがんにおいては細胞増殖と共に血管新生は重要な役割を果たしており、多くのがん細胞で VASH2 の発現量の向上がみられた。

近年、血管新生やがんとは別に神経細胞伸長の領域において、vasohibin は  $\alpha$ -チューブリンの脱チロシン化酵素として同定された。この報告を皮切りに、複数の結晶構造が報告された。結晶構造の決定により、SVBP との複合体形成や基質の認識、酵素活性の分子機構が明らかとなった。創薬ターゲットとしてより現実的な議論が可能になった一方で、vasohibin 酵素活性の制御や他の協働する因子との関係性、細胞外への分泌経路など不明な点が多く残っている。

本稿で明らかにした vasohibin の結晶構造は、報告された複数の結晶構造と全体的な構造は一致していたが、N 末端領域に大きな差異があった。そこで、詳細に比較して結果、本結晶構造においては、結晶中の 2 回転対称軸の隣接 VASH1 分子と N 末端領域を介して

ヘテロ四量体を形成していることが明らかとなった。ヘテロ四量体は 56 番目から 67 番目のアミノ酸残基から成る N 末端領域を相互に交換し合うことで安定化していた。N 末端領域の水素結合および疎水性結合のパターンは、ヘテロ二量体を形成する他の構造と異なることも明らかになった。さらに、分子動力学シミュレーションを行ったところ、ヘテロ四量体は全体構造の安定性が示唆されたことに加え、ヘテロ二量体に比べて N 末端領域の変動が抑制されていた。

本研究より、VASH1/SVBP 複合体において新規なヘテロ四量体の形成と N 末端領域の可動性が発見されたことで、酵素活性の制御機構ならびに細胞外分泌経路に関する新たな可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本論文では、ヒト由来の Vasohibin/SVBP 複合体の構造解析について審査を行った。

バソヒビンは血管新生、腫瘍増殖、転移、および神経分化を調節する因子である。バソヒビン結合蛋白質 (SVBP) と複合体を形成し、チューブリンのチロシンカルボキシペプチダーゼ活性を示す。バソヒビン - SVBP 複合体の最近の結晶構造決定は、複合体形成、基質結合および触媒活性の分子基盤を明らかにした。しかし、複合体の調節機構や動態は不明のままである。本学位論文では、VASH 1 - SVBP 錯体の結晶構造とその分子動力学シミュレーション研究について報告した。複合体の全体構造は既報の構造と類似していた。しかし、重要なことに、本学位論文で得られた結晶構造は、結晶学的な 2 回対称分子間に形成されたドメインを交換したヘテロテトラマーであった。ヘテロテトラマー化は VASH 1 構造コア間の保存 N 末端 10 残基の相互交換により安定化されていた。興味深いことに、この領域は報告された構造と比較して、水素結合と疎水性相互作用のパターンが変化していた。分子動力学シミュレーションにより、ヘテロテトラマーの N 末端領域のゆらぎが抑制され、ヘテロテトラマーとヘテロダイマーの違いが明らかになった。本結果は、バソヒビンの N 末端領域のヘテロテトラマー形成と柔軟性が、酵素活性と調節に重要であることが示唆された。

本論文は他と異なる新規な結晶構造で、バソヒビンの新たな作用機構を提案するものであることから、博士 (工学) の学位論文として十分に価値あるものと認められる。