2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**順　　天　　堂　　大　　学**	研究所名等	
研 究 課 題	UFM1システムが駆動する小胞体ホメオスターシス:その破綻と遺伝性脳症 －UFM1システムの包括的研究－	研 究 分 野	医　　学
キ ー ワ ー ド	①UFM1システム　②小胞体　③遺伝性小児脳症　④ER-RQC　⑤ER-phagy		

○研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
小　松　雅　明	順天堂大学大学院 医　学　研　究　科	教　　授	研究統括、分子細胞生物学的解析、マウス遺伝学的解析

○研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
石　村　亮　輔	順天堂大学大学院 医　学　研　究　科	助　　教	生化学、分子細胞生物学的解析
稲　田　利　文	東京大学医科学研究所	教　　授	生化学、分子細胞生物学的解析
野　田　展　生	北　海　道　大　学 遺伝子病制御研究所	教　　授	構造生物学的解析、タンパク質物性解析

UFM1 システムが駆動する小胞体ホメオスターシス：その破綻と遺伝性脳症
－UFM1 システムの包括的研究－

1. 研究の目的

我々は、学術研究振興資金の支援のもと、UFM1 システムによる小胞体選択的オートファジー（ER-phagy）の制御機構（Ishimura et al., Nature Communications 2022）および小胞体リボソーム品質管理（ER-RQC）の分子機構（Ishimura et al., Science Advances 2023）を明らかにしてきた。また、その成果を総括し、UFM1 システムの分子基盤と生理的意義を概説した総説を発表した（Komatsu et al., Molecular Cell Review)。一方で、小胞体膜上に局在する UFM1 システムが、多様な小胞体機能をどのような分子機構で制御しているのか、さらにその破綻が遺伝性小児脳症の発症へどのようにつながるのかについては、ほとんど明らかになっていない。　本研究では、以下の 3 点を目的とする。

- 構造レベルでの作用機序の解明　AlphaFold3（AF3）による構造予測とクライオ電子顕微鏡解析を融合し、UFM1 化・脱 UFM1 化反応の分子作動原理を明らかにするとともに、小胞体膜上での UFM1 システムの機能基盤を解明する。
- 個体レベルでの生理機能の解明　作製済みおよび新たに作製する遺伝子改変マウスを用い、UFM1 システムが個体発生や神経系をはじめとする組織恒常性維持に果たす生理的役割を明らかにする。
- 疾患モデルを用いた病態機構の解明　遺伝性小児脳症患者由来 iPS 細胞から分化誘導した神経細胞を用いて、UFM1 システム遺伝子変異が小胞体機能異常および神経細胞障害を引き起こす分子機構を解明する。

本研究により、UFM1 システムによる小胞体機能制御の分子基盤から個体生理、さらには疾患発症機構までを一貫して理解することが可能となる。得られる成果は、基礎医学のみならず、臨床遺伝学、神経学、小児神経学などの臨床医学分野にも新たな知見を提供し、UFM1 関連疾患の病態理解や治療戦略の構築につながることが期待される。

2. 研究の計画

1. 分子機構の解明
   UFSP2-ODR4 脱 UFM1 化複合体および UFM1　E3 リガーゼ複合体と脱 UFM1 化複合体との相互作用を解析し、RPL26 の UFM1 化・脱 UFM1 化サイクルの分子機構を、構造予測および生化学的解析により解明する。
2. 個体レベルでの機能解析
   作製済みの条件付き不活性型 *Ufsp2* ノックインマウスを用いて表現型を詳細に解析し、UFM1 システムが組織および個体レベルで担う生理機能を明らかにする。
3. 疾患関連変異の機能解析
   新たに同定した小児脳症患者由来の UFM1 E2 酵素（UFC1）遺伝子変異の機能を解析するとともに、患者皮膚由来 iPS 細胞から分化誘導した神経細胞を用いて、小胞体リボソーム品質管理（ER-RQC）に及ぼす影響を明らかにする。

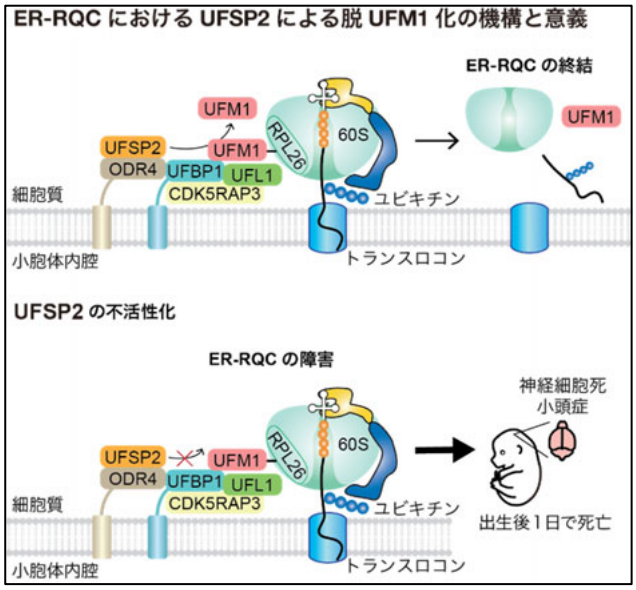
3. 研究の成果

AlphaFold3 による構造予測を基に、脱 UFM1 化酵素 UFSP2 が ER 膜タンパク質 ODR4 と複合体を形成することで RPL26 を脱 UFM1 化し、ER-RQC の終結に機能することを明らかにした。さらに、ODR4 が UFBP1 と結合することで、巨大な E3 リガーゼ-脱 UFM1 化酵素複合体が形成されること、そしてこの複合体形成が ER-RQC に重要であることを見出した。これらの結果から、UFM1 E3 リガーゼ複合体が Writer、Reader、Eraser の役割を果たし、RPL26 への UFM1 付加、認識、除去を ER 膜上で協調的に制御していることが示唆された。

次に、脱 UFM1 化の生理的意義を明らかにするため、*in vivo* で UFSP2 の機能を抑制した。*UFSP2* 遺伝子を欠損させると E3 リガーゼ-脱 UFM1 化酵素複合体の不安定性を引き起こす可能性が考えられたため、FLEx 技術を用いて、酵素活性を失った UFSP2 を神経細胞特異的に発現するコンディショナルノックインマウスを作製した。その結果、脳内での UFM1 化 RPL26 の蓄積、神経細胞死、小頭症、および周産期致死が生じることを明らかにした。これらの表現型は UFM1 化不全マウスでも認められることから、UFM1 化と脱 UFM1 化の両方が神経発生に重要であることが示された。

この結果より、過剰な UFM1 化が神経発生異常につながることが示唆される。実際に、重篤な神経発達障害を示す患者において、E2 酵素 *UFC1* 遺伝子の変異が同定され、この変異が UFC1 と E3 複合体構成因子 UFL1 との結合を増強することで、RPL26 の UFM1 化を亢進していることを明らかにした。

以上の結果より、脱 UFM1 化が ER-RQC の終結および神経細胞におけるプロテオスタシス維持に必須であることが示された（右図）。



4. 研究の反省・考察

本研究により、UFM1 システムが ER-RQC の終結と神経細胞におけるプロテオスタシス維持に果たす重要な役割を明らかにすることができた。一方で、UFM1 化・脱 UFM1 化反応が小胞体膜上でどのような立体構造に基づいて制御されているのか、また ER-RQC において実際にどのような新生ポリペプチドが標的となるのかについては、さらなる解明が必要である。現在、UFM1 E3 リガーゼ複合体、60S リボソームおよび UFSP2-ODR4 複合体からなる超分子複合体の構造解析を、AlphaFold3 による構造予測とクライオ電子顕微鏡解析を組み合わせて進めている。本解析により、RPL26 への UFM1 付加・除去が協調的に制御される分子基盤を原子レベルで明らかにすることが期待される。また、UFM1 化の生理的意義を直接検証するため、条件付き RPL26 K134R ノックインマウスの作製・解析を進めている。さらに、UFM1 依存的 ER-RQC によって認識・分解される特異的な新生停止ポリペプチド（nascent arrested peptides）の網羅的同定を進め、その配列的・構造的特徴を明らかにすることで、UFM1 システムがどのような翻訳異常産物を選択的に品質管理しているのかを解明したい。これらの研究により、UFM1 システムによる小胞体ホメオスタシス制御の分子基盤を、構造、生理機能、基質認識の三つの観点から統合的に理解し、遺伝性脳症をはじめとする UFM1 関連疾患の病態解明へとつなげたい。

5. 研究発表

(1)学会誌等

① Komatsu M, Noda NN, Inada T. The mechanistic basis and cellular functions of UFMylation. Nat Rev Mol Cell Biol. 2026 Jan 9. doi: 10.1038/s41580-025-00944-y.

② Yuen M, Zhang K, Marchant RG, Ishimura R, Graham M, Aung-Htut M, Bryen S, Rius R, Marshall L, Aryamanesh N, Dziaduch G, Joshi H, Wilton SD, Wilson M, Gear R, Doyle H, Krivanek M, Leventer RJ, White SM, Sandaradura SA, Komatsu M, Evesson FJ, Cooper ST. A Severe Neurodevelopmental Syndrome linked to biallelic variants in UFMylation adaptor CDK5RAP3. Acta Neuropathologica. 151, article number 48. https://doi.org/10.1007/s00401-026-03017-2 (2026)

Mao G, Ito S, Ishimura R, Sakamaki J-i, Sasaki R, Uemura T, Ishikawa K-i, Komatsu-Hirota S, Akamatsu W, Abe M, Waguri S, Bijarnia-Mahay S, Noda NN, Inada T, Komatsu M. The UFSP2-ODR4 complex spatially confines and dynamically controls UFM1 deconjugation to safeguard neuronal proteostasis. Mol Cell 2026 https://doi.org/10.1016/j.molcel.2026.06.026

(2)口頭発表

①小松雅明, UFMylationの分子機構、細胞機能と病態生理. 第61回インスリン研究会 経団連会館2F「国際会議場」東京

(3)出版物

① 野田展生、小松雅明　AlphaFold Multimerを用いたユビキチン様タンパク質の複合体構造予測と機能の解明　実験医学 2025年 9月増刊号