

## 教育講演

### 4. 神経変性疾患研究の進歩

高橋 良輔

**Key words** : コンフォメーション病, フォールディング, プロトフィブリル, 小胞体ストレス

#### はじめに —神経変性疾患とは何か—

神経変性疾患の教科書による定義は以下のようである。「徐々に発症し、緩徐だが常に進行する神経症状を呈し、その症状も多くは対称的に、ある種の系統がおかされ(systemic disease)、家族性のことが多い(heredo-degenerative disease)ものであり、一方病理学的には、とくに神経細胞を中心とするさまざまな種類の退行性の変化があり、血管障害、感染、中毒のような明らかな原因がつかめない一群の神経疾患(金澤一郎, 2004年)<sup>1)</sup>。代表的な神経変性疾患には海馬をはじめとする大脳皮質が侵され、認知症の原因となるアルツハイマー病、黒質ドーパミン神経の選択的変性により運動障害を引き起こすパーキンソン病、脊髄運動ニューロンの選択的変性で全身の麻痺が起こるALSなどが挙げられる。これらの疾患は謎の疾患といわれながら、その原因は臨床に密着した神経病理学や分子遺伝学の研究からゆっくりとしかし着実にわかってきたのである。

#### 1. 神経変性疾患病因分子解明への道のり

多くの神経変性疾患の細胞病理学上の特徴は

たかはし りょうすけ：京都大学大学院医学研究科臨床神経学（神経内科）

封入体と呼ばれる異常なタンパク性の凝集体がニューロンやグリア細胞内に形成されることである<sup>2)</sup>。たとえばアルツハイマー病では細胞外に老人斑、細胞内には神経原線維変化が、またパーキンソン病では神経細胞内にレビー小体が形成される。アルツハイマー病の老人斑と神経原線維変化は生化学的解析が成功し、それぞれAβペプチド、リン酸化タウであることが1980年代に判明し、大きな発見として注目されたが、それでもこれらが神経変性の原因かそれとも、結果に過ぎないのかは、疑問として残された。

この疑問に解答を与えたのは分子遺伝学からのアプローチである。面白いことに、多くの神経変性疾患ではほぼ同じ臨床症状と病理所見を呈する疾患でありながら遺伝性と孤発性のタイプが存在する。これはまれな遺伝性疾患が圧倒的に患者数の多い孤発性疾患のモデルになりうることを意味している。この考えを裏付けた好例がパーキンソン病である。PARK1と呼ばれる常染色体優性遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子が神経特異的タンパク質であるα-synucleinであることが判明したが、その一方、パーキンソン病の特徴的封入体のレビー小体の主成分がα-synucleinであることも生化学的手法、免疫組織学的手法から明らかになった。この事実より、α-synucleinが蓄積してレビー小体を形成する過程がパーキンソン病の発症プロセスであるとの考えが支持されることになった。このように、

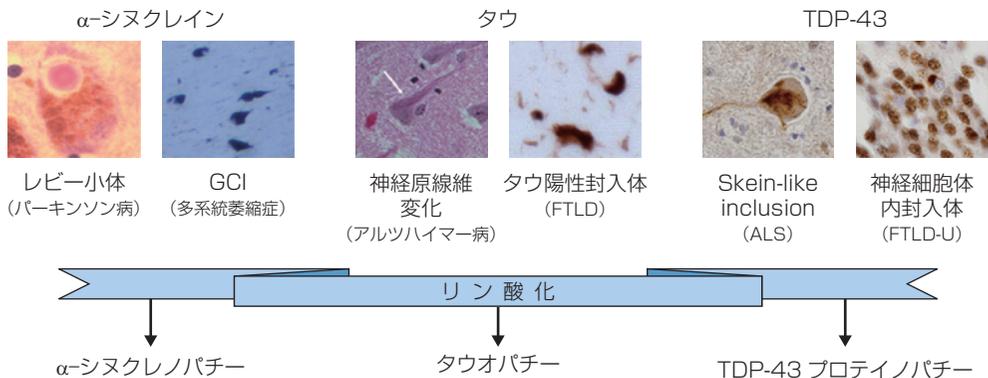


図 1.  $\alpha$ -シヌクレノパチー，タウオパチー，TDP-43 プロテノパチー（写真提供：東京都精研・新井哲明先生，京都大学保健学科・木下彩栄先生，京都大学医学研究科・河本恭裕先生）。

分子遺伝学の研究が遺伝性変性疾患の責任遺伝子を明らかにするとともに，病理学，生化学の研究によって，遺伝性疾患の病因遺伝子が孤発性疾患にも深くかかわっていることが示され，神経変性疾患の原因分子が次々に明らかになってきた。

ごく最近では剖検脳の生化学的解析から，TDP-43 というタンパク質が前頭側頭型認知症，そして孤発性ALSの封入体の主成分であることが明らかになり，大きな注目を集めている<sup>3,4)</sup>。一方  $\alpha$ -synuclein, tau, TDP-43 は複数の重要な神経変性疾患の原因になっていることがわかり，それぞれのタンパク質が蓄積して発症する疾患は synucleinopathy, tauopathy, TDP-43 proteinopathy と呼ばれている（図 1）。たとえば， $\alpha$ -synuclein はパーキンソン病だけでなく，多系統萎縮症 (Multiple System Atrophy, MSA), Pure Autonomic Failure (PAF), レビー小体型認知症 (Dementia with Lewy bodies ; DLB) といった疾患に共通して蓄積するが，蓄積する部位はオリゴデンドログリア，交感神経節，大脳皮質ニューロンと異なっている。同じタンパク質が蓄積する部位，細胞種によって異なった疾患を引き起こすことは興味深い現象であるが，なぜ蓄積が起こるのか，また同じタンパク質にもかかわらず蓄積部位が異なる様々な疾患を引き起

こすのはなぜか，はまだ全く不明である。この 3 種類のタンパク質の封入体構成成分はリン酸化型が主体をなすという点で共通性があり，共通の分子発症機構が想像される。

## 2. コンフォメーション病

それではタンパク質の蓄積が神経変性を引き起こすメカニズムは何だろうか？神経変性疾患で蓄積するタンパク質は実は構造異常を起こしている。異常な構造のタンパク質が原因となる一群の疾患はコンフォメーション（立体構造）病と名づけられた<sup>5)</sup>。異常なタンパク質は不溶性となり，塊をつくり，沈殿する。これはまさに神経変性疾患の封入体形成タンパク質の性質そのものであり，神経変性疾患は代表的なコンフォメーション病と言える。

タンパク質が異常構造をとる原因は遺伝性疾患の場合は，アミノ酸の置換や繰り返し配列の拡張などの一次構造の変化で理解が容易である。しかし変異のない野生型のタンパク質でも，酸化などの修飾で構造異常を起こしうる。また適切に折りたたまれて正しい立体構造をとる，フォールディングという過程に失敗したミスフォールド化タンパク質，すなわち異常タンパク質も，生理的に一定の割合で生成されており，

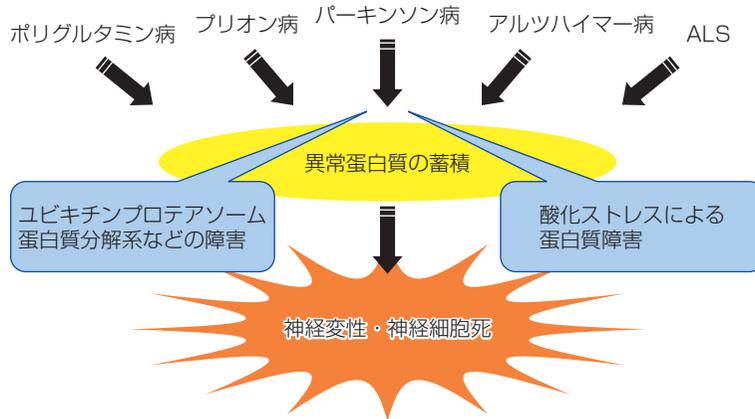


図2. 神経変性疾患はコンフォメーション病である

ユビキチン・プロテアソーム系などのタンパク質分解系が障害されると、ミスフォールド化タンパク質の蓄積が起こりうる。これらの知見から、遺伝性のみならず、孤発性の神経変性疾患もその多くはコンフォメーション病という概念で統一的に説明できるのではないかと考えられる（図2）。

### 3. ミスフォールド化タンパク質の毒性メカニズム

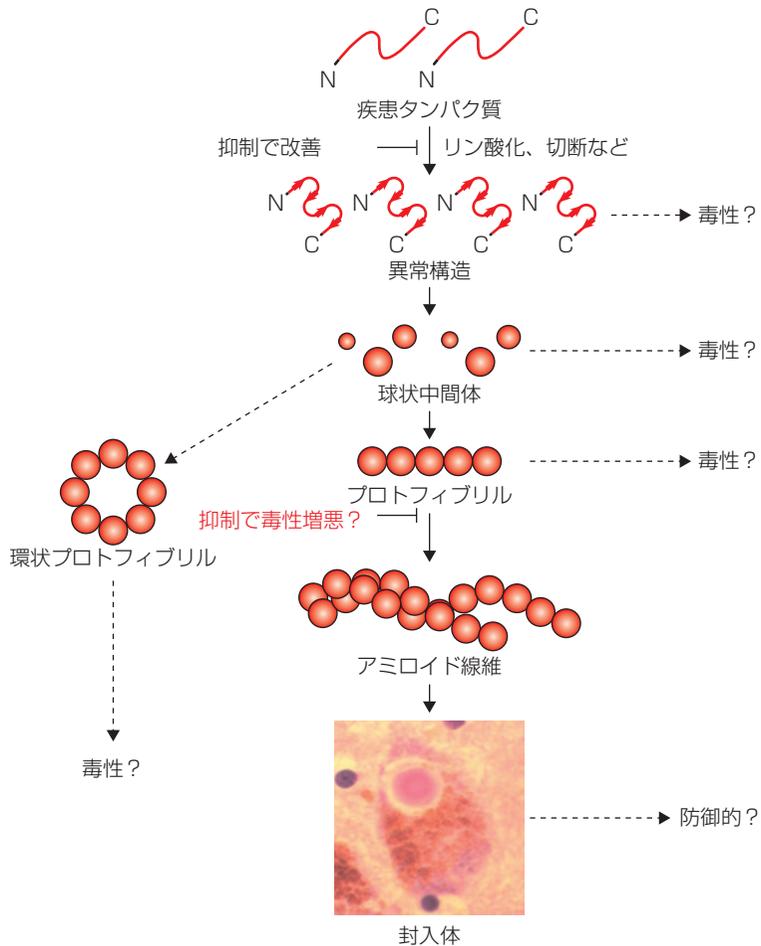
次に、ミスフォールド化タンパク質はなぜ毒性を持つのだろうか。in vitroの系では、ミスフォールド化タンパク質が線維を形成する過程を再現することに成功し、その解析から、異常構造中間体、オリゴマー、プロトフィブリルといった中間体を経て、約10nmの径を有するアミロイド線維が形成されることが明らかになった。さらにこれらの中間体が毒性の主体となることが強く示唆された(図3)<sup>2)</sup>。ドーナツ型のプロトフィブリルが細胞膜に穴をあけて細胞死を引き起こすとした仮説は注目されたが、in vivoで該当するような構造物が見出されないことからその役割は確立されていない<sup>6)</sup>。むしろ最近ではオリゴマーの毒性に注目が集まり、そのシナプス毒性に関して、Aβペプチドを用いた実験を主

として多くの証拠が得られつつある。

次に培養細胞を用いた実験では、神経変性疾患の原因となるミスフォールドタンパク質を過剰発現すると、プロテアソームの活性が阻害されることが示されている<sup>7)</sup>。このことからミスフォールド化タンパク質の蓄積とプロテアソーム阻害の悪循環で神経変性が進行するとの考えも提唱されている。

### 4. ストレス応答とミスフォールド化タンパク質

一方ミスフォールドタンパク質はその毒性により生体防御反応を引き起こす。その代表となるのが、小胞体ストレス応答である。小胞体は分泌系タンパク質のフォールディングを助け、品質管理を行う細胞内小器官であるが、その機能が破綻し、過剰にミスフォールドタンパク質が蓄積した状態が小胞体ストレスである。生体はミスフォールドタンパク質を取り除くために小胞体シャペロンの転写亢進をはじめとしてさまざまな手段を講じるが、ミスフォールドタンパク質の排除に失敗した場合には、アポトーシスで死んでしまう<sup>8)</sup>。このようなメカニズムで生じると考えられる神経変性疾患の例が常染色体劣性家族性パーキンソン病 (AR-JP) と呼ばれる



(Ross CA & Poirier MA, Nat Med 2004 を一部改変)

図 3. タンパク質凝集の過程と治療のターゲット

家族性パーキンソン病である<sup>9)</sup>。

AR-JPの病因遺伝子Parkinはユビキチンリガーゼ (E3) という酵素であることが判明した。E3はユビキチン結合酵素(E2)や26Sプロテアソームに加えて、ユビキチンプロテアソーム系で分解される運命にあるタンパク質を特異的に認識、結合する。そうすることで76アミノ酸の小さなタンパク質であるユビキチンが基質に共有結合する反応を助け、プロテアソーム分解の認識マーカーとなるポリユビキチン鎖を形成させ、基質の分解を促進する働きがある(図4)。したがっ

てParkinが遺伝的に欠損すると、その基質タンパク質が蓄積して、細胞毒性を発揮するようになると想像される。

Parkinの基質として見出されたパエル受容体(Pael-R)は、他の多くの膜タンパク質もそうであるように、ミスフォールド化しやすいタンパク質である。膜タンパク質は新しく合成されると、翻訳と共役して小胞体の内腔に運ばれる。小胞体内腔には多くの小胞体シャペロンというタンパク質のフォールディングを介助するタンパク質が存在しており、フォールディングが盛

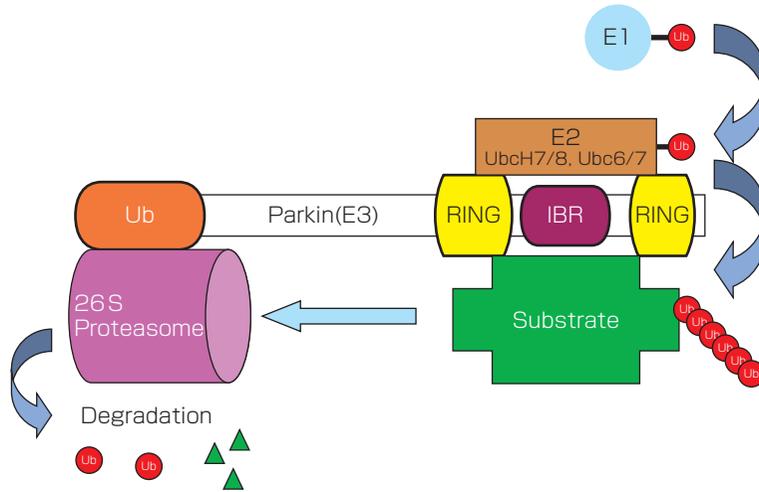


図4. Parkin (E3) とユビキチンプロテアソーム系

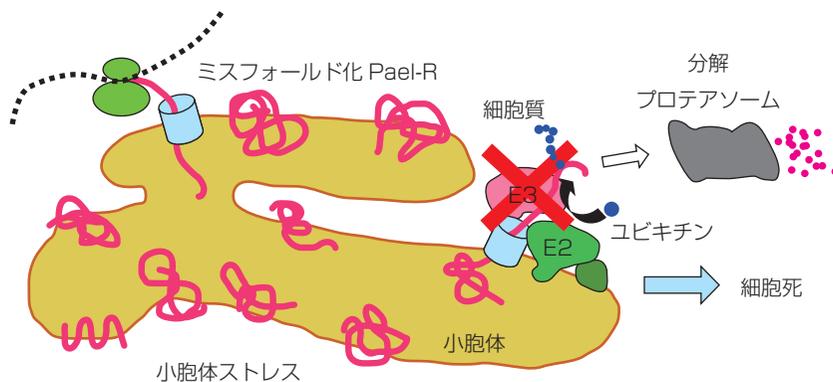


図5. AR-JP の分子メカニズム

んに行われるが、それが失敗してミスフォールド化してしまったタンパク質は、再び細胞質に逆輸送されて、ユビキチンプロテアソーム系の働きで分解される。このようなミスフォールド化膜タンパク質を分解処理する経路を小胞体関連分解(Endoplasmic Reticulum Associated Degradation: ERAD)と呼んでいる。我々はParkinがミスフォールド化Pael-RをERADで分解する際に必要なE3であることを突き止め、その欠損により、ミスフォールド化Pael-Rが過剰に蓄積して小胞体ストレスを引き起こすことがAR-JPの原因

とする仮説を提唱している(図5)<sup>9)</sup>。この仮説に合致して、これまでにPael-Rを過剰発現したショウジョウバエ、マウスでドーパミン神経細胞死が生じることが示された。マウスではPael-Rを組み込んだアデノウイルスを線条体に注射すると、逆行性に黒質ドーパミン細胞にとりこまれ、顕著な小胞体ストレスを伴って細胞死が生じた。興味深いことに、ドーパミン生合成の律速酵素であるチロシンヒドロキシラーゼの阻害剤を投与して、ドーパミン産生を低下させると、細胞死も抑制された。メカニズムの詳細は明らかで

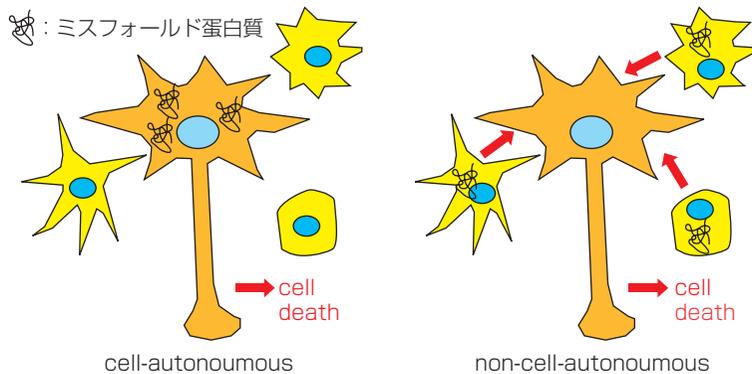


図6. 細胞自律性 (cell-autonomous) と非細胞自律性 (non-cell-autonomous) の細胞死

ないが、この結果はAR-JPでドーパミン神経が選択的に変性する原因は小胞体ストレスに加え、ドーパミンあるいはドーパミンが産生する酸化ストレスである可能性を示唆している<sup>10)</sup>。

## 5. 非細胞自律性細胞死と神経変性

上記のミスフォールドタンパク質の毒性のメカニズムは、タンパク質そのものの毒性にせよ、ストレス応答によるものにせよ、いずれも神経細胞内に異常蛋白質が蓄積することによって、細胞内から細胞死の引き金が引かれるとの前提に立ったものであった。ところが、家族性ALSのよいモデルとなる、運動ニューロンが選択的に変性する変異SOD1トランスジェニックマウスの研究によって、変異タンパク質を発現する運動ニューロン周囲のアストログリアやミクログリアによって、神経細胞死が誘発される、非細胞自律性 (non-cell autonomous) 細胞死が運動ニューロンの変性に重要な役割を担っていることが明らかになった (図6)。これは細胞特異的ノックアウトシステムを巧妙に用いて、変異SOD1の発現を運動ニューロンではそのままにして、アストロサイトやミクログリアで特異的にシャットダウンすると、疾患の進行が抑制されるという実験結果によって明らかになったものであ

る<sup>11)</sup>。非細胞自律性の細胞死には、アストロサイトの分泌する液性因子や炎症がかかわっている可能性がある。また同じく変異SOD1が分泌されて、細胞外から炎症を惹起することによって毒性を発揮するとの報告も出されており、細胞死への細胞外からの因子の関与の注目が高まっている<sup>12)</sup>。アルツハイマー病でAβペプチドの蓄積によって老人斑が形成された後にタウの蓄積による神経原線維変化が起こることはよく知られているが、細胞外のAβペプチドによる神経原線維形成のメカニズムにも非細胞自律性細胞死の観点から検討が加えられてよいであろう。

## 6. 治療への展望

神経変性疾患がコンフォメーション病であるという前提にたてば、原因となるタンパク質を除去することが根本的治療となる。DNA, mRNA, タンパク質の各レベルに対応して、転写阻害剤, RNA干渉, ワクチン, あるいはタンパク質分解系の賦活化などの方法で異常タンパク質を減らすことを狙った治療法開発が行われており、アルツハイマー病におけるAβタンパク質のワクチン療法などは近い将来現実化する可能性もある。また異常伸長ポリグルタミンは核内で毒性を発揮することが知られるが、核内に異常伸長ポリ

グルタミンを有するアンドロゲン受容体が移行することを阻止することによって、球脊髄型筋萎縮症を治療しようとする試みも動物実験で成功をおさめ、現在治験がおこなわれつつある<sup>13)</sup>。

一方システムの視点も欠かせない。パーキンソン病では、最近治療法として視床下核に電極を刺入し、持続的に電気刺激を与える方法(脳深部刺激法、Deep Brain Stimulation ; DBS)が薬物治療では症状を制御できない患者の有力な治療手段であることが示され、注目されている<sup>14)</sup>。黒質ドーパミン神経の変性が大脳基底核の神経回路を通じて視床下核の異常興奮に至るという生理学上の発見が治療に結びついたものである。

分子レベルからシステムレベルまで、神経変性研究はいまやメカニズム解明から治療法開発へとその焦点を移しつつあるといえよう。

#### 文 献

- 1) 金澤一郎：変性疾患。「神経内科学」, 豊倉康夫編. 第2版. 朝倉書店, 2004, 458-547.
- 2) Ross CA, Poirier MA : Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nat Med* 10 (Suppl) : S10-17, 2004.
- 3) Neumann M, et al : Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 314 : 130-133, 2006.
- 4) Arai T, et al : TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau - negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun* 351 : 602-611, 2006.
- 5) Carrell RW, Lomas DA : Conformational disease. *Lancet* 350 : 134-138, 1997.
- 6) Volles MJ, Lansbury PT Jr : Zeroing in on the pathogenic form of alpha-synuclein and its mechanism of neurotoxicity in Parkinson's disease. *Biochemistry* 42 : 7871-7878, 2003.
- 7) Bence NF, et al : Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation. *Science* 292 : 1552-1555, 2001.
- 8) Mori K : Tripartite management of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell* 101 : 451-454, 2000.
- 9) Imai Y, et al : An unfolded putative transmembrane polypeptide, which can lead to endoplasmic reticulum stress, is a substrate of Parkin. *Cell* 105 : 891-902, 2001.
- 10) Kitao Y, et al : Pael Receptor Induces Death of Dopaminergic Neurons in the Substantia Nigra via Endoplasmic Reticulum Stress and Dopamine Toxicity, which is Enhanced under Condition of Parkin Inactivation. *Hum Mol Genet* 16 : 50-60, 2007.
- 11) Yamanaka K, et al : Astrocytes as determinants of disease progression in inherited amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci* 11 : 251-253, 2008.
- 12) Urushitani M, et al : Chromogranin-mediated secretion of mutant superoxide dismutase proteins linked to amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci* 9 : 108-118, 2006.
- 13) Katsuno M, et al : Leuprorelin rescues polyglutamine-dependent phenotypes in a transgenic mouse model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Nat Med* 9 : 768-773, 2003.
- 14) Hamani C, et al : Deep brain stimulation for the treatment of Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* (70) : 393-399, 2006.