

＜シンポジウム 2—5＞神経変性疾患研究の焦点—新たな病的因子の登場と臨床への展望—

## ポリグルタミン病の異常蛋白構造に基づく病態と 治療へのアプローチ

貫名 信行

(臨床神経, 48 : 913—914, 2008)

Key words : ポリグルタミン病,  $\beta$ シート, 凝集体, シャペロン介在性オートファジー

ポリグルタミン病の病態は, 病因遺伝子の CAG の伸長に基づくその遺伝子産物のポリグルタミンの伸長と凝集, 核内封入体の形成, 神経細胞変性, 神経細胞死の過程が考えられており, それぞれの段階で病態の進展を阻止することで, 発症の予防や疾患の進展を抑制できると考えられる.

ポリグルタミン病は多くは常染色体優性遺伝であり, 遺伝子産物が直接病態に関与すると考えられる. そこでこのような病態の解析として, もっとも上流のポリグルタミンをふくむ蛋白の構造異常の解析をおこなった. ポリグルタミン鎖を安定性のきわめて高い蛋白質で構造も明らかにされている蛋白質の一つであるミオグロビンへ挿入し, ポリグルタミン鎖の構造およびポリグルタミン挿入にともなう(ホスト)蛋白質の構造変化を検討した. その結果ポリグルタミン鎖は分子内ベータシート構造をとっていることが判明した. このモデル分子が凝集体を形成し始めると分子間ベータシート構造をふくんでいることがわかり, またポリグルタミンの伸長にともないミオグロビンが不安定化することが示された<sup>1)</sup>. またアミロイド繊維形成以前におそらくホスト蛋白のアンフォールディングに基づく非繊維性凝集体を形成することがわかった<sup>2)</sup>. このような非繊維性凝集体はポリグルタミン部分を露出しており, ポリグルタミン結合蛋白をリクルートする構造的基盤と考えられる.

ポリグルタミン病においてはその核内凝集体が転写因子などと重要な因子をリクルートし, 細胞機能を障害するという仮説がある. そこでわれわれは細胞モデルから凝集体を精製し, その結合蛋白を同定した<sup>3)</sup>. 結合蛋白にはシャペロン, プロテアソーム関連蛋白, ユビキチン結合蛋白, などが同定されたが, それに加えて最近 RNA 結合蛋白 TLS, 転写因子 NF-Y が同定された<sup>4)~7)</sup>. これらの結合蛋白は病態を説明する上で重要な因子であると考えられた.

伸長ポリグルタミンが形成する凝集体の異常構造が細胞内の様々な因子をリクルートすることによって細胞機能障害をひき起こすとすると, この構造異常形成を阻害するか<sup>8)</sup>, 蛋白の産生を阻害する<sup>9)</sup>, あるいは異常蛋白を積極的に分解系に持って行くことが治療戦略となる. 現在までに主におこなわれている実験的な治療はこれらの治療戦略に基づいている. 分解系の制御は二つの主要な蛋白分解系, ユビキチン-プロテアソーム分解系とオートファジーの制御である. われわれはこれに加えてシャペロン介在性のオートファジーの系の存在に着目し, 構造異常に基づく治療原理の開発をおこなった (Fig. 1). この戦略に基づき異常蛋白をシャペロン介在性オートファジーに積極的に持って行くことにより, 異常蛋白の分解を促進し, 細胞毒性を減少させることが可能であることを細胞モデル, マウスモデルをもちいて示すことができた. この

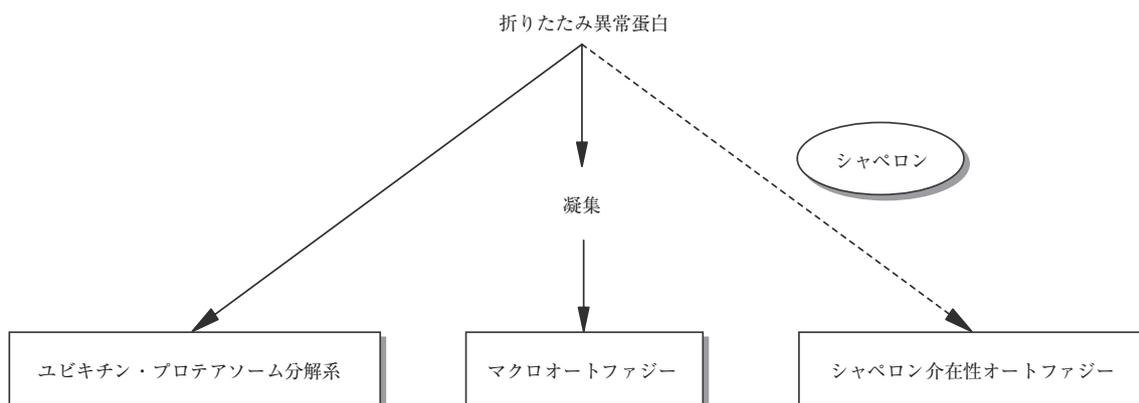


Fig. 1 分解系を治療標的とする

方法は今後他の神経疾患の治療戦略としても応用可能な方法と期待される。

#### 文 献

- 1) Tanaka M, Morishima I, Akagi T, et al: Intra- and inter-molecular beta-pleated sheet formation in glutamine-repeat inserted myoglobin as a model for polyglutamine diseases. *J Biol Chem* 2001; 276: 45470—45475
- 2) Tanaka M, Machida Y, Nishikawa Y, et al: Expansion of polyglutamine induces the formation of quasi-aggregate in the early stage of protein fibrillization. *J Biol Chem* 2003; 278: 34717—34724
- 3) Mitsui K, Nakayama H, Akagi T, et al: Purification of polyglutamine aggregates and identification of elongation factor-1alpha and heat shock protein 84 as aggregate-interacting proteins. *J Neurosci* 2002; 22: 9267—9277
- 4) Doi H, Mitsui K, Kurosawa M, et al: Identification of ubiquitin-interacting proteins in purified polyglutamine aggregates. *FEBS Lett* 2004; 571: 171—176
- 5) Nagaoka U, Kim K, Jana NR, et al: Increased expression of p62 in expanded polyglutamine-expressing cells and its association with polyglutamine inclusions. *J Neurochem* 2004; 91: 57—68
- 6) Doi H, Okamura K, Bauer PO, et al: RNA-binding protein TLS is a major nuclear aggregate-interacting protein in huntingtin exon 1 with expanded polyglutamine-expressing cells. *J Biol Chem* 2008; 283: 6489—6500
- 7) Yamanaka T, Miyazaki H, Oyama F, et al: Mutant Huntingtin reduces HSP70 expression through the sequestration of NF-Y transcription factor. *Embo J* 2008; 27: 827—839
- 8) Tanaka M, Machida Y, Niu S, et al: Trehalose alleviates polyglutamine-mediated pathology in a mouse model of Huntington disease. *Nat Med* 2004; 10: 148—154
- 9) Machida Y, Okada T, Kurosawa M, et al: rAAV-mediated shRNA ameliorated neuropathology in Huntington disease model mouse. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 343: 190—197

#### Abstract

#### Pathomechanism of polyglutamine diseases and strategic design for their therapies

Nobuyuki Nukina, M.D.

Laboratory for Structural Neuropathology, RIKEN Brain Science Institute

The pathomechanism of neurodegenerative disorders are not fully elucidated yet. In Huntington Disease (HD) and some hereditary spinocerebellar ataxias, expanded polyglutamine (polyQ) accumulates and forms aggregates in neuronal nuclei. We have been studying the pathological process by which the mutation induces the misfolding and accumulation of the gene product leading to neuronal degeneration using cell biological and structural biological approaches. We analyzed the pathological process in polyQ disease cellular model and the structural changes of polyQ-induced protein misfolding using our polyQ-bearing myoglobin model system. Using these models, we found that expanded polyQ forms a beta-sheet structure and causes proteasome inhibition. We further analyzed the structural basis of toxic aggregates, which suggested the polyglutamine exposed form may be more toxic to sequester several important functional molecules. We also established the method for analyzing aggregate interacting proteins (AIPs) and reported several AIPs including transcription factor NF-Y.

Based on the pathomechanism, which we revealed, we developed several experimental therapies, including stabilizing abnormal protein, activating proteasomal function and enhancing the selective degradation of abnormal protein through chaperone-mediated autophagy.

(*Clin Neurol*, 48: 913—914, 2008)

**Key words:** polyglutamine diseases, beta sheet, aggregate, chaperone-mediated autophagy