

＜シンポジウム 8—3＞パーキンソン病の臨床，基礎の最前線

パーキンソン病の病態：分子生物学からわかったこと

武田 篤 菅野 直人 長谷川隆文 小林 理子 菊池 昭夫

(臨床神経, 48 : 984—985, 2008)

Key words : シヌクレイノパチー, ERストレス, キノン体, 凝集体

α シヌクレインは孤発性パーキンソン病の病態理解の上で key molecule であると考えられている。理由として、 α シヌクレインはレビー小体の主たる構成物質であることや α シヌクレイン遺伝子変異による家族性パーキンソン病は症候学的にも病理学的にも孤発性パーキンソン病と区別できないことなどが挙げられる。更に、 α シヌクレイン遺伝子座の3重重複や2重重複もやはり家族性パーキンソン病と関連することが解明され、正常な α シヌクレインの発現量増加が直接パーキンソン病発症に関連することが示唆された。実際、複数の検討結果から α シヌクレイン遺伝子座が孤発性パーキンソン病の発症リスクに関連することが示唆されている。

神経変性をもたらす機序についての詳細は明らかでないが、これまでの検討から、何らかの病的代謝過程により修飾された α シヌクレインは、ベータシートを主とする構造に変化して細胞障害をもたらすと考えられている。こうしたコンフォメーション変化は一方で規則的構造(β -pleated sheet)からなる不溶性のポリマー形成を経て、レビー小体などの細胞内封入体形成につながると考えられるが、細胞毒性はポリマーにいたる前段階の可溶性モノマーやオリゴマーが担っていることが示唆されている。こうした“病的” α シヌクレイン分子種が、ミトコンドリア障害を生じる可能性や、小胞体に蓄積することで小胞体ストレスを生じる可能性、細胞膜障害を生じる可能性などが示唆されている。

われわれは、 α シヌクレインを過剰発現させた SH-SY5Y 細胞をもちいることによりシヌクレイノパチーの細胞モデル構築を試みた。同細胞を低濃度のロテノンに暴露すると抗 α シヌクレイン抗体陽性のタンパク凝集物が出現するが、それは同時に、抗リン酸化 α シヌクレイン抗体、抗ニューロフィラメント抗体、抗ユビキチン抗体などに対して免疫染色陽性であり、Lewy 小体などの脳内封入体ときわめて類似した免疫組織化学的特徴を示した。また、野生型 α シヌクレインに比較して、家族性パーキンソン病に関与した A53T や A30P 変異を導入した α シヌクレインはより高い凝集体出現率を示し、この細胞モデルはある程度生体内でのシヌクレイノパチー病態を反映していると考えられた。凝集体の形成と細胞死の関係を、活性型カスベス 3 の陽性化をマーカーとして検討した所、両者はまったく一致しておらず、むしろカスベス 3 陽性細胞はすべて凝集体陰性であった。この結果は凝集

体の形成が細胞死と直接的には関係しておらず、凝集体形成はむしろ細胞防御的反応の結果であることを示唆する。

シヌクレイノパチーにおけるカテコラミン細胞の脆弱性は、カテコラミン代謝の過程で生じる細胞内のキノン体が関係しているとの仮説がある。そこでわれわれは皮膚メラニン合成の律速酵素であるチロシナーゼを過剰発現させた SH-SY5Y 細胞に、さらに α シヌクレインを追加導入し、細胞毒性の有無を比較した。チロシナーゼはドーパやドーパミンを基質としてキノン体を産生するが、 α シヌクレインの存在下ではアポトーシス誘導の程度が増強された。すなわち、 α シヌクレインはキノン体の存在下でその細胞毒性を増強することが示唆された。

α シヌクレインはいくつかの翻訳後修飾を受けることが知られている。中でも serine 129 のリン酸化は Lewy 小体に特異的にみられるなどパーキンソン病の病態と密接な関係を持つと考えられている。そこで serine 129 のリン酸化を抑制する目的で変異体(S129A)を作成し野生型と比較した。直接的には細胞死を生じない程度の低濃度のロテノン暴露後に、野生型 α シヌクレイン過剰発現細胞では比較的早期から unfolded protein response (UPR) 関連分子の誘導がみとめられた。さらに時系列的に検討を進めたところ、UPR 誘導は、ミトコンドリアの破綻、酸化的ストレス生成、caspase-3 の活性化に先行していた。一方で S129A 変異体では UPR の活性化がほとんどみとめられず、細胞内凝集体の形成もみとめられなかった。これらの結果から serine129 リン酸化は α シヌクレイン凝集体形成に重要であるばかりではなく、その細胞死誘導にも密接に関係していること、またその細胞死には UPR 誘導が関係していることが明らかとなった。UPR 誘導はきわめて早期からみられたが、このときプロテオソーム活性の低下はみとめられなかった。次に本実験系の UPR 誘導を説明しうる別の可能性として、小胞輸送の障害の可能性を考えた。近年、 α シヌクレインが ER-Golgi 輸送に関与しているという報告がなされているが、本実験系における細胞内凝集体は ERGIC (ER-Golgi intermediate compartment) のマーカーである β -COP 陽性であった。 β -COP は ER から Golgi への物質輸送において重要な分子であり、以上の結果は、リン酸化された α シヌクレインが何らかのコンフォメーション変化を通して、細胞内輸送を阻害し、その結果 ER ストレスが増

大して細胞死の引き金を引いている可能性を示唆しているものと考えられた。

Abstract

Cellular pathophysiology of Parkinson's disease

Atsushi Takeda, M.D., Naoto Sugeno, M.D., Takafumi Hasegawa, M.D.,
Michiko Kobayashi, M.D. and Akio Kikuchi, M.D.

Division of Neurology, Department of Neuroscience & Sensory Organs, Tohoku University, Graduate School of Medicine

To explore pathogenesis of synucleinopathy including Parkinson's disease and multiple system atrophy, we developed cellular model for synucleinopathy. In this experimental model, α -synuclein was overexpressed in SH-SY5Y cells, which were then exposed to mitochondrial toxins. The data thus obtained suggested the followings.

- 1) By the treatment with rotenone, wild type α -synuclein overexpressing cells demonstrated intracellular aggregations, which shared a number of features with Lewy bodies.
- 2) The aggregate formation of α -synuclein may be cytoprotective.
- 3) The catechol-derived quinones are candidate molecules to facilitate the oligomer formation of α -synuclein.
- 4) The cells overexpressing S129A mutant showed few aggregations. It is suggested that phosphorylation at serine 129 is essential for aggregate formation.
- 5) In wild-type α -synuclein cells treated with rotenone, unfolded protein response (UPR) markers were induced prior to the induction of mitochondrial disruption and caspase-3 activation.
- 6) On the other hand, the S129A mutant failed to activate these UPRs. Thus it seems plausible that α -synuclein toxicity is dependent on the phosphorylation at S129.

(Clin Neurol, 48: 984—985, 2008)

Key words: synucleinopathy, ER stress, quinines, aggregation
