

＜日本神経学会 2008 年度学会賞受賞者招待講演＞

脊髄小脳変性症の分子病態機序の解明

小野寺 理

要旨：神経細胞の機能を維持するために、神経細胞の内部環境を維持する品質管理機構が重要である。とくに蛋白質と核酸の品質管理機構と神経変性疾患との関係が注目されている。代表的な優性遺伝性脊髄小脳変性症であるポリグルタミン病では、蛋白質の品質管理機構の異常が推察されている。一方、劣性遺伝性脊髄小脳変性症では核酸品質管理機構の異常が推察されている。神経細胞の DNA は活性酸素などにより常に障害をうけ損傷している。損傷部の 3'末断端はリン酸基、ホスホグリコール酸基または不飽和アルデヒド基となっており、修復のためには、水酸基に置換（エンド・プロセッシング）される必要がある。われわれは劣性遺伝性脊髄小脳失調症の原因遺伝子アブラタキシンの生理機能を検討し、この蛋白質が *in vitro* において 3'末断端のリン酸基およびホスホグリコール酸基を除去し水酸基とする活性を持ち、これにより損傷部のエンド・プロセッシングに関与していることを示した。このことから、本症の病態機序として DNA 損傷の蓄積の関与を示唆し、脊髄小脳変性症での核酸品質管理機構の重要性を示した。

（臨床神経，49：750—752，2009）

Key words：ポリグルタミン病，アブラタキシン，一本鎖DNA切断，品質管理機構

はじめに

神経はなぜ変性するのであろうか？神経疾患における変性という病態を理解するためには、神経細胞の特殊性を理解する必要がある。神経細胞の特殊性の一つは、最終分化細胞、非分裂細胞であることである。そのため、一個の神経細胞の寿命はきわめて長く、長期間にわたり細胞内の種々の環境を維持していく必要がある。神経細胞では、他の細胞より、さらに繊細な細胞内環境維持機構が必要とされるのではないだろうか？神経変性は、この細胞内環境維持機構の破綻によりひきおこされる疾患という一面がある。細胞内環境とは何か？一つは蛋白質、もう一つは核酸の品質管理を指す。われわれは脊髄小脳変性症の分子病態機序の研究から、“蛋白質品質管理機構異常症としてのポリグルタミン病”、“核酸品質管理機構異常症としての劣性遺伝性脊髄小脳変性症”の2つの分子病態機序の研究を軸として進めてきた。今回は“眼球運動失行と低アルブミン血症をともなう早発型失調症 (AOA1/EAOH)”の分子病態機序について核酸品質管理機構の異常という視点から述べる。

核酸品質管理機構の異常による AOA1/EAOH

1) AOA1/EAOH の疾患概念の確立

“眼球運動失行と低アルブミン血症をともなう早発型失調症 (AOA1/EAOH)”の新潟大学神経内科での第1例は1977年に入院した25歳の女性例であった。主治医であった原山

尋実先生らは、本例の発症が早いこと、小脳症状が主体で後索障害がめだたないことから Friedreich 失調症としては非典型的であると論じ、不随意運動、眼球運動異常などの多彩な症状から、血管拡張をともなう失調症 Ataxia telangiectasia (AT) に類似した疾患であると考察していた。また、本例の小児期の入院所見が残っており、眼球運動失行をうたがわせる所見が丁寧に記載されていた。その1年後、同じ原山先生の元に、第2例が27歳女性例が入院した。本例は早期発症で、小脳萎縮、後索および末梢神経障害をみとめた。Friedreich 失調症が第一に考えられた。しかし、原山先生は両者の類似点を指摘し、本疾患が同一の疾患ではないかと推察していた。1978年に原山先生は丹念な臨床所見から2つの問題をわれわれに提示した。一つは、これらが新しい同一の疾患である可能性である。もう一つは、本疾患の病態が Ataxia telangiectasia に類似している可能性であった。

原山先生の投げかけられた疑問に答えるには長い時間を必要とした。しかし、新潟大学の田中、辻らにより、本疾患が Friedreich 失調症とは遺伝的にもことなる疾患であることが示され、2001年、伊達、辻らにより、本症の原因遺伝子が単離され、アブラタキシン (APT) と名付けられた¹⁾。判明した遺伝子異常から、本症は同一の遺伝子変異で、幼少期では眼球運動失行、成人期では低アルブミン血症と末梢神経障害という臨床症状を示す疾患であることが確立され、“眼球運動失行と低アルブミン血症をともなう早発型失調症 (AOA1/EAOH)”と名付けられた。また本邦で Friedreich 失調症として論じられていた疾患の多くが、AOA1/EAOH であることが明らかになった。神経変性疾患は、その臨床経過が長期にわ

たり、時として、全体像の理解が一臨床医の時間をこえる事がある。本症は、新潟大学神経内科の、一貫した臨床への態度と、その継承、さらに、そこから新しいものをみいだそうとする歴史の上に確立された疾患である。

2) アプラタキシンの機能

APTXはヌクレオチド加水分解活性を持つことが推察された。さらに核および核小体に存在すること、一本鎖DNA切断修復 (single-strand break repair : SSBR) での足場蛋白となるXRCC1と結合することが示された²⁾³⁾。これらの事実からAPTXはDNA修復、とくにSSBRに関与すると推察した。そこでAPTXがSSBRでどのような役割を担うかについて研究を進めた。SSBRは切断損傷認識とX-ray repair cross-complementing group 1 protein (XRCC1)による足場形成、切断部の3'末断端を水酸基、5'末断端をリン酸基に変換するエンド・プロセッシング、DNAポリメラーゼによるDNA合成、DNAリガーゼによる切断部の連結のステップを経て修復される⁴⁾。DNAの連結反応は、DNAリガーゼにより、切断部5'末断端へAMP (adenosine monophosphate) 基が付加され、そこに3'末断端の水酸基が接触しAMP基が除去されることによりおこなわれる。しかし3'末断端が水酸基でないばあい、この連結反応が阻害され5'末断端にAMP基が残存し、さらに修復反応を阻害する⁵⁾。

われわれは、APTXが加水分解活性を持つことから、エンド・プロセッシングに関与している可能性について検討した。通常SSBでは3'末断端は水酸基以外に修飾される。ポリメラーゼ、リガーゼ反応のためには、この修飾断端を3'末断端を水酸基、5'末断端をリン酸基に変換するエンド・プロセッシングが必要となる⁶⁾。APTXがin vitroにおいてDNA3'末断端のリン酸基およびPG基を除去し水酸基とする活性を有することを示した⁷⁾。またAhelaらはAPTXがDNA5'末断端のAMP残基を除去しリン酸基とする活性があることを示した⁵⁾。これらの結果から、APTXはSSBRにおいて切断端のエンド・プロセッシングに関与することを示した。本症では、本遺伝子の欠失により、SSBの蓄積が生じると考えた。

神経細胞のDNAは活性酸素種 (reactive oxygen species : ROS) などの内的要因や、化学物質などの外的要因により頻回に損傷を受けている。神経細胞は、これをすみやかに修復する必要がある。AOA1/EAOHではこの機構に異常があることが推察される。現在までに、小脳を中心とする神経変性をきたすDNA修復機構の異常をとまなう疾患が多数報告されている⁸⁾⁹⁾。この中には、二本鎖DNA修復機構との関連が唱えられているAtaxia telangiectasiaもふくまれている。一方、Friedreich失調症はミトコンドリア異常との関連が唱えられている。つまり、AOA1/EAOHは病態機序的にもAtaxia telangiectasiaに類似していることが明らかになった。1977年に原山先生が投げかけられた2つの疑問に、不十分なながらも

お答えすることができたのではないだろうか。

終わりに

本研究を通じて、われわれは多くのことを学ばせていただいた。一つは、変性疾患は、その経過が年余にわたるため、疾患の理解には、一個人の医師のみではなく、知識を継承する学問の場が重要であること。さらに、洞察に基づいた記載の重要性。加えて、既存の知識のみではなく、そこから新しいことをみいだそうとする、臨床からのDiscussionの重要性であった。このような態度は、時として病態機序をも推察することができることを学んだ。ここで学んだ事を忘れず、次代に継承し、神経変性疾患の病態機序の解明と治療方法の確立に向けて、今後も研鑽を重ねていきたい。

文 献

- 1) Date H, Onodera O, Tanaka H, et al: Early-onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia is caused by mutations in a new HIT superfamily gene. *Nat Genet* 2001; 29: 184—188
- 2) Date H, Igarashi S, Sano Y, et al: The FHA domain of aprataxin interacts with the C-terminal region of XRCC1. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 325: 1279—1285
- 3) Sano Y, Date H, Igarashi S, et al: Aprataxin, the causative protein for EAOH is a nuclear protein with a potential role as a DNA repair protein. *Ann Neurol* 2004; 55: 241—249
- 4) Caldecott KW: DNA single-strand breaks and neurodegeneration. *DNA Repair (Amst)* 2004; 3: 875—882
- 5) Ahel I, Rass U, El-Khamisy SF, et al: The neurodegenerative disease protein aprataxin resolves abortive DNA ligation intermediates. *Nature* 2006; 443: 713—716
- 6) Hazra TK, Das A, Das S, et al: Oxidative DNA damage repair in mammalian cells: a new perspective. *DNA Repair (Amst)* 2007; 6: 470—480
- 7) Takahashi T, Tada M, Igarashi S, et al: Aprataxin, causative gene product for EAOH/AOA1, repairs DNA single-strand breaks with damaged 3'-phosphate and 3'-phosphoglycolate ends. *Nucleic Acids Res* 2007; 35: 3797—3809
- 8) 他田正義, 横関明男, 小野寺理: DNA修復の異常と劣性遺伝性失調症. *実験医学* 2007; 25: 1988—1994
- 9) 小野寺理: 感覚神経細胞とPurkinje細胞に共通する神経変性の原因はあるのか—常染色体劣性遺伝性脊髄小脳変性症の解明から学ぶこと. *神経研究の進歩* 2004; 48: 751—760

Abstract**Molecular mechanism for spinocerebellar ataxias**

Osamu Onodera, M.D., Ph.D.

Department of Molecular Neuroscience, Resource Branch for Brain Disease, Brain Research Institute,
Niigata University

Recent advance of molecular biology reveals that quality control of intracellular environment takes an important role for maintaining the neuronal function. One is a quality control of protein and another is a quality control of nucleotide. Polyglutamine disease is a disease which caused by a failure of quality control of protein. Expanded polyglutamine repeats result in neurodegenerative disorders, but their cytotoxic structures remain to be elucidated. About the quality control of nucleotide in neuron, DNA single-strand breaks (SSBs) were continually produced by endogenous reactive oxygen species or exogenous genotoxic agents. These damaged ends possess damaged 3'-ends including 3'-phosphate, 3'-phosphoglycolate, or 3'- α , β -unsaturated aldehyde ends, and should be restored to 3'-hydroxyl ends for subsequent repair processes. We have demonstrated by in vitro assay that aprataxin, the causative gene product for early-onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia/ataxia with oculomotor apraxia type 1 (EAOH/AOA1), specifically removes 3'-phosphoglycolate and 3'-phosphate ends at DNA 3'-ends, but not 3'- α , β -unsaturated aldehyde ends. The findings indicate that aprataxin removes blocking molecules from 3'-ends, and that the accumulation of unrepaired SSBs with damaged 3'-ends underlies the pathogenesis of EAOH/AOA1. The findings will provide new insight into the mechanism underlying degeneration and DNA repair in neurons.

(Clin Neurol, 49: 750—752, 2009)

Key words: polyglutamine disease, aprataxin, DNA break, quality control system
