

「かたち」が制御する神経の死 アミロスフェロイドから病態・老化の暗号を解く

星 美奈子

ヒトゲノム全塩基配列決定により、35億年の進化が培った「生命の設計図」は解読され、設計図からつくられ、機能を担う蛋白質の機能動態の解明が求められている(図1縦軸)。しかし、生物の最大の特徴は、誕生から死へと「不可逆な過程」をたどることであり、蛋白質も設計図は同一ながら、不可逆な時間のなかで「かたち」とその機能を変えていくことが予想される。このいわば「かたち」による老化アルゴリズムともよぶべきものが、アルツハイマー病の発症に深く関与している可能性が考えられる。なぜなら、発症の大部分が遺伝的変異によらないアルツハイマー病では、生理的蛋白質が不可逆な時間(=個体老化)のなかで病因へと変化したと考えられるからである(図1横軸)。アルツハイマー病発症の引き金を引くのは β アミロイド($A\beta$)と考えられている。では、生理的蛋白質である $A\beta$ は、何に、どのような分子機構で変わることによって病因となるのであろうか。

アルツハイマー病は、記憶や認知機能が徐々に失われる進行性の痴呆症であり、神経細胞の変性/機能不全と死により症状が進行する。老人の脳においてアルツハイマー病の病因となる $A\beta$ は、もともとは生理的ペプチドとして(その機能ははまだ不明であるが)われわれの中でつくられている。その生理的 $A\beta$ が老化の過程で何に変わることで発症の引き金を引くかについては、当初、患者脳に残された2つの痕跡の1つ、 $A\beta$ が線維状に蓄積したシミのような「老人斑」が有力視され、 $A\beta$ の生産と分解のバランスが崩れることで $A\beta$ 量が増加し、結果として線維形成が起こると考えられてきた¹⁾。しかし、量の増加や線維形成

は必ずしも臨床症状と対応せず²⁾、多量の $A\beta$ 線維を蓄えながら一見健常である老人たちの存在もあり³⁾、量や線維以外の要因も考えられた。

次に、患者脳で増え、シナプス減少ともよく対応する、より穏和な条件で抽出可能な可溶性 $A\beta$ が注目された^{3,4)}。患者脳にある可溶性 $A\beta$ は、2~数百量体の混合物で、40アミノ酸の $A\beta_{1-40}$ 、42アミノ酸の $A\beta_{1-42}$ の双方からできる⁴⁾。*in vitro*にある非線維構造体としては、前駆体発現細胞の培養上清に分泌される2/3量体(2量体ないしは3量体)、化学合成 $A\beta$ からつくられたプロトフィブリルと $A\beta_{1-42}$ 会合体混合物(3~6量体を中心に24量体まで)である $A\beta$ -derived diffusible ligands (ADDLs)が同定された⁵⁾。2/3量体はラット海馬の長期増強を抑制する⁶⁾。線維へ至る中間体であるプロトフィブリルは β シート構造をもつ幅4~10 nm、長さ200 nm以下のさまざまなサイズのひもである⁵⁾。最近、亜種としてpore状プロトフィブリルが同定され、Arctic変異($A\beta$ の22番目のグルタミン酸がグリシンに突然変異したもの、アルツハイマー病を早期発症する)をもつ $A\beta$ では出現頻度が上がることが報告されたり、ADDLsは、線維形成の抑制条件(低温またはApoJ添加)で $A\beta_{1-42}$ より生じる会合体混合物で、 $A\beta_{1-40}$ では形成されない⁵⁾。原子間力顕微鏡下では高さ5 nmのさまざまなサイズの楕円球に見える⁵⁾。プロトフィブリル、ADDLsともに神経細胞死活性を示すが、いずれも会合体混合物のまま扱われており、そのなかで神経細胞死活性を担う実体は不明である。また、形成過程、物理化学的性質も未解明のまま、おもに形態で区別されていた。

筆者らは、化学合成 $A\beta_{1-40}$ を溶かした直後のまだ毒性のない水溶液を、ゆっくり回転攪拌することで球状構造体が形成され、神経毒性が現れることを発見した(図2)^{8,9)}。沈降係数による分離と構造活性相関から、直径10~15 nmの球状 $A\beta$ が神経細胞死活性を担う実体と判明し、「アミロスフェロイド」と名づけた(図2)^{8,9)}。線維の400倍の毒性をもつアミロスフェロイドは、液中原子間力顕微鏡下で直径=高さの真球であり、数百pMでアポトーシス様の死をひき起こす⁹⁾。前述したように $A\beta_{1-40}$ 、 $A\beta_{1-42}$ はともに可溶性 $A\beta$ をつくるが、発症と相関するのは $A\beta_{1-42}$ とされてきた。筆者らは、 $A\beta_{1-42}$ が $A\beta_{1-40}$ よりもアミロスフェロイド形成能力が高く、神経毒性も強いことを証明し、こ

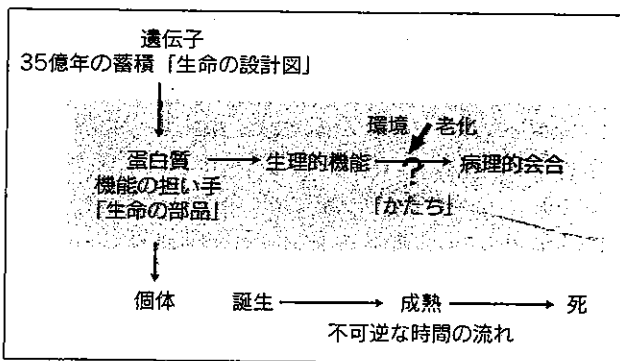


図1 「かたち」による蛋白質の老化アルゴリズム

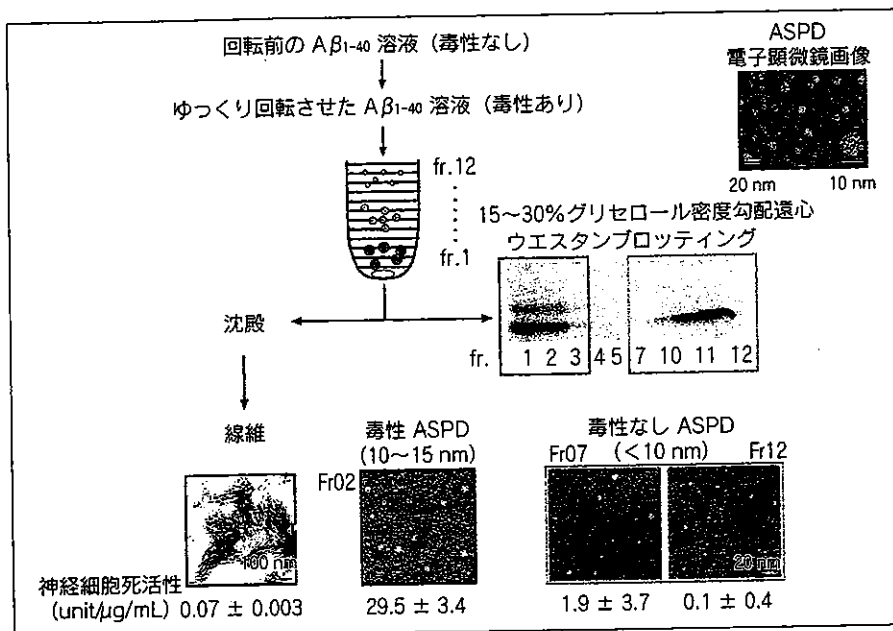


図2 アミロスフェロイド (ASPD) の同定

グリセロール密度勾配遠心により、毒性の強いアミロスフェロイド分画を精製することができた。それが従来、注目されていた線維の約400倍もの神経毒性をもつ。さらに、毒性と構造の相関から、毒性の強いアミロスフェロイドは直径が10~15nmのサイズをもつことも明らかになった。

の差が発症との相関の差になっている可能性を示した⁹⁾。さらに、線維をはじめとしてそれ以外の「かたち」の会合体には毒性がないことを示すことにより、Aβが特定の「かたち」を取ることが重要であるという可能性を示した。すなわち、生理的Aβがその配列上にもつ潜在的「毒性ドメイン」は、特定の構造を取ることではじめて顕在化すると考えられる。アミロスフェロイドがアルツハイマー病の真の要因かどうかは今後の課題であるが、これによって起こる神経細胞死の様子はアルツハイマー病で報告されるものとよく対応しており、神経細胞死へ至るカスケードの一翼を担っている可能性は高い。現在、特異的抗体を作製しつつあり、生体での実証を行おうとしている。筆者らの報告と相前後して、Glabeらが金コロイドにAβを貼り付けた人工物への抗体をつくり、これがAβ会合体混合物の毒性を抑制し、患者脳において老人斑とは異なる部位を染色することを示した¹⁰⁾。この抗体が実際に何を認識しているのか、今後の解析が待たれる。

上記のように、アミロスフェロイドの同定をはじめとして可溶性Aβの実体が解明されつつあるなかで、「生理的Aβが何に変わることで」という問題は解明されようとしている。しかし、もし仮にアミロスフェロイドないしはその類縁分子が生体内に存在したとしても、発症機構の解明には、生理的Aβが「どのような分子機構で毒性をもつ会合体に変わるのか」、それを「制御する機構は何か」という問題を解かなくてはならない。アミロスフェロイドをはじめとする複数の異なるAβ会合体が、試験管内で他の蛋白質などの助けを借りることなく形成されること、そしてそ

うちの少なくとも1つである線維は実際にヒト脳で形成されることから、Aβは複数の会合体を形成する自己組織化能力をもつと推測される。複数ある可能性のどれが選ばれるかを左右するのはAβを取り巻く水とイオン環境、そしてシャペロンが考えられるが、アルツハイマー病の最大の発症因子である老化とこれらの関係はまだ今後の課題である。アミロスフェロイドの場合、回転がどのような物理化学的变化をAβに引き起こしているかを明らかにすることが、制御機構を解明する最初の一步となるであろう。生理的Aβと各種Aβ会合体はすべてAβからなり、コンホメーションと連鎖様式のみが異なる。会合体が本来の機能を喪失するのではなく、新たな機能を発現することから、蛋白質はこの構造代謝とでもいうべき動的な構造変化により、生体の各段階に応じた機能を発揮しているのかもしれない。筆者らの研究はまだ一步を踏み出したところであるが、アミロスフェロイドを手掛かりに、現在存在する技術的問題を打破し、病態と老化という生命現象を物理化学的に解き明かしていきたいと思っている。

Q アミロスフェロイドは実際に生体の中にあるのですか？

A 現在、特異的抗体を作製を含め、検討中です。アミロスフェロイドによる神経細胞死の機構は(詳細は省きますが)、アルツハイマー病脳における神経細胞死機構と非常によく合致する面があり、そのものではなくとも類縁の構造体が存在するのではないかと考えています。ただ、もし仮に存在したとして、なぜ生理的には存在してはいけ

ないものに、ある特定の神経細胞が反応し、選択的に殺されてしまうのかなど、まだまだ明らかにしなくてはならないことが沢山残されていると考えています。

Q 細胞内でのアミロスフェロイドの形成あるいは解体に分子シャペロンが関与するという可能性についてはどうでしょうか？

A 最終段落に簡単に触れましたが(より詳細には文献8を参照)、アミロスフェロイドあるいは類縁構造体の形成・解体に分子シャペロンが関与しているということは十分考えられると思います。分子シャペロンとユビキチン-プロテアソーム系による監視機構の劣化が発症の要因となるのか、より積極的に発症にかかわる分子シャペロンが存在するのか、今後の課題だと考えます。

●文献

1) Hardy, J. A., Higgins, G. A. : *Science*, 256, 184-185(1992)

- 2) Nilsberth, C. *et al.* : *Nat. Neurosci.*, 4, 887-893(2001)
- 3) Lue, L. F. *et al.* : *Am. J. Pathol.*, 155, 853-862(1999)
- 4) Kuo, Y.-M. *et al.* : *J. Biol. Chem.*, 271, 4077-4081(1996)
- 5) Klein, W. L., Kraft, G. A., Finch, C. E. : *Trends Neurosci.*, 24, 219-224(2001)
- 6) Walsh, D. M. *et al.* : *Nature*, 416, 535-539(2002)
- 7) Lashuel, H. A. *et al.* : *Nature*, 418, 291(2002)
- 8) 星 美奈子 : 細胞工学, 21, 728-732(2002)
- 9) Hoshi, M. *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 6370-6375(2003)
- 10) Kaye, R. *et al.* : *Science*, 300, 486-489(2003)

Minako Hoshi, 三菱化学生命科学研究所 神経変性疾患ユニット,
科学技術振興事業団 戦略的創造科学研究推進事業 PRESTO
E-mail : mie@libra.lsm-kagaku.co.jp
Amyloospheroid and the 'morphometabolism' disease (conformational disease)

特集

痴呆研究の最前線

「かたち」が制御する神経細胞死：アミロ スフェロイドとアルツハイマー病

星 美奈子

はじめに

ヒトゲノムの全塩基配列の決定により、人類は35億年の進化が培った「生命の設計図」を手に入れた。そして現在、設計図に基づき作られ、生体内での機能を担うタンパク質の機能動態の解明が精力的に進められ、過去には想像もつかなかった新たな局面が開けてきた。しかし、生命の営み全体を説明し、それが誤動作している疾患を克服するためには未だ大きな「？」が残されている。アルツハイマー病を例に取れば、主要な発症促進因子は老化であるが、「生涯同一の遺伝子型を持ちながらなぜある症状が老化と伴に顕れるのか」という遺伝子型と表現形の間

Dysregulation of proteins morphometabolism induced neurodegeneration: amylospheroid and Alzheimer's disease

Minako Hoshi

三菱化学生命科学研究所 アルツハイマー病研究グループ発症機序解明チーム

東京工業大学 生命理工学部 生命情報科学専攻 [〒194-8511 東京都町田市南大谷11号]

Pathogenesis and Basic Research Lab., Alzheimers Disease Research Group, Mitsubishi Kagaku Institute of Life Sciences (MITILS) (11 Minamiooya, Machida, Tokyo 194-8511, Japan)

Faculty of Bioscience and Biotechnology, Department of Bioinformatics, Tokyo Institute of Technology

ギャップが問題となる。より具体的には、生理的にも存在する β アミロイド($A\beta$)の脳への蓄積が発症のトリガーと考えられているが、それでは「 $A\beta$ はどのような分子機構で何に変わることによって病因となるのか？」については未だ謎である。我々はその手がかりを求め研究を行ってきたが、最近、 $A\beta$ の自発的な自己集合で形成され、非常に強力な神経毒性を持つ、新たな球状構造体「アミロスフェロイド」を同定・精製することに成功した(図1)(Hoshi et al., 2003)。 $A\beta$ は自己組織化により様々な「かたち」を取るが、神経細胞死活性を発揮するのは特定の「かたち」に限られているようである。今回、アミロスフェロイド発見の経緯を述べつつ、「かたち」という観点からタンパク質の機能を考えてみたい。

アミロスフェロイド同定の経緯

理論的には無数のコンフォメーションを取りうる自由度を持つタンパク質だが(例えば40アミノ酸残基の $A\beta$ ならば約 10^{40} 通り)、現実には特定の三次構造に良く固定されており(Finkelstein 1997)、「アミノ酸配列が決まれば溶媒

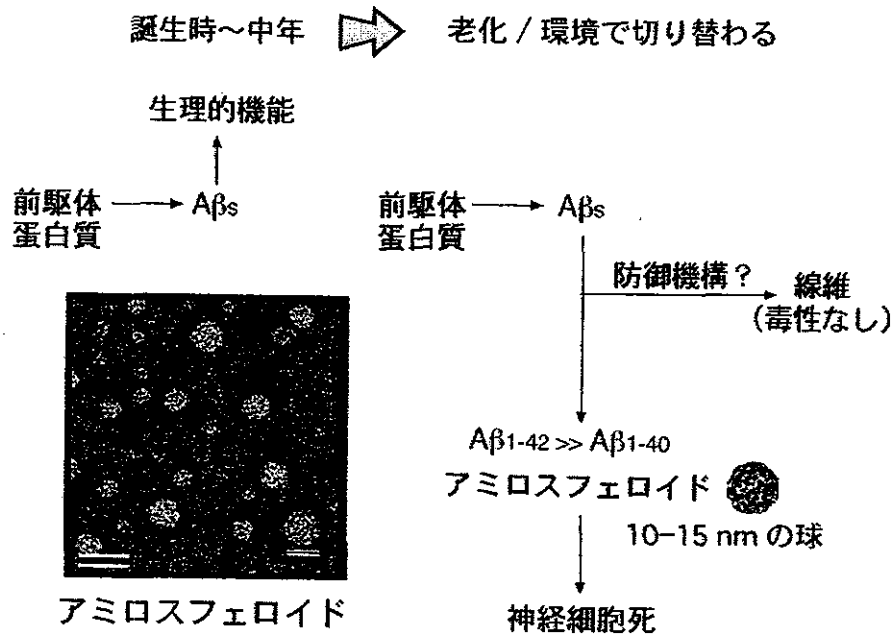


図1. アミロスフェロイド仮説

生理的 Aβ ではマスクされていた毒性構造が、老化にともない会合する Aβ に切り替わり、特定の構造を取ることで顕在化し、神経細胞死を引き起こす。線維等には毒性がなく、一種の生体防御反応である可能性も考えられる。インセットはアミロスフェロイドの電子顕微鏡観察像。スケールは左が 20 nm、右が 10 nm。

(主に水) 効果で一意的に三次構造は決まる」(Anfinsen 1973)と考えられた。従って、三次構造は遺伝情報、即ち DNA 上の塩基配列により決定されることになる。しかし近年、予想以上に複雑かつ精密な制御がそこには働いていることが明らかになりつつある(Sherman and Goldberg 2001)。アルツハイマー病を初めとする神経変性疾患においても、「異常構造タンパク質」の凝集と蓄積が、共通の病態であり発症にも関わることもわかってきた。但し、それぞれの疾患で原因となるタンパク質がなぜ生理的役割を離れ病因となるのか、それはどのような構造変化を伴い、その結果なぜ神経の機能障害が起きるのか等、まだ多くは不明である。

アルツハイマー病においては、Aβ を主成分とする老人斑とリン酸化されたタウからなる神経原線維変化の 2 種の異常構造タンパク質が脳に蓄積する。近年の医学研究の進歩から、痴呆へと至る発症の引き金となるのは「Aβ の蓄積」であることが明らかになった (Selkoe 2001)。

Aβ は生理的にも低レベルながら存在しており、前駆体から恒常的に切り出され、分解されている (Saïdo 2002)。従って、蓄積が起きる背景としては、前駆体からの切り出しの亢進、あるいは分解の低下が考えられ、その両面から研究が進められている。特に、多くの遺伝性アルツハイマー病では前駆体からの切り出し、中でも 42 アミノ酸残基の Aβ 分子種が亢進している。当初の予想以上に切り出しは複雑に制御されており、現在も γ-secretase の分子実体の全容を明らかにすべく、熾烈な競争が行われている。しかし、遺伝性アルツハイマー病の場合、出生時から Aβ 産生量は亢進しているが発症は早くて 30 歳以降であり、そのタイムラグがなぜ生じるかはまだ説明出来てはいない。一方、Aβ の分解経路については、ネプリライシンが生体では Aβ1-42 分解酵素であることが、理化学研究所の西道博士らにより示された (Iwata et al., 2000)。その後、発症初期の孤発性アルツハイマー病脳においてネプリライシンレベルが正常

よりも有意に低下していることが報告され (Yasojima et al., 2001), 今後ネプリライシンの制御機構, 特に孤発性アルツハイマー病との関係解明が待ち望まれる。

上記2つの研究においては, 脳内 $A\beta$ の蓄積が発症の引き金として十分と考えられている。しかし, 本当にそうであろうか? 切り出しと分解のバランスだけでは, ある種の遺伝性アルツハイマー病で $A\beta$ 量や線維形成の促進が認められないにも関わらずなせ早期発症するのか (Nilsberth et al., 2001), そして多量の老人斑を蓄えながら生前に痴呆を全く発症しない老人達がなぜ存在するのか (Lue et al., 1999) 等を説明することは困難であり, 他にも制御機構があることが伺われた。

三菱化学生命科学研究所では当時の所長今堀和友先生を中心に, 神経細胞死という出口により近い「タウのリン酸化」を司る酵素が同定精製されていた (Imahori et al., 1998)。筆者はそのうち, タウリン酸化酵素 I (tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3 β ; TPKI/GSK-3 β) による神経細胞死シグナルカスケードの解明を目的に, 初代培養神経に $A\beta$ を投与していたが, その過程で「脳内 $A\beta$ 量が増え線維となって神経細胞死が起きる」というアミロイド仮説 (Hardy and Higgins 1992) に疑問を感じるようになった。そこで, 当時東京都老人総合研究所の神経病理部長であった水谷俊雄博士にお願いして, アルツハイマー病患者の脳の神経病理学的解析に取り組んだ結果, 脳における線維の蓄積場所と神経細胞脱落の部位が必ずしも相関しないことなどから, 線維以外の $A\beta$ 集合体を探索する必要があると考えるに至った。また, 筆者に取っては, 40 アミノ酸残基の $A\beta$ 1-40 と 42 残基の $A\beta$ 1-42 のどちらも老人斑を形成するにも関わらず, $A\beta$ 1-42 が発症の引き金を引くとされていたことも謎であった。これらの事実を統合して考えると, $A\beta$ が神経細胞死活性を獲得するのは, 特定の「かたち」に集合した時だが, それは線維ではな

いと考えられる。即ち, 年と共に脳内に $A\beta$ が蓄積するが, それがある特定の「かたち」を取らない限り痴呆にはならず, また $A\beta$ 1-42 は $A\beta$ 1-40 よりもこの特定の「かたち」を作りやすいと仮定すれば説明が付くと考えた。

その当時, $A\beta$ が「神経毒性を発揮する」ためには自己集合を起こさせることが必要と言うことは明らかになっていたが (Lorenzo and Yankner 1994), 各々の研究者が独自に集合させた $A\beta$ は時に異なる活性を示し, また同一の調整方法に基づいても原材料となる化学合成した $A\beta$ の供給先やロットによっては毒性すら発揮されないということが知られていた。そこで, 我々は, 複雑かつ多様な $A\beta$ の自己集合過程を解明し, 神経毒性を担う分子の実体を明らかにすべく, あえて重合しやすい $A\beta$ 1-42 ではなく, 生理的と見なされている $A\beta$ 1-40 を選び (Levine 1995), $A\beta$ 1-40 を大量に化学合成し, 均一な原材料を確保するところから開始した。そして, 各種条件下での $A\beta$ 集合体形成を試みた。その結果, 化学合成した $A\beta$ 1-40 は溶かした直後は毒性を持たないが, その水溶液をゆっくり回転攪拌することで, やがて神経毒性が現れることを発見した (Hoshi 2002; Hoshi et al., 2003)。静置した場合, β シート構造を持つ線維が形成されるが, 神経細胞死活性はほとんど認められなかった (Hoshi 2002; Hoshi et al., 2003)。回転攪拌した場合, 最初に出現するのは微小な球状構造であり, 線維はかなり遅れて形成される (図2)。線維への中間体であるプロトフィブリルは, 球状構造の後に認められるが, ある時間が経過すると全て線維になり観察されなくなる。一方, 微小球は長時間の回転攪拌後も存在していた (図2)。また, 単離した微小球状構造は長時間においても, また引き続き回転攪拌しても線維に転換することはなく, さらに, 線維形成が起きない低濃度の条件下でも形成された (Hoshi et al., 2003)。そこで, 線維形成に必要な分子間の β シート形成を阻害するペプタペプチド (KLVFF, LPFFD) (Soto et

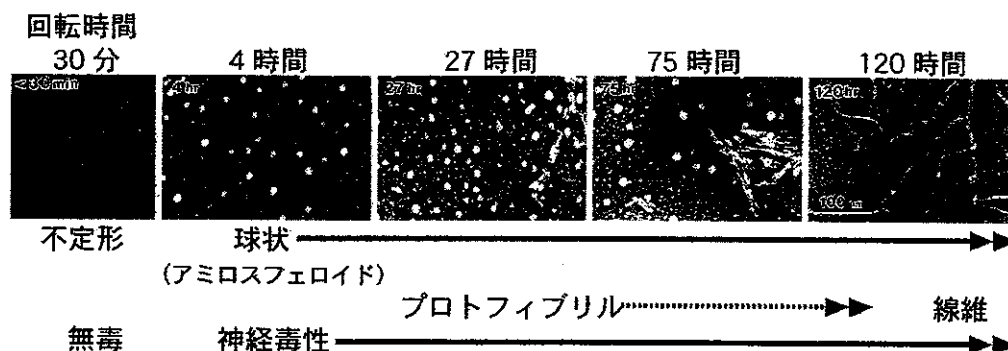


図2 回転によるアミロスフェロイド，プロトフィブリル，線維の形成と神経細胞死活性の関係

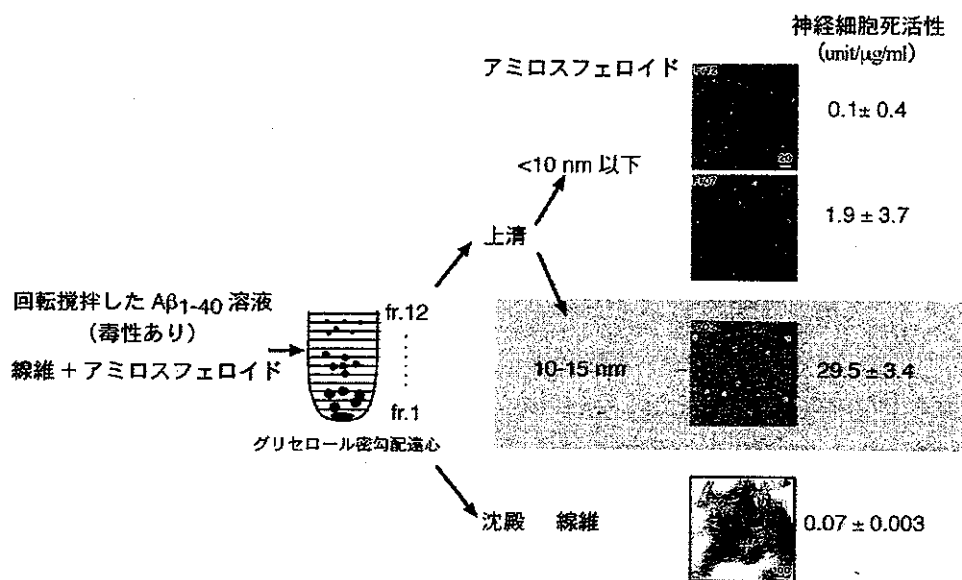


図3. アミロスフェロイドの精製

al., 1998; Tjernberg et al., 1996) を予め大過剰に Aβ1-40 水溶液に加え，その上で回転攪拌を行った。確かに線維形成は阻害されたが，微小球状構造には影響がなく，神経毒性も保たれていた (Hoshi et al., 2003)。これらの結果は，この微小球状構造は，線維とは異なる形成過程を取る可能性があること，さらに線維ではなく微小球状構造が神経毒性の担い手であることを示唆している。そこで，この微小球状構造体を「アミロスフェロイド」と名付け，グリセロール密度勾配遠心を用いた沈降係数による分離と構造活性相関から，直径 10-15 nm のアミロスフェロイドが神経細胞死活性を担う分子実体であることを証明した (図3) (Hoshi 2002；

Hoshi et al., 2003)。アミロスフェロイドは，350 pM で毒性を示し，初代培養神経では全体の約 4 割の神経細胞に核の凝集と分断を伴う典型的アポトーシスを起こした。一方，同様に精製したアミロイド線維は mM でもほとんど毒性がなかった (図3)。アミロスフェロイドはアミロイド線維の約 450 倍という強い神経細胞死活性を持つ (図3)。前述したとおり Aβ には，40 アミノ酸からなる Aβ1-40 と，それに Ile と Ala が付いた Aβ1-42 が存在する。そのいずれも線維や可溶性 Aβ を形成するが，アルツハイマー病の発症と相関するのはなぜか Aβ1-42 であった。我々は，Aβ1-42 が Aβ1-40 と同様に直径 10-15 nm のアミロスフェロイドを形成するが，

A β 1-42 は A β 1-40 よりもアミロスフェロイド形成能力が高く、神経毒性も強いことを証明し、この差が発症との相関の差になっている可能性を示した (Hoshi et al., 2003).

アミロスフェロイド神経細胞死機構

精製したアミロスフェロイドは、数百 pM で神経細胞死を誘導するが、投与直後から細胞内カルシウムの上昇と自発的カルシウムスパイクの亢進が認められる (Kobayashi et al., 1999). やがて神経突起の変形が起こり、投与後 6 時間には神経突起が切断され、細胞間をつなぐ繊維連絡が減少するのが観察される (Hoshi 1999). アルツハイマー病の場合、神経細胞死に先行してシナプスが変性すると考えられているが (Selkoe 2002), アミロスフェロイド投与の初期反応もそれを示唆している。そして、2 時間後をピークに一過的にタウリン酸化酵素 TPKE/GSK-3 β の活性化が起こり、48 時間後には神経細胞そのものが失われていた (Hoshi et al., 2003). アミロスフェロイド投与の初期にこのリン酸化酵素の阻害剤である LiCl を IC50 濃度 2 mM (Klein and Melton 1996) 投与することでアミロスフェロイド毒性は効果的に抑制可能であるが、アミロスフェロイド投与から遅れて 4 時間以降、既に TPKE/GSK-3 β が活性化した後の阻害剤投与は効果がなかった。従って、アミロスフェロイド毒性はその神経細胞死シグナル伝達の初期において TPKE/GSK-3 β を活性化し、神経細胞を死に至らしめている可能性が極めて高い (Hoshi et al., 2003). この場合はタウの機能阻害が神経細胞死の鍵になっていると推定され、FTDP-17 におけるタウの突然変異による神経細胞死と比較検討することで、その機構がより一層明らかになると考えられる。しかし、同時に筆者らは他の神経細胞死機構が動いていることも見出しており、これらがそれぞれ加算的に神経細胞死を引き起こしているのか、それともリンクしている

のか、現在検討中である。また、インスリン応答のごく初期に Fyn による Tyr216 のリン酸化により TPKE/GSK-3 β が活性化されることが報告されているが (Lesort et al., 1999), A β による神経細胞死においても Fyn が関与すると言う報告があり (Lambert et al., 1998), Fyn が TPKE/GSK-3 β の活性化に寄与している可能性が考えられる (Hoshi et al., 1999). アミロスフェロイドによる神経毒性は細胞選択性、領域選択性があり、下流の神経細胞死機構を分子レベルで解明していきたい。今後、アミロスフェロイド (類縁分子) の存在が実証されれば、アルツハイマー病発症と A β 蓄積の間に残る矛盾を解き、過去の TPKE/GSK-3 β の研究も踏まえ (Hoshi et al., 1996; Hoshi et al., 1997; Imahori et al., 1998; Takashima et al., 1993), アミロスフェロイド形成から神経細胞死、そしてアルツハイマー病発症へと一連の流れを提案することが可能となる。

アミロスフェロイドの「かたち」の可視化

上記研究に取り組んでいる過程で、患者脳から老人斑よりもより穏和な条件で抽出可能な「可溶性 A β 」(Klein et al., 2001) (2~数 100 量体の混合物で、40 アミノ酸の A β 1-40, 42 アミノ酸の A β 1-42 の双方からなる) が増えていること、その増加が神経細胞同士の情報交換の場であるシナプス減少とも良く対応することがわかり、線維ではない構造体が注目されるようになっていた (Kuo et al., 1996; Lue et al., 1999). その結果、非線維の A β 集合体が注目を集め、APP 発現細胞の培養上清に分泌される 2/3 量体 (2 量体ないしは 3 量体), 化学合成 A β から作られたプロトフィブリル (Hartley et al., 1999; Walsh et al., 1999) と A β 1-42 会合体混合物 (3~6 量体を中心に 24 量体まで) である A β -derived diffusible ligands (ADDLs) (Lambert et al., 1998) が同定されるに至った。2/3 量体はラット海馬の長期増強を抑制す

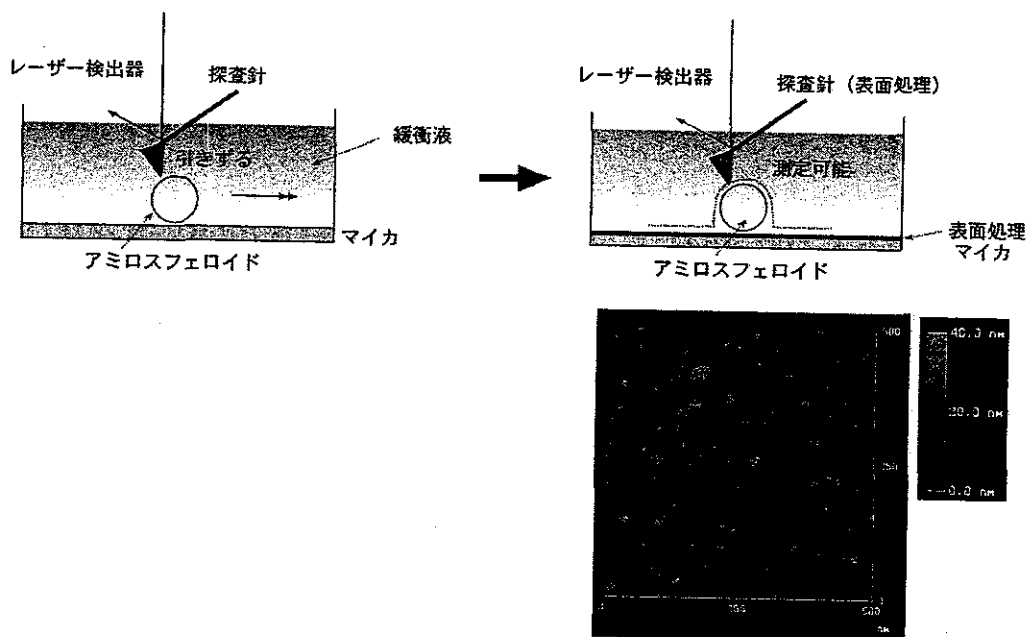


図4. 溶液中におけるアミロSFエロイドの原子間力顕微鏡観察画像

る (Walsh et al., 2002). 線維へ至る中間体であるプロトフィブリルは β シート構造を持つ幅 4-10 nm, 長さ 200 nm 以下の様々なサイズのひもである (Hartley et al., 1999; Walsh et al., 1999). 亜種として pore 状プロトフィブリルも同定されている (Lashuel et al., 2003). ADDLs は, 線維形成の抑制条件 (低温または Apo J 添加) で A β 1-42 より生じる会合体混合物で, A β 1-40 では形成されない (Lambert et al., 1998). 原子間力顕微鏡下では高さ 5 nm の様々なサイズの楕円球に見える (Lambert et al., 1998). プロトフィブリル, ADDLs 伴に神経細胞死活性を示すが, 何れも会合体混合物のまま扱われており, その中で神経細胞死活性を担う実体は不明である. ADDLs に関しては, 2003 年の北米神経科学の年会においてゲル濾過による精製が報告された. 神経細胞死活性は < 14 kDa 以下の画分にはなく, ゲル濾過上で分子量 50 kDa 以上の画分にあるという. しかし, 3 量体 (= ~14 kDa) から 24 量体 (= ~108 kDa) まで含まれる ADDLs のいずれが (それとも全てが) 神経細胞死を引き起こすのかどうかは今のところ不明である. これらの線維ではな

い A β 集合体を線維形成の中間体と捉える見方もあり, 最近の研究の一つのトレンドとなっているが, いずれにせよ, A β の種類においても, A β の集合の程度についても不均一な混合物であり, これらが線維形成の中間体であるかどうかも含めて, その形成機構, 物理化学的性質のほとんどは不明である.

従って, これらの混合物である集合体とアミロSFエロイドを比較するには現状では「見る」しかない. 我々は通常の観察には透過型電子顕微鏡を用いている. これは注意すれば非常に優れた検出法だが, 真空中で観察するため試料を乾かす必要があり, また試料の高さを定量出来ない. そこで, 三菱化学科学技術研究センターの協力を仰ぎ, まだあまり行われていない溶液下での nm スケールのタンパク質の原子間力顕微鏡観察に挑戦することとした. しかし, 最初の半年間は何度試みてもまるで冬の日本海さながらの画像しか撮れず, その後ようやく, どうやら探査針がアミロSFエロイドを引きずっていることがわかってきた (図4). そこで, まず探査針のばね定数を非常に弱いものに変え, さらに神経の培養から着想を得て探査針をコートす

ることを思いつき、さらに試料を乗せるマイカをシラン処理を行う等の改良を試みた。その結果、忽然とある日突然アミロスフェロイドの姿が浮かび上がってきたのであった(図4)(Hoshi et al., 2003) (Matsumoto & Hoshi, et al., 未発表データ)。そして、探針の定量を行い、それを基にアミロスフェロイドの精密な直径を割り出し、高さの測定値との比較から確かにアミロスフェロイドは溶液中で直径=高さの真球であることを示した。この結果から、アミロスフェロイドはプロトフィブリルやADDLsとは異なる形態を持つ新たな構造体であることが証明されたのである。

アミロスフェロイド仮説の提唱

アルツハイマー病の救世主に思われた「ワクチン療法」(合成A β または抗A β 抗体の免疫によるA β 蓄積の除去)(Janus et al., 2000; Morgan et al., 2000)は、生理的A β を含む全A β の除去を目指している。しかし、この療法の最初の試みはヒトでは5%に回復不能な脳炎様症状が生じ、A β 除去に成功した例も甚大な組織破壊を伴う結果となった(Schenk 2002)。今後の改良が待ち望まれる。ごく最近、2つのグループからネプリライシン遺伝子導入の結果が報告された(Iwata et al., 2004; Marr et al., 2003)。岩田らの報告によると、ウィルスベクターにより発現されたネプリライシンは、シナプスにおいてA β を分解する効果があることが示された(Iwata et al., 2004)。A β 切り出し/分解はフィードバック制御が働くため、制御機構が不明な現状での長期代謝抑制はリスクを伴うことは否定出来ないが、A β の除去に関して新たな方向性を示しており、今後の臨床応用への展開が望まれるところである。一方、Morganらのワクチン療法の研究では線維以外のA β 集合体がワクチン療法の標的である可能性も指摘されている(Morgan et al., 2000)。我々の結果からアミロスフェロイドは、従来考えられてい

た線維の中間体ではないと思われ、毒性がほとんどない線維はむしろ毒性構造体に対する生体防御である可能性も考えられた。もしそうであれば、生理的A β や線維形成を阻害しない治療戦略が可能かもしれない。アミロスフェロイドを初めとする複数の異なるA β 集合体が、試験管内で他のタンパク質等の助けを借りることなく形成されること、そしてその内の少なくとも1つである線維は実際にヒト脳で形成されることから、A β は自発的に集合し組織だった構造を形成する「自己組織化能力」(Bushev 1994; Nicolis and Prigogine 1977; Yates 1987)を持つと推測される。老化の過程で生理的A β が、集合体へと変わるにあたっては、A β を取り巻く水とイオン環境、そしてシャペロンの作用等が考えられるが、これらは今後の課題である。我々は、アミロスフェロイド形成において「回転攪拌」がどのような物理化学的変化をA β に引き起こしているかを解明するところからこの問題にアクセスしていきたいと考えている。

おわりに

A β に認められるような、老化に伴い集合体が形成されるという現象は、他の神経変性疾患の原因となるタンパク質においても共通に認められる病態である。原因タンパク質同士はアミノ酸配列にも本来の機能にも一見共通性はないが、類縁の凝集体を形成し神経細胞死を起こす。本来疾患とは関係のないタンパク質も実験的環境においては凝集することが報告されている(Bucciantini et al., 2002)。これらのタンパク質は、自己組織化しある構造を取ることで、本来の機能にはない毒性を獲得している。このように元々のタンパク質のコンフォメーションと連鎖様式を変えることで新たな機能を獲得する自己組織化能は潜在的に全てのタンパク質に備わっているのかもしれない。多くの神経変性疾患の発症が老化と密接な関係にあることを考えると、タンパク質の自己組織化能によるダイナ

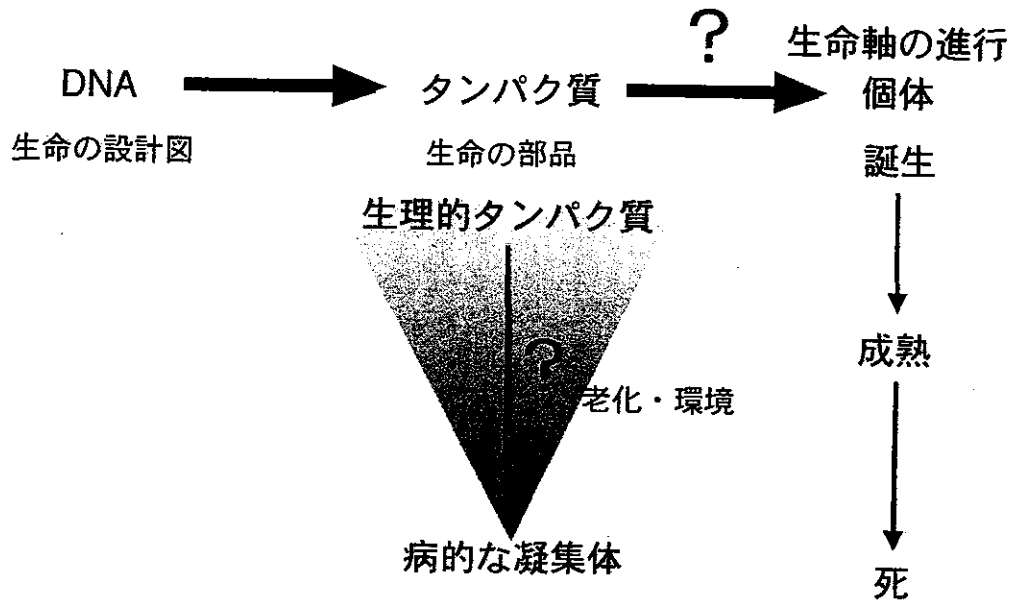


図5. 「かたち」によるタンパク質の老化アルゴリズム

ミックな構造代謝は老化の基本原則と深く関わるのかもしれない(図5)。まだまだ解明すべきことは多いが、アミロスフェロイドからいずれは老化という現象を物理化学的に解明出来たら本望である。

謝 辞

ここで述べた研究は、福岡女子大学佐藤一紀博士との共同研究によるものであり、佐藤道夫博士、野口彰彦氏、伊藤茜氏、坂本弓子氏らの協力により成し遂げたものであります。この場を借りて感謝の意を表します。常に温かい励ましと助言を下された永井克孝所長とアミロスフェロイドの構造について議論いただいた若林健之博士には心から感謝いたします。また、ここに記載した成果は科学技術振興機構PRESTO並びに内藤財団の助成により実現したものです。最後になりましたが、私がアルツハイマー病の研究を始めるに当たっていろいろとご指導賜った今堀和友先生に深謝いたします。

文 献

1. Anfinsen CB (1973) Principles that govern the folding of protein chains. *Science* 181: 223-230.
2. Bucciantini M, Giannoni E, Chiti F, Baroni F, Formigli L, Zurdo J, Taddei N, Ramponi G, Dobson CM and Stefani M (2002) Inherent toxicity of aggregates implies a common mechanism for protein misfolding diseases. *Nature* 416: 507-511.
3. Bushev M (1994) Synergetics, chaos, order, self-organization. London: World Scientific.
4. Finkelstein A (1997) *Curr. Opin. Struct. Biol.*: 60-71.
5. Hardy JA and Higgins GA (1992) Alzheimer's disease: The amyloid cascade hypothesis. *Science* 256: 184-185.
6. Hartley DM, Walsh DM, Ye CP, Diehl T, Vasquez S, Vassilev PM, Teplow DB and Selkoe DJ (1999) Protofibrillar intermediates of amyloid beta-protein induce acute electrophysiological changes and progressive neurotoxicity in cortical neurons. *J Neurosci* 19: 8876-8884.
7. Hoshi M, Takashima A, Noguchi K, Murayama M, Sato M, Kondo S, Saitoh Y, Ishiguro K, Hoshino T and Imahhori K (1996) Regulation of mitochondrial pyruvate dehydrogenase activity by tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3b in brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 2719-2723.
8. Hoshi M, Takashima A, Murayama M, Yasuta-

- ke K, Yoshida N, Ishiguro K, Hoshino T and Imahori K (1997) Non-toxic amyloid-b peptide-42 suppresses acetylcholine synthesis: Possible role in cholinergic dysfunction in Alzheimer's disease. *J. Biol. Chem.* 272: 2038-2041.
9. Hoshi M (1999) Neurotoxicity and Neuronal Dysfunction Induced by Amyloid-b. *J. Clin. Exp. Med.* 189: 22-27.
 10. Hoshi M, Ishiguro K, Yoshida N, Kobayashi NR, Sato K and Imahori K (1999) Possible involvement of tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3b (TPKI/GSK-3 b) in neurotoxicity of Ab1-40 aged in a standard method. *Soc. for Neurosci. Abstr.* 25: 2125.
 11. Hoshi M (2002) How to prevent deleterious oligomerization of misfolded proteins in aging? *Cell Technology* 21: 728-732.
 12. Hoshi M, Sato M, Matsumoto S, Noguchi A, Yasutake K, Yoshida N and Sato K (2003) Spherical aggregates of b-amyloid (amylospheroid) show high neurotoxicity and activate tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3b. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 6370-6375.
 13. Imahori K, Hoshi M, Ishiguro K, Sato K, Takahashi M, Shiurba R, Yamaguchi H, Takashima A and Uchida T (1998) Possible involvement of tau protein kinases in pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurobiol of Aging* 19: s93-s98.
 14. Iwata N, Tsubuki S, Takaki Y, Watanabe K, Sekiguchi M, Hosoki E, Kawashima-Morishima M, Lee HJ, Hama E, Sekine-Aizawa Y and Saido TC (2000) Identification of the major Abeta1-42-degrading catabolic pathway in brain parenchyma: suppression leads to biochemical and pathological deposition. *Nat Med* 6: 143-150.
 15. Iwata N, Mizukami H, Shirotani K, Takaki Y, Muramatsu S, Lu B, Gerard NP, Gerard C, Ozawa K and Saido TC (2004) Presynaptic localization of neprilysin contributes to efficient clearance of amyloid-beta peptide in mouse brain. *J Neurosci* 24: 991-998.
 16. Janus C, Pearson J, McLaurin J, Mathews PM, Jiang Y, Schmidt SD, Chishti MA, Horne P, Heslin D, French J, Mount HT, Nixon RA, Mercken M, Bergeron C, Fraser PE, St George-Hyslop P and Westaway D. (2000) A beta peptide immunization reduces behavioural impairment and plaques in a model of Alzheimer's disease. *Nature* 408: 979-982.
 17. Klein PS and Melton DA (1996) A molecular mechanism for the effect of lithium on development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 8455-8459.
 18. Klein WL, Krafft GA and Finch CE (2001) Targeting small Abeta oligomers: the solution to an Alzheimer's disease conundrum? *Trends Neurosci* 24: 219-224.
 19. Kobayashi NR, Hirasawa T, Yoshida N, Kudo Y and Hoshi M (1999) b-amyloid1-40 disrupts calcium homeostasis of selective hippocampal neurons in organotypic slice culture. *Soc. for Neurosci. Abstr.* 25: 342.
 20. Kuo Y-M, Emmerling MR, Vigo-Pelfrey C, Kasunic TC, Kirkpatrick JB, Murdoch GH, Ball MJ and Roher AE (1996) Water-soluble Ab (N-40, N-42) oligomers in normal and Alzheimer disease brains. *J. Biol. Chem.* 271: 4077-4081.
 21. Lambert MP, Barlow AK, Chromy BA, Edwards C, Freed R, Liosatos M, Morgan TE, Rozovsky I, Trommer B, Viola KL, Wals P, Zhang C, Finch CE, Krafft GA and Klein WL (1998) Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Abeta1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 6448-6453.
 22. Lashuel HA, Hartley DM, Petre BM, Wall JS, Simon MN, Walz T and Lansbury PT (2003) Jr. Mixtures of wild-type and a pathogenic (E22G) form of Abeta40 in vitro accumulate protofibrils, including amyloid pores. *J Mol Biol* 332: 795-808.
 23. Lesort M, Jope RS and Johnson GV (1999) Insulin transiently increases tau phosphorylation: involvement of glycogen synthase kinase-3beta and Fyn tyrosine kinase. *J Neurochem* 72: 576-584.
 24. Levine H (1995) 3rd. Soluble multimeric Alzheimer beta(1-40) pre-amyloid complexes in dilute solution. *Neurobiol Aging* 16: 755-764.
 25. Lorenzo A and Yankner BA (1994) β -Amyloid neurotoxicity requires fibril formation and is inhibited by Congo red. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 12243-12247.
 26. Lue LF, Kuo YM, Roher AE, Brachova L, Shen Y, Sue L, Beach T, Kurth JH, Rydel RE and Rogers J (1999) Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 155: 853-862.
 27. Marr RA, Rockenstein E, Mukherjee A, Kindy MS, Hersh LB, Gage FH, Verma IM and Masliah E (2003) Neprilysin gene transfer reduces human amyloid pathology in transgenic mice. *J Neurosci* 23: 1992-1996.
 28. Morgan D, Diamond DM, Gottschall PE, Ugen KE, Dickey C, Hardy J, Duff K, Jantzen P, DiCarlo G, Wilcock D, Connor K, Hatcher J, Hope C, Gordon M and Arendash GW (2000) A beta peptide vaccination prevents memory loss in an

- animal model of Alzheimer's disease. *Nature* 408: 982-985.
29. Nicolis G and Prigogine I (1977) *Self-organization in non-equilibrium systems*. New York: Wiley.
 30. Nilsberth C, Westlind-Danielsson A, Eckman CB, Condron MM, Axelman K, Forsell C, Stenh C, Luthman J, Teplow DB, Younkin SG, Naslund J and Lannfelt L (2001) The 'Arctic' APP mutation (E693G) causes Alzheimer's disease by enhanced A β protofibril formation. *Nat Neurosci* 4: 887-893.
 31. Saido TC (2002) Overview-Ab metabolism: From Alzheimer Research to Brain Aging Control. In: *Ab metabolism and Alzheimer's disease*, edited by Saido TC. Georgetown, Texas, USA: Landes Bioscience, p. 1-26.
 32. Schenk D (2002) Amyloid- β immunotherapy for Alzheimer's disease: the end of the beginning. *Nat Rev Neurosci* 3: 824-828.
 33. Selkoe DJ (2001) Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 81: 741-766.
 34. Selkoe DJ (2002) Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* 298: 789-791.
 35. Sherman MY and Goldberg AL (2001) Cellular defenses against unfolded proteins: a cell biologist thinks about neurodegenerative diseases. *Neuron* 29: 15-32.
 36. Soto C, Sigurdsson EM, Morelli L, Kumar RA, Castano EM and Frangione B (1998) Beta-sheet breaker peptides inhibit fibrillogenesis in a rat brain model of amyloidosis: implications for Alzheimer's therapy [see comments]. *Nat Med* 4: 822-826.
 37. Takashima A, Noguchi K, Sato K, Hoshino T and Imahori K (1993) Tau protein kinase I is essential for amyloid β -protein-induced neurotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 7789-7793.
 38. Tjernberg LO, Naslund J, Lindqvist F, Johansson J, Karlstrom AR, Thyberg J, Terenius L and Nordstedt C (1996) Arrest of beta-amyloid fibril formation by a pentapeptide ligand. *J Biol Chem* 271: 8545-8548.
 39. Walsh DM, Hartley DM, Kusumoto Y, Fezoui Y, Condron MM, Lomakin A, Benedek GB, Selkoe DJ and Teplow DB (1999) Amyloid beta-protein fibrillogenesis. Structure and biological activity of protofibrillar intermediates. *J Biol Chem* 274: 25945-25952.
 40. Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Cullen WK, Anwyl R, Wolfe MS, Rowan MJ and Selkoe DJ (2002) Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature* 416: 535-539.
 41. Yasojima K, Akiyama H, McGeer EG and McGeer PL (2001) Reduced neprilysin in high plaque areas of Alzheimer brain: a possible relationship to deficient degradation of beta-amyloid peptide. *Neurosci Lett* 297: 97-100.
 42. Yates FE (1987) *Self-organizing systems. The emergence of order*. New York: Plenum.



解説

β アミロイド自己組織化による神経毒性の発現

—新規毒性物質「アミロスフェロイド」とアルツハイマー病

星 美奈子
Minako M. HOSHI

タンパク質は固有の三次構造を形成して生理的機能を果たす。最近、神経変性疾患の原因が、異常構造タンパク質の集合体を形成し神経細胞を傷害する新たな機能を持つことである可能性が出てきた。しかし、個々の疾患において集合体の構造もその作用機序もまだ十分解明されていない。我々は、アルツハイマー病の発症の原因であるβアミロイドに由来する病因となる構造を探索し、新たな球状構造体「アミロスフェロイド」を見いだした。その発見の経緯を紹介したい。



カット：アミロスフェロイドの透視型電子顕微鏡観察画像（撮影：三菱化学生命科学研究所 佐藤道夫）。回転攪拌することで溶液中のβアミロイドが自発的に集合しアミロスフェロイドを形成する。（bar=20 nm）

はじめに

2050年には2.8人に1人が65歳以上になるという。したがって「痴呆の克服」、特に増え続ける「アルツハイマー病」の予防と治療が、臨床と基礎双方での重要課題である。アルツハイマー病の発症原因であるβアミロイド(Aβ)の自発的な自己集合で形成され、非常に強力な神経毒性を持つ、新たな球状構造体「アミロスフェロイド」(カット)について紹介したい¹⁾。


アミロスフェロイド発見の経緯

アミノ酸が直鎖状に連結したタンパク質は、理論的には無数のコンフォメーションを取りうるが、多くは特定の三次構造に固定されている。「三次構造はアミ

ノ酸配列が決まれば周囲の溶媒(主に水)との効果で一意的に決まる」とされてきた²⁾。したがって、遺伝情報、すなわちDNA上の塩基配列から自ずと三次構造も決まるはずである。しかし、タンパク質の三次構造は予想外に精妙で複雑な制御が必要であることがわかってきた³⁾。アルツハイマー病をはじめとする神経変性疾患においても、「異常構造タンパク質」の凝集と蓄積が、共通の病態でかつ発症にかかわるようである。しかし、それぞれの疾患で凝集がいかに起きるか、凝集体がなぜ神経細胞死を起こすか等、まだ多くは不明である。

アルツハイマー病では2通りの異常構造タンパク質が蓄積する。1つは脳のシミと呼ばれる「老人斑」を構成するAβ、もう1つは細胞内にたまる神経原線維変化を構成するリン酸化されたタウ蛋白である。近年

PROFILE



星 美奈子 三菱化学生命科学研究所
アミロイド自己組織化、神経変性疾患
生理学・生化学助教授
1995年、東京大学大学院理学系研究科
理学部物理学専攻修士課程修了。同年、日
本学術振興会特別研究員、新井隆雄教授研
究室に特別研究員。04年、東京大学理学部
科学研究所特別研究員。07年より現職。
09年9月までJST-PRESTOリーダークラス
特。同年内閣府科学奨励金受賞。(専門) 神経科学、「趣味」読書等。
E-mail: mhie@libra.lis.mitsubagaku.co.jp



の医学研究の進歩により、ようやくこの2つの特徴のうち、アルツハイマー病発症の上流は「Aβの蓄積」であり、神経原線維変化は比較的共通に認められる現象と考えられるに至った。当研究所においても、タウ蛋白リン酸化酵素Iを同定し、Aβによる神経細胞死との関係を解明してきた⁶⁻⁸⁾。しかし、生理的ペプチドとして若いときから恒常的に生産されているAβとアルツハイマー病の関係は複雑であった。なぜなら、老化に伴い脳内のAβ量が増え線維が形成されることが原因とされてきたが、Aβ量が増加せずに早期発症する例や⁹⁾、多量の老人斑を蓄えながら痴呆を全く発症しない例が数多く見られるからである¹⁰⁾ (図1)。また、40アミノ酸残基のAβ₁₋₄₀と42残基のAβ₁₋₄₂のどちらも老人斑を形成するが、Aβ₁₋₄₂こそが発症の引き金を引くとされていた。この一見矛盾する事実は、神経毒が線維以外の「特定の構造」にあるとすれば統合可能である。すなわち、年とともに脳内にAβが蓄積するが、それが「特定の構造」を取らない限

り痴呆にはならず、またAβ₁₋₄₂はAβ₁₋₄₀よりもこの「特定の構造」を圧倒的に作りやすいということになる。昨今、線維以外の各種Aβ集合体が試験管内で同定された。その代表は化学合成Aβから作られた短い線維のプロトフィブリル^{11,12)}とAβ₁₋₄₂会合体混合物(3~6量体を中心に24量体まで)であるAβ-derived diffusible ligands (ADDLs)¹³⁾である。これらを線維の中間体とする見方が最近のトレンドだが、Aβの種類も集合の程度も不均一な混合物が、本当に線維の中間体なのか、その形成機構、物理化学的性質も不明であり、形態で区別せざるを得ない。

この状況を打破すべく、我々はあえて集合しやすいAβ₁₋₄₂ではなくAβ₁₋₄₀を用い、溶かした直後は毒性を持たないAβ₁₋₄₀の水溶液が、回転攪拌により毒性を持つことを見いだした¹⁾。回転しない場合、線維は形成されるが神経毒性はなかった¹⁾。そこで、回転を加えた溶液から神経毒性を示す成分の分離を試み、ついにアミロスフェロイドと名付けた微小球状構造がその実体であることを証明した(図2)³⁾。さらに、Aβ₁₋₄₂は形成時間と濃度の両面においてアミロスフェロイド形成能力がAβ₁₋₄₀よりもはるかに高く、形成されたアミロスフェロイドの毒性も強いことを証明し、これが発症との相関の差である可能性を示した³⁾。

前述のとおり、混合物である他の集合体とアミロスフェロイドを比較するには「見る」しかない。我々は通常透過型電子顕微鏡を用いている。これは注意すれば非常に優れた検出法だが、真空中で観察するため試料を乾かす必要があり、また試料の高さを定量できない。そこで、三菱化学科学技術研究センターの協力を仰ぎ、まだあまり行われていない溶液下での原子間力顕微鏡観察を試みた。しかし、当初はまるで冬の日本海さながらの画像しか撮れず、その後ようやく、どうやら探査針がアミロスフェロイドを引きずることがわかった。そこで、神経の培養から着想を得て探査針をコートすることを思い付き、また試料を乗せるマイカをシラン処理した結果、見事にアミロスフェロイドの姿が浮かび上がってきた(図3)³⁾。そして、アミロスフェロイドは溶液中で直径=高さの真球であることが示され、アミロスフェロイドはプロトフィブリルやADDLsとは異なる形態を持つ新たな構造体であることが証明

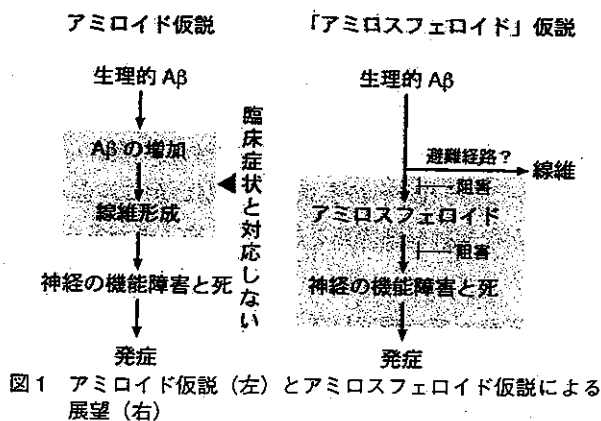


図1 アミロイド仮説(左)とアミロスフェロイド仮説による展望(右)

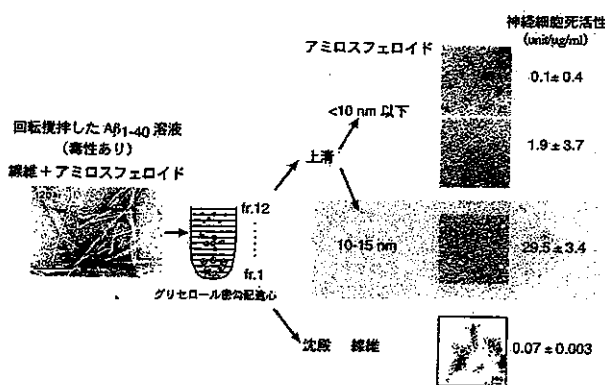


図2 アミロスフェロイドの精製

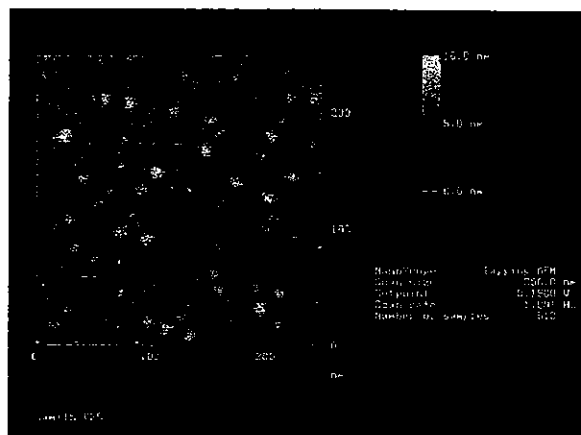


図3 アミロスフェロイドの液中原子間力顕微鏡観察画像 (測定: 三菱化学科学技術研究センター 関 禎子・松本紳一郎)

されたのである。さらに、前述のタウ蛋白リン酸化酵素Iがアミロスフェロイドの毒性にかかわることもわかった。今後、生体でのアミロスフェロイド(類縁分子)の存在が実証されれば、アルツハイマー病発症とAβ蓄積の間に残る矛盾を解き、アミロスフェロイド形成から神経細胞死、そしてアルツハイマー病発症という一連の流れを提案できることになる。

アルツハイマー病の救世主に思われた「ワクチン療法」(合成Aβまたは抗Aβ抗体の免疫によるAβ蓄積の除去)¹⁴⁾等は、生理的Aβを含む全Aβの除去を目指している。しかし、この療法はヒトでは5%に回復不能な脳炎様症状が生じ、Aβ除去に成功した例も甚大な組織破壊を伴った。Morganらの研究では線維以外のAβ集合体がワクチン療法の標的である可能性も指摘されている¹⁵⁾。我々の結果からアミロスフェロイドは、従来考えられていた線維の中間体ではないと思われ、毒性がほとんどない線維はむしろ毒性構造体に対する避難経路である可能性も考えられた。もしそうであれば、生理的Aβや線維形成を阻害しない治療戦略が開けるかもしれない(図1)。今後、「回転攪拌」がどのような物理化学的変化をAβに引き起

こしているかを解明していきたい。

おわりに

神経変性疾患の発症は加齢と密接な関係にある。原因タンパク質同士はアミノ酸配列にも本来の機能にも一見共通性はないが、類縁の凝集体を形成し神経細胞死を起こす。凝集体の形成は他のタンパク質との相互作用がなくとも自発的に起こる。本来疾患とは関係のないタンパク質も凝集することが報告されており¹⁶⁾、タンパク質は単体として生理的機能を果たす以外に、自己組織化による集合体形成により新たな機能を発揮する潜在的可能性を持ち、老化がこの潜在能力を放つ(または抑止力が解かれる)のかもしれない。まだまだ解明すべきことは多いが、アミロスフェロイドからいずれは老化という現象を物理化学的に解明できたら本望である。

ここに記載した成果の一部は科学技術振興機構PRESTO並びに内藤財団の助成により実現したものです。ここに感謝いたします。

- 1) M. Hoshi et al., *Soc. for Neurosci. Abstr.*, **26**, 1283 (2000).
- 2) M. Hoshi, *Cell Technology*, **21**, 728-732 (2002).
- 3) M. Hoshi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 6370-6375 (2003).
- 4) C. B. Anfinsen, *Science*, **181**, 223-230 (1973).
- 5) M. Y. Sherman et al., *Neuron*, **29** (1), 15-32 (2001).
- 6) K. Imahori et al., *Neurobiol. of Aging*, **19**, s93-s98 (1998).
- 7) M. Hoshi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 2719-2723 (1996).
- 8) M. Hoshi et al., *J. Biol. Chem.*, **272**, 2038-2041 (1997).
- 9) C. Nilsberth et al., *Nat. Neurosci.*, **4** (9), 887-893 (2001).
- 10) L. F. Lue et al., *Am. J. Pathol.*, **155** (3), 853-862 (1999).
- 11) D. M. Hartley et al., *J. Neurosci.*, **19** (20), 8876-8884 (1999).
- 12) D. M. Walsh et al., *J. Biol. Chem.*, **274** (36), 25945-25952 (1999).
- 13) M. P. Lambert et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95** (11), 6448-6453 (1998).
- 14) D. Schenk et al., *Nature*, **400** (6740), 173-177 (1999).
- 15) D. Morgan et al., *Nature*, **408** (6815), 982-985 (2000).
- 16) M. Bucciantini et al., *Nature*, **416** (6880), 507-511 (2002).

BIO INDUSTRY

4

第21巻 第4号 通巻241号
2004年4月発行（毎月12日発行）
昭和59年11月10日第三種郵便物認可
ISSN 0910-8545

APR., 2004

工業化をめざすバイオ専門情報誌
バイオインダストリー

特集 神経変性疾患研究の最前線

特集にあたって

アルツハイマー病：治療法開発の新たな流れ

ユビキチンシステムと鉄代謝—神経変性疾患との関連—

加齢により障害される記憶過程とその遺伝子経路の同定

神経変性疾患の遺伝子治療

神経変性疾患研究におけるsiRNAを用いた遺伝子発現制御

蛍光相関分光法（FCS）を用いた抗原抗体反応解析および検体検出

プリオン病治療の新たな可能性

アミロスフェロイドタンパク質の自己組織化と神経変性疾患

特集にあたって

星 美奈子*

本特集号を、アルツハイマー病研究への門戸を開いてくださった今堀和友先生に感謝の気持ちを込めてささげる。

「高次な生命現象を物質（タンパク質）の物理化学的な変化で説明する」という視点から研究に取り組み、この何年間かは、未だ謎が多いβアミロイドの神経細胞死機構の問題に取り組んでいる。そして先頃、研究の過程で見出した新たな球状の構造体がとても強い神経毒性を持つことから「アミロスフェロイド」と名付け論文にまとめる機会を得た。その論文が思いもかけないことに、一般の方からも反響をいただき、先日はアナリストの方々に自らの研究を語るという、後にも先にもない貴重な経験することとなった。

その際に、アルツハイマー病を初めとする神経変性疾患への一般の方、そして産業界の関心の深さを文字通り肌身で経験することとなった訳である。それは、1つは高齢化社会から急速に超高齢化社会へと移行しつつある我が国において、神経変性疾患の克服は社会として取り組む必要がある命題であり、従ってマーケットになるという面と、もう1つは誰しも寝たきりで老後を過ごしたくは

ない（人ごとではない）という面の双方から来ると思われる。その時以来、現実に治療や予防ということ考えた時、基礎研究としては具体的にはどこまで明らかにすれば「わかった」と言えるのか、そして自分の研究はどこに位置しているのか、ということをしばしば思い巡らすようになった。

そのような折り、シーエムシー出版発行の月刊『BIO INDUSTRY』誌において「神経変性疾患」の特集号を監修して欲しいとの依頼を受けた訳である。当初は、自分は神経内科の医者でもなく、また、多くの方が既に素晴らしい特集を組まれているこのテーマに、何を今更付け加えることができるのだろうか？と戸惑ったのが正直なところである。しかし、ここ最近の経験は自分の研究から少し距離を置き、広い視点で見直すことの重要さを教えてくれており、今回もその良い機会と考え、あえて筆者には過分なこの依頼を受けることにした所存である。従って、なるべく専門的になりす

*Minako Hoshi 三菱化学生命科学研究所 生命科学部 神経変性疾患ユニット ユニットリーダー/主任
研究員

ぎないよう全体の構成を考えた。また、既に確立した研究ばかりではなく、今後の発展が期待されるような研究を選ぶこととした。

神経変性疾患とは原因不明であるということと同義語である状況が、かつては続いていた。しかし、徐々にそれぞれの疾患における発症の原因が明らかになり、さらに発症の原因となるタンパク質を物質レベルでも取り扱えるように変わりつつある。その新たな展開をもたらした一つの要因はゲノムプロジェクトによってヒトゲノムの全塩基配列が決定されたことである。これにより人類は35億年という進化の過程で培われてきた「生命の設計図」の解読に成功したこととなる。

しかし、これで人体における生命の営み、その営みが異常になった疾患というものを全て説明できるようになった訳ではない(図1)。次の標的として、設計図に基づき作られ、生体内での機能を担うタンパク質の機能動態の解明が精力的に進められている。タンパク3,000などの巨大プロジェクトによる構造ゲノム科学は、生命の営みを司る主なタンパク質の立体構造を全て明らかにすることでこれに迫らんとしており、それはいわば、設計図から部品を組み立てる段階に相当する。この流れを受け、遺伝性疾患の研究においても、原因遺伝子を明らかにする相関関係の解明から、遺伝子が作るタンパク質がどのように働き(あるいは働かないことで)疾患を起こすかを、具体的に明らかにする分子機構への発展が望まれている。これは、将来的にX線結晶構造解析が新規タンパク質の特許要件になることにも明確に表れており、学術研究においても、企業研究としても、疾病研

究は物質科学としての新たな局面を迎えたと言える。

それでは、アルツハイマー病を初めとする、遺伝性が明らかではなく、頻度の高い神経変性疾患の発症機序はどのようにして解明されていくのだろうか? これに関しては、この何年間かの医学研究、特に分子遺伝学・生化学・神経病理学のクロストークから、「異常構造タンパク質の凝集」が共通の病態であり、かつ病因であることが明らかになりつつある。しかしながら、それぞれの疾患において病因となるタンパク質が、なぜ生理的役割をはなれて病因となるのか、それはどのような構造変化を伴い、その結果神経の機能がなぜ阻害されるのかはまだ十分には理解できていないのが現状である。現時点で言えることは、いずれの場合もヒトが年を取ることと密接な関係にあるということである。従って、ヒトが老化する中で遺伝子(産物)がいかに変わるかが重要な課題となる。

このように、生命の設計図、生命の部品は過去には想像もつかなかった勢いで解明されており、新たな局面が開けつつあるが、生命の営み全体を説明し、それが誤動作している疾患を克服するためには未だ大きな“?”が残されている。本特集においては、その“?”を克服するための新たな挑戦を行っている研究者に特集をお願いすることとした。それぞれ独自の系を持ち、独自の観点から神経変性疾患の謎に挑もうとしている方々である。そして、神経変性疾患の中でも最も多いアルツハイマー病については、井原康夫先生に全体を俯瞰しつつ現在の治療戦略がどこまで進んでいる

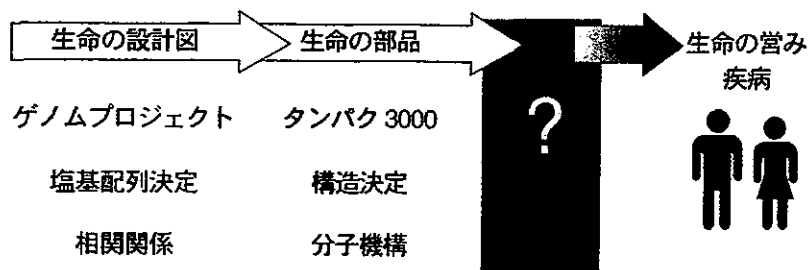


図1 遺伝子と生命の営み・疾病の間をつなぐ

のか、どのような展望が期待されるのかを執筆していただいた。この特集号が、読者の方の知的好奇心をかきたて、新たな挑戦への糸口となれば望外の喜びである。

筆者自身は、元々は細胞増殖、即ち「生きる」という情報がいかに遺伝子に伝わるかに着目しMAPキナーゼの発見に関わり、そして今は、奇しくも神経変性疾患という「死」の研究に携わっている。この方向転換は、ひとえにその当時三菱化学生命科学研究所の所長でいらした今堀和友先

生との出会いによるものである。先生は筆者より40歳以上も年を重ねていらっしゃるが、一緒に研究をさせていただいた数年間で、「年を取るとは衰えること」という筆者の誤った思いこみを粉碎された。そして、自分が研究の対象とするものにひたすらにコミットした時に、初めて新たな道が開けることを身をもって示して下さった。先生への深い感謝を込めて、本特集号を先生に捧げたい。(2004.1.23)



BIO INFORMATION

KAST 平成 15 年度終了プロジェクト報告会 幹細胞制御 (宮島)・極限表面反応 (大西) プロジェクト

財神奈川科学技術アカデミー (KAST) では、平成 15 年度に宮島「幹細胞制御」プロジェクトと大西「極限表面反応」プロジェクトの 2 つのプロジェクトが 5 年間の研究を終えるのに伴い、その研究結果を下記の要領で発表する。

日 時 2004 年 3 月 22 日 (月) 10:00, 16:45

会 場 KSP ホール

(川崎市高津区坂戸 3-2-1 かながわサイエンスパーク 3F)

定 員 250 名

参加費 無料

プログラム

(第 1 部) 肝臓の再生医療および肝癌の診断・治療への応用 (宮島プロジェクト報告会)

研究の総括 (プロジェクトリーダー・宮島 篤)

胎児肝細胞抗原 Dlk の同定と肝幹細胞の分離 (谷水直樹)

胎児幹細胞の *in vitro* における分化機構の解析 (小島伸彦)

Jumonji マウスを用いた胎生肝細胞の分化機構の解析 (安西弘子)

オンコスタチン M 受容体遺伝子欠損マウスの作成と造血機能の解析 (田中 稔)

肝障害/肝再生過程におけるオンコスタチンの役割 (中村康司)

今後の展望—バイオベンチャーへの展開を中心に (中村康司)

(第 2 部) 界面反応現場検証をめざして (大西プロジェクト報告会)

顕微鏡研究の概要 (プロジェクトリーダー・大西 洋)

トンネル顕微鏡による酸化チタン光触媒反応の単一分子観察 (上塚 洋)

原子間力顕微鏡による単一分子の化学分析 (笹原 亮)

分光研究の概要 (大西 洋)

酸化チタン光触媒ダイナミクスの赤外分光計測 (山方啓)

マルチプレックス和周波分光法の開発 (石橋孝章)

新しい界面ラマン分光法の開発 (藤芳 暁)

終わりに (大西 洋)

申込締切日 3 月 21 日

問合せ先 財神奈川科学技術アカデミー研究調整課 林・橋田

TEL044-819-2034, FAX044-819-2026

e-mail: hayashi@kast.or.jp

(URL) <http://www.kast.or.jp/>