

異常伸長したポリアミノ酸リピート蛋白質が産生されることが知られている。C9-FTLD/ALSにおいても、異常伸長GGGGCCリピートRNAからRANTにより翻訳されたポリ(グリシン-アルギニン)、ポリ(グリシン-プロリン)、ポリ(グリシン-アラニン)、ポリ(プロリン-アラニン)、およびポリ(プロリン-アルギニン)の5種類のジペプチドリピート(DPR: dipeptide repeat)蛋白質(図2)の存在が示され、これらがTDP-43陰性封入体に蓄積していることが明らかになった<sup>15,16)</sup>。続いて、DPR蛋白質のうちポリ(グリシン-アラニン)、ポリ(グリシン-アルギニン)、およびポリ(プロリン-アルギニン)は、培養細胞に発現させると細胞死を引き起こすことが示され<sup>17-19)</sup>、さらにショウジョウバエモデルにおいても、ポリ(グリシン-アルギニン)とポリ(プロリン-アルギニン)が神経変性を引き起こすことが示され<sup>20)</sup>、DPR蛋白質の一部は神経細胞毒性を持つことが明らかにされた。以上のことから、DPR蛋白質の蓄積がC9-FTLD/ALS発症の原因として考えられるようになり、病理型として新たにFTLD/ALS-DPRとして分類することが提唱されている<sup>15)</sup>。しかしながら、各DPRの細胞毒性はモデルによって一致しておらず、今後の検証が必要である。また、すべての封入体がDPR陽性ではなく、TDP-43陽性を示す封入体もみられる理由は不明であり、今後の研究が必要である。

## むすび

近年の遺伝学的・生化学的研究の発展により、FTLDにおいて封入体を構成する主要蓄積蛋白質が次々と同定された。しかし、未だにFTLD-UPSにおいて蓄積する異常蛋白質は不明であり、蓄積蛋白質が解明されたFTLD-TDPやFTLD-FUSにおいても凝集・蓄積および伝播のメカニズムは様々な仮説が提唱されているが、多くは未解明である。今後、FTLD-TDPについては、細胞モデルを用いた研究から得られた異常TDP-43の凝集・蓄積および伝播に関する知見を、動物モデルで検証することが期待される。また、他のFTLDについてもFTLD-TDPの研究が起因となり、異常蛋白質の凝集・蓄積、伝播メカニズムの解明が進むことが期待されている。

## 文 献

- 1) Mackenzie IRA, Neumann M, Bigio EH, et al. Nomenclature and nosology for neuropathologic subtypes of frontotemporal lobar degeneration: an update. *Acta Neuropathol.* 2010; 119: 1-4.
- 2) Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, 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.* 2006; 351: 602-11.
- 3) Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science.* 2006; 314: 130-3.
- 4) Ling S-C, Polymeridou M, Cleveland DW. Converging mechanisms in ALS and FTD: disrupted RNA and protein homeostasis. *Neuron.* 2013; 79: 416-38.
- 5) Hasegawa M, Arai T, Nonaka T, et al. Phosphorylated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 2008; 64: 60-70.
- 6) Igaz LM, Kwong LK, Xu Y, et al. Enrichment of C-terminal fragments in TAR DNA-binding protein-43 cytoplasmic inclusions in brain but not in spinal cord of frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Pathol.* 2008; 173: 182-94.
- 7) Nonaka T, Masuda-Suzukake M, Arai T, et al. Prion-like properties of pathological TDP-43 aggregates from diseased brains. *Cell Rep.* 2013; 4: 124-34.
- 8) Neumann M, Rademakers R, Roeber S, et al. A new subtype of frontotemporal lobar degeneration with FUS pathology. *Brain.* 2009; 132: 2922-31.
- 9) Neumann M, Roeber S, Kretzschmar HA, et al. Abundant FUS-immunoreactive pathology in neuronal intermediate filament inclusion disease. *Acta Neuropathol.* 2009; 118: 605-16.
- 10) Munoz DG, Neumann M, Kusaka H, et al. FUS pathology in basophilic inclusion body disease. *Acta Neuropathol.* 2009; 118: 617-27.
- 11) Holm IE, Isaacs AM, Mackenzie IRA. Absence of FUS-immunoreactive pathology in frontotemporal dementia linked to chromosome 3 (FTD-3) caused by mutation in the *CHMP2B* gene. *Acta Neuropathol.* 2009; 118: 719-20.
- 12) DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, et al. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of *C9ORF72* causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron.* 2011; 72: 245-56.
- 13) Renton AE, Majounie E, Waite A, et al. A hexanucleotide repeat expansion in *C9ORF72* is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron.* 2011; 72: 257-68.
- 14) Al-Sarraj S, King A, Troakes C, et al. p62 positive, TDP-43 negative, neuronal cytoplasmic and intranuclear inclusions in the cerebellum and hippocampus define the pathology of *C9orf72*-linked FTD and MND/ALS. *Acta Neuropathol.* 2011; 122: 691-702.
- 15) Mori K, Weng S-M, Arzberger T, et al. The *C9orf72* GGGGCC repeat is translated into aggregating dipeptide-repeat proteins in FTD/ALS. *Science.* 2013; 339: 1335-8.
- 16) Gendron TF, Bieniek KF, Zhang Y-J, et al. Antisense transcripts of the expanded *C9ORF72* hexanucleotide repeat form nuclear RNA foci and undergo repeat-associated non-ATG translation in c9FTD/ALS. *Acta Neuropathol.* 2013; 126: 829-44.
- 17) May S, Hornburg D, Schludi MH, et al. *C9orf72* FTD/ALS-associated Gly-Ala dipeptide repeat proteins cause neuronal toxicity and Unc119 sequestration. *Acta Neuropathol.* 2014; 128: 485-503.
- 18) Zhang Y-J, Jansen-West K, Xu Y-F, et al. Aggregation-prone c9FTD/ALS poly(GA) RAN-translated proteins cause neurotoxicity by inducing ER stress. *Acta Neuropathol.* 2014; 128: 505-24.
- 19) Kwon I, Xiang S, Kato M, et al. Poly-dipeptides encoded by the *C9ORF72* repeats bind nucleoli, impede RNA biogenesis, and kill cells. *Science.* 2014; 345: 1139-45.
- 20) Mizielinska S, Grönke S, Niccoli T, et al. *C9orf72* repeat expansions cause neurodegeneration in *Drosophila* through arginine-rich proteins. *Science.* 2014; 345: 1192-4.

# ポリグルタミン病における神経変性

永井義隆

NAGAI Yoshitaka/国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部

ポリグルタミン病は、CAG リピート配列の異常伸長という特徴的な遺伝子変異に起因する遺伝性疾患であるため、分子生物学を基盤とした病態研究が他疾患に先んじて進展してきた。遺伝子改変マウスの解析から、神経症状は神経細胞死に至る前の可逆性神経機能障害に起因することが明らかになった。その神経機能障害は、個々の神経細胞の自律的(cell-autonomous)な障害だけでなく、グリアなどを含む非細胞自律的(non-cell-autonomous)なネットワーク障害に起因すると考えられるようになった。その中でも、シナプスを介する神経伝達の障害は発症前から存在することが示唆され、発症後からでも神経症状を改善できる治療標的となる可能性がある。

## はじめに

アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、ハンチントン病、脊髄小脳失調症などに代表される神経変性疾患は、それぞれ特定の領域の神経細胞群が進行性に変性・脱落した結果、さまざまな神経・精神症状を呈する原因不明の疾患群と元来定義されていた。しかしながら、遺伝性を示す神経変性疾患においては、分子遺伝学的解析から大多数の原因遺伝子変異が同定され、アミロイド前駆蛋白質、タウ、 $\alpha$ -シヌクレイン、SOD1、TDP-43、huntingtin、ataxinなど多くの遺伝子変異により構造異常(ミスフォールディング)・凝集を起こしやすい変異蛋白質が産生されることが明らかにされた。一方、孤発性の神経変性疾患においても、これらの蛋白質が凝集して神経細胞内外に封入体として蓄積することが従来から知られていた。

以上のことから、異常蛋白質のミスフォールディング・凝集により、共通に神経変性が引き起こされるという普遍的な発症分子メカニズムが想定され、これらの疾患はコンフォメーション病もしくはミスフォールディング病と総称されている<sup>1)</sup>。本稿では、コンフォメーション病のモデル疾患としてポリグルタミン病に着目し、その神経変性メカニズムの解明を目指した研究から明らかになった最新の知見を紹介する。

## 1 ポリグルタミン病

ポリグルタミン(PolyQ)病とは、ハンチントン病、脊髄小脳失調症(SCA) 1, 2, 3, 6, 7, 17型、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症、球脊髄性筋萎縮症など9疾患の総称であり、これらの疾患は、それぞれ別の原因遺伝子内にあるグルタミンをコードするCAG リピート配列の異常伸長という

### Key words

- ポリグルタミン病
- オートファジー性細胞死
- 神経機能障害
- 非細胞自律的
- シナプス神経伝達

共通の遺伝子変異により発症する。このCAGリピート配列は健常人にも存在する配列(正常約4~35リピート)であるが、PolyQ病患者では約35~40リピートから100リピート以上に異常伸長しており、その閾値は各疾患でおおむね共通している。また、CAGリピート数と疾患の発症年齢・重症度とが強く相関することが知られている。さらに、これらの原因蛋白質はPolyQ鎖以外には相同性を認めず、多くが優性遺伝性で1つの対立遺伝子の変異のみで発症することから、PolyQ病は異常伸長PolyQ鎖自身が原因蛋白質の生理的機能とは無関係に神経毒性を獲得(gain of toxic function)することにより発症すると考えられている。その発症メカニズムとしては、異常伸長したPolyQ鎖を持つ変異蛋白質がミスフォールディング・凝集を生じて封入体として神経細胞内に蓄積し、その結果、細胞レベル・個体レベルでさまざまな機能異常を引き起こし、最終的に神経変性を引き起こすと考えられている<sup>23)</sup>。

PolyQ病は上述のように遺伝子異常により定義されており、この点で、歴史的に臨床症状から疾患概念が確立されてきたパーキンソン病や病理学的に定義されてきたアルツハイマー病とは疾患概念の階層性が異なり、より厳密な疾患概念であると言える。PolyQ病のひとつであるハンチントン病は、ヒト遺伝性疾患の中でも人類史上初めてポジショナルクローニングにより原因遺伝子座の決定に成功した疾患であり、その後の爆発的に進展した分子遺

伝学的研究の幕開けとして、このことは特筆に値する。その後の神経変性疾患の研究においても、環境要因の寄与が少なく、ほぼ遺伝的要因のみに発症が規定されているというPolyQ病の特徴は、遺伝子異常を基盤とした分子生物学的な病態研究の進展において他疾患をリードしている。さらに、PolyQ鎖長が神経毒性と強く相関することから、晩発性神経変性疾患のモデル化において、より早期に明瞭な表現型を発症する遺伝学的実験モデルの作製に適しており、これらの特徴から異常蛋白質ミスフォールディング・凝集による共通の神経変性メカニズムの解明に大きく貢献している。実際に、ハンチントン病の変異遺伝子を導入した重度の表現型を呈するトランスジェニックマウスがいち早く樹立され、これまで患者脳では見つかっていなかった封入体が発見され<sup>4)</sup>、その後、患者脳の病理学的解析でも確認された<sup>5)</sup>。このように分子遺伝学の進展により、従来の症候学→病理病態学→病因解明という疾患研究の流れが、遺伝学→分子病態学→病理病態学という新しい流れへと大きな変遷を遂げた。

### ポリグルタミン病における神経細胞死

神経変性とは、神経細胞(群)の細胞死、脱落を指す。それでは、PolyQ病における神経細胞死はどのような細胞死であろうか? 細胞死は、形態学的特徴から、能動的なプログラム細胞死であるアポトーシスと、外的要因による

受動的な細胞死であるネクロシスに由来分類されてきた。神経変性疾患における細胞死は、明らかに外的要因によるネクロシスとは異なるため、これまでアポトーシスの関与が疑われてきた。実際に培養細胞モデルを用いた研究から、数時間~数日間で生じる細胞死においては、確かにアポトーシス実行因子であるカスパーゼの活性化などが報告されてきた。しかしながら、マウスなどの*in vivo*モデルや患者脳のように、長期間かかって緩徐進行性に生じる神経細胞死においては、典型的なアポトーシス像は認められないことが明らかになった。このように、神経変性疾患における神経細胞死のメカニズムは、まだ十分には解明されていない。

一方、プログラム細胞死にはアポトーシスではなく、むしろネクロシス様の形態を呈するものが知られているが、その詳細は明らかではない。Clarkeが提唱した2型細胞死は、細胞質中に多数のオートファゴソーム様空胞、リソソームの出現を特徴としており<sup>6)</sup>、これは現在ではいわゆるオートファジー性細胞死(autophagic cell death)に相当すると考えられる。ハンチントン病などPolyQ病患者やモデルマウスにおける神経細胞死は、形態的にはアポトーシスの特徴を欠き、エンドソーム、リソソームの蓄積を認めることから、むしろオートファジー性細胞死の関与が示唆されている<sup>7,8)</sup>。アルツハイマー病患者脳でも、多数のリソソーム・オートファゴソーム様空胞を伴う顆粒空胞変性が認められ、パ

ーキンソン病においても病理学的にはアポトーシスに加えてオートファジー性変性が認められる。以上のことから、PolyQ病を含む神経変性疾患においては、カスパーゼ依存的なアポトーシスの関与は少なく、むしろオートファジー性細胞死により緩徐進行性の神経変性・細胞死が引き起こされると考えられている<sup>9)</sup>。

### ポリグルタミン病における神経機能障害

神経変性疾患における神経症状は、これまでは神経細胞群の変性・脱落の結果、その欠落症状として出現すると考えられていた。しかしながら、PolyQ病患者由来の変異遺伝子を導入したさまざまな遺伝子改変モデルマウスが樹立され、発症前からの経時的な病態解析が可能となった結果、ハンチントン病モデルマウスにおいて神経症状が発症する時点では、著明な神経細胞死は認められないことが明らかになった<sup>4)</sup>。さらに驚くべきことに、遺伝子発現誘導システムによるハンチントン病モデルコンディショナルマウスを用いて、発症後からでも異常伸長PolyQ蛋白質の発現を遮断すると神経症状が改善することが示され、PolyQ病の神経症状は神経細胞死よりもむしろ可逆性の神経機能障害に起因すると考えられるようになった<sup>10)</sup> (図1)。このことから、従来は発症時には神経細胞死が進行・完成しており難治性と考えられていた神経変性疾患に対し、この神経機能障害を標的とし

た治療により発症後からでも病態進行を阻止し、症状を改善できる可能性が示唆され、これらの難病の克服へ向けて大きな希望がもたらされた。また、これまで患者死後脳を用いた病理学的解析から「神経変性疾患は神経細胞の脱落・変性に起因する」と定義されていた疾患概念が、部分的にでも覆る可能性が示唆された。このこともまた、分子遺伝学を基盤にした新たな疾患研究の潮流がもたらした賜物であると言える。

それでは、PolyQ病における神経機能障害の実体とはどのようなものであろうか？ これまでにPolyQ病における神経機能障害として、転写調節障害、ユビキチン・プロテアソーム系やオートファジー・リソソーム系など蛋白質分解システムの障害、細胞内輸送・軸索輸送障害、ミトコンドリア障害、小胞体ストレスなど、さまざまな機能障

害が明らかにされている<sup>3)</sup>。しかし、これらはすべて細胞内レベルでの機能障害であり、これらが個体レベルでの神経症状にどのようにつながるのかは未解明である。

遺伝子改変技術の発達により、脳部位特異的に異常伸長PolyQ蛋白質を発現する、あるいは脳部位特異的に発現を遮断したハンチントン病モデルコンディショナルマウスが作製された。これらの解析の結果、神経症状は線条体や大脳皮質など個々の神経細胞内での機能障害にのみ起因するのではなく、両者のネットワーク障害の寄与が重要であることが明らかにされた<sup>11)12)</sup>。また、グリア特異的に異常伸長PolyQ蛋白質を発現するSCA7モデルマウスを用いて、神経細胞間だけでなく神経-グリア間のネットワーク障害も神経機能障害に関わることが明らかになった<sup>13)</sup>。さらに、球形髄性筋萎縮症や

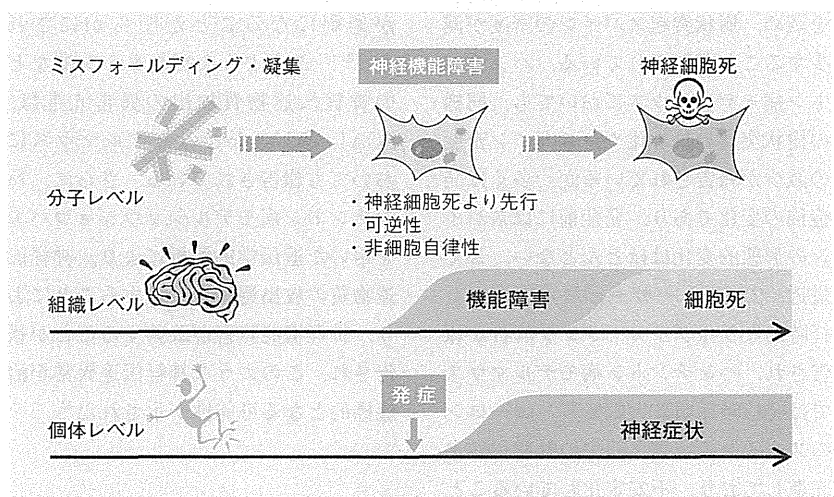


図1 ポリグルタミン病の神経症状は可逆性神経機能障害に起因する

ALS モデルコンディショナルマウスを用いて、筋肉や免疫系細胞など末梢の非神経細胞も病態に深く関わることを示された<sup>14)15)</sup>。以上のことから、神経変性疾患における神経機能障害は、単に特定の神経細胞に限局した細胞自律的 (cell-autonomous) な障害だけでなく、神経細胞間やグリア、あるいは末梢組織なども含めた非細胞自律的 (non-cell-autonomous) なネットワークの機能障害に起因すると考えられるようになった<sup>16)</sup>。

### ポリグルタミン病におけるシナプス障害

PolyQ 病における細胞間ネットワークの障害による非細胞自律的な神経機能障害の原因としては、シナプスを介する神経伝達の障害が想定されている<sup>17)18)</sup>。実際に、ハンチントン病患者の剖検脳の病理学的解析から、線条体ニューロン樹状突起の局所的腫脹などを認め、樹状突起スパインの密度が減少することが知られている。ハンチントン病モデルマウスにおいても、同様の樹状突起の狭小化や、スパイン密度の減少が報告されているが、多くは発症後の変化であり、発症前にはスパインの形態的变化はほとんどない。ごく最近、2光子レーザー顕微鏡を用いた経時的なライブイメージング解析が報告され、ハンチントン病モデルマウスでは発症時期頃に大脳皮質ニューロンのスパインの生成・消失の動態が異常亢進しており、不安定化していることが明らかにされた<sup>19)</sup>。通常、シナプス

の成熟にしたがってスパイン動態は安定化することが知られているが、筆者らも SCA1 ノックインマウスにおいて同様の結果を得ており、神経変性疾患における神経機能障害の根底には、シナプス成熟障害が存在することが示唆されている (未発表)。

一方、神経伝達の機能的異常としては、ハンチントン病モデルマウス脳でのマイクロダイアリシス解析により、発症前からグルタミン酸放出が亢進し、グリアによるグルタミン酸取り込み能が低下することが明らかにされている<sup>20)</sup>。その分子基盤として、プレシナプスでの代謝型グルタミン酸受容体 mGluR2 の減少、グリアにおけるグルタミン酸トランスポーター GLT1 の低下が報告されている。また、ポストシナプスにおいては、変異型 huntingtin によりポストシナプスの足場蛋白質である PSD95 と NMDA 受容体 NR2B の結合が促進され、シナプス外における NMDA 受容体シグナルが過剰になることが明らかにされた<sup>21)22)</sup>。このようなグルタミン酸などの神経伝達物質放出の異常亢進は、SCA1, SCA3 などのモデルマウスにおいても報告されている。さらに、ハンチントン病モデルショウジョウバエを用いた遺伝学的解析により、神経伝達物質の放出過剰を抑制することにより、神経機能障害が改善することが報告され、このような神経伝達異常が治療標的となる可能性が示された<sup>23)</sup>。

### おわりに

上述のように、神経変性疾患研究は、分子遺伝学的研究手法の発展を機に爆発的に進み、分子生物学を基盤にした新たな疾患研究の潮流がもたらされた。本稿ではその中でも PolyQ 病に着目し、異常蛋白質のミスフォールディング・凝集が引き起こす神経変性メカニズムの研究から明らかにされた最新の知見について概説した。その中で特筆すべきことは、従来の病理学的解析から神経細胞の変性・脱落による欠落症状として理解されていた神経症状は、神経細胞死に至る前の可逆性の神経機能障害に起因する可能性が示されたことである。このことは、発症後からでも病態進行を阻止し、神経症状を改善できる治療法開発へ向けて、大きな福音をもたらした。このような病態研究を通じて、難治性と考えられていた神経変性疾患を克服できる日が来ることを願ってやまない。

### ●文献

- 1) Carrell RW, Lomas DA : Lancet 350 : 134-138, 1997
- 2) Nagai Y, Popiel HA : Curr Pharm Des 14 : 3267-3279, 2008
- 3) Bauer PO, Nukina N : J Neurochem 110 : 1737-1765, 2009
- 4) Davies SW, Turmaine M, Cozens BA et al : Cell 90 : 537-548, 1997
- 5) DiFiglia M, Sapp E, Chase KO et al : Science 277 : 1990-1993, 1997
- 6) Clarke PG : Anat Embryol (Berl) 181 : 195-213, 1990
- 7) Kegel KB, Kim M, Sapp E et al : J Neurosci 20 : 7268-7278, 2000

- 8) Yamada M, Tsuji S, Takahashi H : Ann Neurol 52 : 498-503, 2002
- 9) Rubinsztein DC, DiFiglia M, Heintz N et al : Autophagy 1 : 11-22, 2005
- 10) Yamamoto A, Lucas JJ, Hen R : Cell 101 : 57-66, 2000
- 11) Gu X, Li C, Wei W et al : Neuron 46 : 433-444, 2005
- 12) Wang N, Gray M, Lu XH et al : Nat Med 20 : 536-541, 2014
- 13) Custer SK, Garden GA, Gill N et al : Nat Neurosci 9 : 1302-1311, 2006
- 14) Boillee S, Yamanaka K, Lobsiger CS et al : Science 312 : 1389-1392, 2006
- 15) Cortes CJ, Ling SC, Guo LT et al : Neuron 82 : 295-307, 2014
- 16) Sambataro F, Pennuto M : Prog Neurobiol 97 : 152-172, 2012
- 17) Milnerwood AJ, Raymond LA : Trends Neurosci 33 : 513-523, 2010
- 18) Nithianantharajah J, Hannan AJ : Neuroscience 251 : 66-74, 2013
- 19) Murmu RP, Li W, Holtmaat A, Li JY : J Neurosci 33 : 12997-13009, 2013
- 20) Nicnocaill B, Haraldsson B, Hansson O et al : Eur J Neurosci 13 : 206-210, 2001
- 21) Milnerwood AJ, Gladding CM, Pouladi MA et al : Neuron 65 : 178-190, 2010
- 22) Okamoto S, Pouladi MA, Talantova M et al : Nat Med 15 : 1407-1413, 2009
- 23) Romero E, Cha GH, Verstreken P et al : Neuron 57 : 27-40, 2008

# コンフォメーション病としての神経変性疾患

永井義隆

Yoshitaka NAGAI

国立精神・神経医療研究センター神経研究所  
疾病研究第四部室長

藤掛伸宏

Nobuhiro FUJIKAKE

国立精神・神経医療研究センター神経研究所  
疾病研究第四部研究員

## はじめに

アルツハイマー病, パーキンソン病, 筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis : ALS), 脊髄小脳変性症, 前頭側頭葉変性症などに代表される神経変性疾患は, それぞれ特有の領域の神経細胞が原因不明で進行性に変性・脱落し, 様々な神経・精神症状を呈する一群の疾患群と元来定義されていた. 従来の病理学的・生化学的解析から, アルツハイマー病では老人斑および神経原線維変化, パーキンソン病ではレビー小体など, 様々なタンパク質封入体が脳内に蓄積することが明らかにされていた.

しかし, これらの脳内のタンパク質封入体が発症の原因であるのか, 単なる結果に過ぎないのかは長い間未解明であった.

1990年代からの分子遺伝学的解析の飛躍的な進展により遺伝性神経変性疾患の原因遺伝子が次々に同定され, 引き続き変異遺伝子の分子生物学的解析から, 実に驚くべきことに, 産生される変異タンパク質の多くがミスフォールディング<sup>※1</sup>しやすく凝集性の高い性質を持つことが明らかになった. これらの遺伝性疾患のみならず孤発性疾患においても, 上述のように様々な凝集タンパク質が封入体として神経細胞内外に蓄積していることから, タンパク質のミスフォールディング・凝集により神経変性が引き

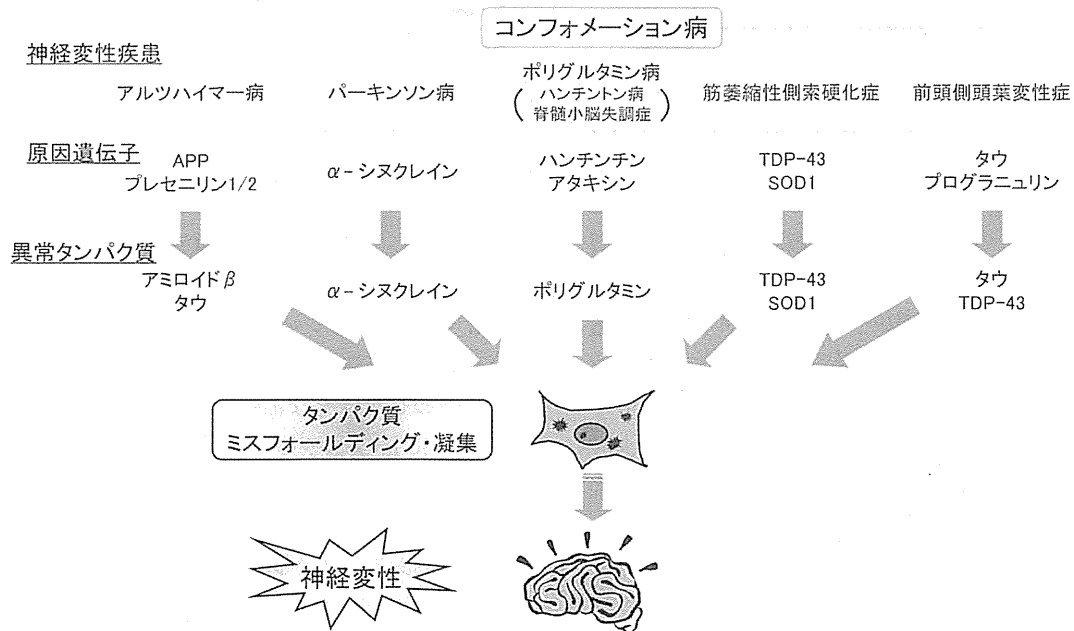


図1 神経変性疾患共通の発症分子メカニズムとしてのタンパク質のミスフォールディング・凝集

※1 ミスフォールディングについての用語解説は, 885頁参照.

起こされると考えられるようになった。このような凝集タンパク質はアミノ酸配列が全く異なるにもかかわらず、いずれも $\beta$ シート構造に富んだアミロイド線維状凝集体を形成することは注目すべきである。さらに、これらの疾患原因タンパク質を発現する様々な遺伝子改変動物モデルにおいても、やはり変性タンパク質が凝集・蓄積して神経変性を再現できることが実験的に証明されている。以上のことから、多くの神経変性疾患においていずれもタンパク質のミスフォールディング・凝集により毒性を獲得し、神経変性を引き起こすという広く共通の発症分子メカニズムが想定され、コンフォメーション病もしくはミスフォールディング病と総称されるようになった(図1)。<sup>1)</sup>

本稿では、神経変性疾患をコンフォメーション病という視点で捉え、タンパク質のミスフォールディング・凝集が神経変性を引き起こす病態メカニズム、それに対する治療戦略について、パーキンソン病や筋萎縮性側索硬化症とポリグルタミン病などの運動障害疾患を中心に我々がやっている研究も含めて概説する。<sup>2)</sup>

## 2 パーキンソン病におけるタンパク質のミスフォールディング・凝集

パーキンソン病は振戦、寡動、筋固縮、姿勢反射障害などの運動障害を主徴とする神経変性疾患であり、病理学的には中脳黒質ドパミン作動性神経細胞の脱落とレビー小体と呼ばれる細胞質内タンパク質封入体の出現を特徴とする。1997年に一部の家族性パーキンソン病の原因として $\alpha$ -シヌクレイン遺伝子のミスセンス変異が同定され、続いてパーキンソン病患者脳内に認められるレビー小体の主成分が $\alpha$ -シヌクレインであることが明らかにされた。さらに、 $\alpha$ -シヌクレイン遺伝子の重複変異も家族性パーキンソン病の原因となることが明らかにされた。一方、患者の大部分を占める孤発性パーキンソン病においてもゲノムワイド関連解析から $\alpha$ -シヌクレイン遺伝子多型が発症リスクと深くかかわることが報告された。以上のことから、パーキンソン病の発症に $\alpha$ -シヌクレインが中核的役割を果たすと考えられている。

$\alpha$ -シヌクレインの生理的機能は不明な点が多いが、シナプス前終末に局在し、シナプス小胞の放出にかかわると考えられている。 $\alpha$ -シヌクレインは特定の立体構造をとらない天然変性タンパク質であると考えられており、他の神経変性疾患の原因となるアミロイド $\beta$ などと同様にアミロイド線維状凝集体を形成し、変異によりその凝集性が促進されることが明らかにされた。<sup>3)</sup> そのほかに $\alpha$ -シヌクレインのミスフォールディング・凝集を引き起こす誘因としては、リン酸化などの翻訳後修飾や、脂質・金属との相互作用などが報告されている。重要なことに、 $\alpha$ -シヌクレインを過剰発現するトランスジェニックマウス、ショウジョウバエなど様々なモデル動物が樹立され、実際に $\alpha$ -シヌクレインの凝集・蓄積を認め、神経変性が引き起こされることが示された。<sup>4)</sup> しかし近年は、神経細胞内に蓄積した封入体よりも、アミロイド $\beta$ などと同様にプロトフィブリルやオリゴマーなどと呼ばれる微細な重合体の方が強い神経毒性を発揮すると考えられている。最近驚くべきことに、細胞移植治療を受けたパーキンソン病患者脳への移植黒質幹細胞内にも $\alpha$ -シヌクレイン封入体が凝集・蓄積していることが発見され、 $\alpha$ -シヌクレイン凝集体が細胞外に放出されて神経細胞間を伝播し、プリオンのように病態が拡大・進行する可能性が示唆されている。以上のことから、パーキンソン病の発症メカニズムにおいて、 $\alpha$ -シヌクレインの質的あるいは量的な変動に伴うミスフォールディング・凝集が重要な役割を果たしていると考えられる。

$\alpha$ -シヌクレインのミスフォールディング・凝集がパーキンソン病の発症にかかわることから、これを標的とした様々な治療法開発が試みられている。2004年に $\alpha$ -シヌクレインの凝集にかかわるNAC領域の配列を改変したペプチドが、 $\alpha$ -シヌクレインの凝集を阻害することが示された。<sup>5)</sup> また、生薬の成分であるバイカレインやクルクミン、緑茶の成分であるエピガロカテキンガレートなどが*in vitro*実験系において $\alpha$ -シヌクレインの凝集を阻害し、さらには培養細胞における $\alpha$ -シヌクレインの毒性を抑制することが示されており、今後*in vivo*モデルでの有効性の検証が期待される。<sup>6)</sup>



一方、生体にはタンパク質のミスフォールディング・凝集に対する防御機構として分子シャペロンが備わっており、実際に分子シャペロンである熱ショックタンパク質70(heat shock protein 70 : Hsp70)などの発現によるパーキンソン病モデルマウス、ショウジョウバエに対する治療効果が明らかにされた。<sup>7)</sup> さらに、分子シャペロンの発現誘導作用を持つHsp 90 阻害剤ゲルダナマイシンのパーキンソン病モデルショウジョウバエへの有効性が示された。また、 $\alpha$ -シヌクレインは主にシャペロン介在性オートファジー<sup>8)</sup>あるいはマクロオートファジーを介してリソソームで分解されると考えられており、オートファジー活性化剤ラパマイシンにより $\alpha$ -シヌクレインの分解が促進されることが培養細胞において示されている。<sup>9)</sup>

### 3 ALSにおけるタンパク質のミスフォールディング・凝集

ALSは運動ニューロンの脱落・変性により進行性の筋力低下・筋萎縮を来す神経変性疾患であり、病理学的には脊髄運動ニューロン内にユビキチン陽性封入体、グニナ小体などと呼ばれる封入体を認める。1993年に一部の家族性ALSの原因遺伝子としてスーパーオキシドジスムターゼ1(*superoxide dismutase 1* : *SOD1*)遺伝子が同定され、以後変異*SOD1*のミスフォールディング・凝集を中心に研究が進められてきた。しかしながら、*SOD1*遺伝子の変異は家族性ALSの約20%のみにしか認めず、しかも患者の大部分を占める孤発性ALSの運動ニューロン内封入体には*SOD1*の凝集・蓄積が認められないことから、未知の原因タンパク質の同定が望まれていた。2006年になって、生化学的な解析から孤発性ALSにおける封入体の主要構成タンパク質としてTAR DNA-binding protein 43(TDP-43)が同定され、<sup>9)</sup> 続いてTDP-43の遺伝子変異が家族性ALSの原因となることが明らかになった。<sup>10)</sup> さらにTDP-43の凝集・蓄積はALSだけでなく、一部の前頭側頭葉変性症などにも共通して認められることが示され、これらの疾患はTDP-43プロテイン

パチーと総称されている。

TDP-43はpre-mRNAのスプライシングやmRNAの輸送、翻訳調節など様々なRNA代謝プロセスにかかわるRNA結合タンパク質である。C末端領域にグルタミン/アスパラギンに富んだいわゆるプリオン様ドメインを持ち、家族性ALSの原因遺伝子変異の大部分はこのドメイン内に集中している。ALS患者運動ニューロンではTDP-43のC末端断片が凝集・蓄積しており、実際に*in vitro*実験系においてTDP-43C末端のプリオン様ドメインのみでアミロイド線維状凝集体が形成され、さらにC末端の家族性ALS変異によりTDP-43の凝集が促進されることが明らかにされた。<sup>11)</sup> また、TDP-43を発現するトランスジェニックマウス、ショウジョウバエなど様々なモデル動物が樹立され、TDP-43の凝集・蓄積、神経変性が引き起こされ、さらに家族性ALS変異により増悪することが明らかにされた。<sup>12)</sup> 以上のことから、ALSの発症にTDP-43のミスフォールディング・凝集が深くかかわると考えられている。

TDP-43のミスフォールディング・凝集に対して、培養細胞実験系でメチレンブルーとディメボンが抑制効果を持つことが報告されたが、TDP-43発現ALSモデルマウスに対してはメチレンブルーの有効性は確認できなかった。一方、Hsp 70やsmall Hspなどの分子シャペロンの遺伝子発現や分子シャペロン発現誘導作用を持つゲルダナマイシン誘導体の17-AAGの投与によるTDP-43発現ショウジョウバエに対する治療効果が示され、TDP-43のミスフォールディング・凝集がALSの治療標的となることが明らかになった。<sup>13)</sup> また、オートファジー活性化剤ラパマイシンによりTDP-43の分解が促進され、TDP-43発現マウスにおいて治療効果を発揮することも明らかにされている。<sup>14)</sup>

### 4 ポリグルタミン病におけるタンパク質のミスフォールディング・凝集

ポリグルタミン病(Polyglutamine : PolyQ病)は、様々な原因遺伝子内のグルタミンをコードするCAGリピートが35~40リピート以上に異常伸長するという共通の遺伝子変異により発症するハンチン

※2 オートファジーについての用語解説は、885頁参照。

トン病や様々な脊髄小脳失調症など、9つの遺伝性神経変性疾患の総称である。これらの疾患では、変異遺伝子から翻訳される異常伸長PolyQ鎖を持つ変異タンパク質がミスフォールディング・凝集を生じて、その結果封入体として神経細胞内に蓄積し、最終的に神経変性を引き起こすと考えられている。

PolyQ病は、発症がほぼ遺伝的要因のみに起因することから解析しやすいという特徴があり、我々はコンフォメーション病のモデルとして、異常伸長PolyQタンパク質の詳細な構造解析を行った。<sup>15)</sup> 円偏光二色性分散、超遠心分析、電子/原子間力顕微鏡などの解析結果から、異常鎖長PolyQタンパク質はアミロイド線維状凝集体を形成する前に、モノマーレベルで $\beta$ シート構造への異常コンフォメーション変移を生じることを明らかにした。そして培養細胞へのマイクロインジェクション実験から、 $\beta$ シート構造に変移したモノマーの段階で細胞毒性を獲得することを見いだした。さらに蛍光相関分光法などを用いて、細胞内にて異常伸長PolyQタンパク質が重合したオリゴマーとして存在することを初めて証明した。<sup>16)</sup>

神経毒性を引き起こす異常構造体としては、難溶性のアミロイド線維状凝集体や脳内に蓄積した封入体よりも、最近では $\beta$ シート構造のモノマーやオリゴマーと呼ばれる可溶性の微細な重合体の方が細胞膜傷害などにより強い神経毒性を発揮すると考えられている。<sup>15,17)</sup> しかしながら、晩発性の疾患発症や緩徐進行性を説明できる慢性的な変性メカニズムの解明には至っていない。そもそも生体内にはタンパク質のミスフォールディング・凝集に対する品質管理機構が備わっており、可溶性のモノマーやオリゴマーは分子シャペロンによるリフォールディングの標的となり、あるいはタンパク質分解システムにより除去されやすい。以上のことから我々は、ミスフォールドタンパク質は露出した $\beta$ シート構造を介して細胞膜脂質や様々な細胞内機能分子などとの相互作用により神経毒性を獲得する一方で、難溶性のアミロイド線維状凝集体へと重合して細胞内品質管理機構に対する抵抗性を獲得して、長期にわたる神経毒性を発揮して晩発性の神経変性疾患の発症に寄与するという、露出 $\beta$ シート仮説を提唱している。<sup>2)</sup>

我々は、異常伸長PolyQ鎖に特異的に結合する分子を用いてミスフォールディング・凝集を阻害できる可能性を考え、ランダムペプチドをフェージ表面に発現するライブラリーを用いてフェージディスプレイスクリーニングを行った結果、異常伸長PolyQ鎖結合ペプチドQBP1(SNWKWWPGIFD)を同定した。<sup>18)</sup> そして実際に、QBP1が異常伸長PolyQタンパク質の $\beta$ シート構造変移、オリゴマー・凝集体形成を阻害し、<sup>15,16)</sup> さらにQBP1の発現によりPolyQ病モデルショウジョウバエの神経変性が抑制されることを明らかにした。QBP1は最少活性部位8アミノ酸のペプチド(WKWWPGIF)であり、脳内へのデリバリー効率が問題となるため、細胞膜透過性ペプチドPTDを付加したPTD-QBP1を体外から投与してPolyQ病モデルショウジョウバエ、マウスに対する治療効果を示し、実験的分子治療に成功した。<sup>19)</sup> 今後、QBP1の構造活性相関解析などから、低分子化・非ペプチド化による脳移行性の高い低分子化合物アナログの分子デザインが期待される。

また、より高い生体内・脳内移行性が期待される低分子化合物に対しても、PolyQ凝集阻害活性についてのスクリーニングが盛んに行われており、大規模な低分子化合物ライブラリー(184,000化合物)からのハイスループットスクリーニングにより約300種類のPolyQ凝集阻害化合物が同定された。<sup>20)</sup> 我々も、独自のPolyQ凝集濁度アッセイ系を用いて、約46,000化合物のスクリーニングから約100種類の新規PolyQ凝集阻害化合物を同定し、これらの中から、既にPolyQ病モデル動物に対する*in vivo*での有効性を確認できた治療薬候補化合物をいくつか同定しており、近い将来の臨床応用を期待している。

一方、ペプチドや化合物など体外からの介入による治療だけでなく、生体内の品質管理機構活性化による治療戦略もPolyQ病では早くから研究されており、実際にHsp70やHsp40などの分子シャペロンの遺伝子発現によるPolyQ病モデルマウス、ショウジョウバエに対する有効性が示されている。<sup>21)</sup> 我々は、分子シャペロン群の発現制御を行っている熱ショック転写因子を活性化する薬剤に着目

し、17-AAGが分子シャペロン群の発現を誘導し、PolyQ病モデルショウジョウバエの神経変性を抑制することを明らかにした。<sup>22)</sup> さらに最近驚くべくことに、PolyQ病モデルマウスに対するウイルスベクターを用いたHsp 40の遺伝子治療により、ウイルス感染細胞のみならず非感染細胞においても治療効果を発揮することを見だし、特定細胞内における分子シャペロンによる治療効果が周囲の細胞へも波及していくという“非細胞自律的(non-cell autonomous)な効果”が存在することが示唆された。<sup>23)</sup>

他方、このようなミスフォールドタンパク質の分解については、基質タンパク質のアンフォールディングを必要とするユビキチン・プロテアソーム系経路よりも、大きな凝集体などをそのままオートファゴソーム内に取り囲んで分解できるオートファジー・リソソーム系経路の方がより適していると考えられる。実際に、PolyQ病モデルマウスにラパマイシンやその誘導体を投与した結果、異常伸長PolyQタンパク質の分解が促進され、治療効果を発揮することが明らかにされた。<sup>24)</sup> 最近、我々も理研・貫名博士との共同研究により、QBP1を応用して異常伸長PolyQタンパク質を選択的にシャペロン介在性オートファジーにて分解することにより、PolyQ病モデルマウスへの有効性を明らかにしている。<sup>25)</sup> 今後、ミスフォールドタンパク質の選択的分解促進は、コンフォメーション病の治療法開発へ向けて重要な治療戦略であると考えている。

## 5 おわりに

本稿では、パーキンソン病や運動障害疾患に関する研究を中心に、タンパク質のミスフォールディング・凝集が神経変性を引き起こす病態メカニズム、それに対する治療戦略について概説した。神経変性疾患の原因タンパク質の多くは、 $\beta$ シート構造変移を経てオリゴマーやアミロイド線維状凝集体を形成するという共通性があるため、タンパク質ミスフォールディング・凝集を標的とした治療戦略は様々な神経変性疾患に広く応用できる可能性がある。実際に、エピガロカテキンガレートなどアミロイド $\beta$ や $\alpha$ -シヌクレイン、PolyQタンパク質など

複数の疾患原因タンパク質の凝集阻害活性をも併せ持つ凝集阻害化合物が見つっている。また上述のように、分子シャペロン誘導剤も様々な神経変性疾患の動物モデルに対する有効性が示されている。

しかしながら、これらの研究成果から見いだされつつある治療薬候補の臨床応用へ向けては、乗り越えなければならない数多くの障壁がある。特に神経変性疾患は緩徐進行性であるため、従来の神経症状自体に対する対症療法(symptomatic therapy)とは異なり、病態抑止療法(disease-modifying therapy)の有効性の評価には長期間を要し、臨床試験を実施するのは容易ではない。したがって、このような病態抑止を目的とした分子標的治療薬の実用化へ向けては、臨床試験において短期間での薬効判定に適した鋭敏な病態バイオマーカーの開発が望まれている。近い将来、多彩な神経変性疾患に広く適応できる治療薬が開発され、有効な治療法に乏しい神経変性疾患を患っている多くの患者に福音がもたらされることを願っている。

## 引用文献

- 1) Carrell R. W., Lomas D. A., *Lancet*, 350, 134-138(1997).
- 2) Nagai Y., Popiel H. A., *Curr. Pharm. Des.*, 14, 3267-3279(2008).
- 3) Conway K. A. et al., *Nat. Med.*, 4, 1318-1320(1998).
- 4) Masliah E. et al., *Science*, 287, 1265-1269(2000).
- 5) El-Agnaf O. M. et al., *FASEB J.*, 18, 1315-1317(2004).
- 6) Ono K. et al., *Curr. Pharm. Des.*, 14, 3247-3266(2008).
- 7) Auluck P. K. et al., *Science*, 295, 865-868(2002).
- 8) Webb J. L. et al., *J. Biol. Chem.*, 278, 25009-25013(2003).
- 9) Neumann M. et al., *Science*, 314, 130-133(2006).
- 10) Sreedharan J. et al., *Science*, 319, 1668-1672(2008).
- 11) Johnson B. S. et al., *J. Biol. Chem.*, 284, 20329-20339(2009).
- 12) Wegorzewska I. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 106, 18809-18814(2009).
- 13) Estes P. S. et al., *Hum. Mol. Genet.*, 20, 2308-2321(2011).
- 14) Wang I. F. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 109, 15024-15029(2012).
- 15) Nagai Y. et al., *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 14, 332-340(2007).
- 16) Takahashi Y. et al., *J. Biol. Chem.*, 282, 24039-24048(2007).
- 17) Haass C., Selkoe D. J., *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 8, 101-112(2007).
- 18) Nagai Y. et al., *J. Biol. Chem.*, 275, 10437-10442(2000).
- 19) Popiel H. A. et al., *Neurotherapeutics*, 10, 440-446(2013).
- 20) Heiser V. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99 Suppl 4, 16400-16406(2002).
- 21) Warrick J. M. et al., *Nat. Genet.*, 23, 425-428(1999).
- 22) Fujikake N. et al., *J. Biol. Chem.*, 283, 26188-26197(2008).
- 23) Popiel H. A. et al., *PLoS One*, 7, e51069(2012).
- 24) Ravikumar B. et al., *Nat. Genet.*, 36, 585-595(2004).
- 25) Bauer P. O. et al., *Nat. Biotechnol.*, 28, 256-263(2010).



## 1. 認知症・うつ病とシナプス異常

## 認知症におけるシナプス病態

畑中 悠佑, 和田 圭司, 永井 義隆

## 1. はじめに

脳神経系は、極めて複雑な構造を形成することで、認知、思考、情動、記憶、そして行動に至るまでを司っている。その複雑さの最たるものが、神経細胞間のネットワークであり、このネットワークの構造の可塑性により、高次脳機能が形成される。そして、神経ネットワークを形成する神経細胞間のインターフェースであるシナプスの機能こそが、多様な脳機能の素過程を司るとされている。したがって、認知症などをはじめとする脳機能疾患の端緒となる病態もまた、個々のシナプス機能の異常に帰着されるであろう。

認知症を呈する疾患は多数ある。また、個々の疾患関連遺伝子も多岐にわたり、かつ、そもそも多くの疾患が孤発性である。そのため、個別の分子に依拠した病態機構の把握よりも、“シナプス病態”という異なる疾患に共通する中間形質の理解こそが、最終的な認知症の発症機構の包括的な説明に繋がる

と考えられる。

そこで、本総説では、認知症を呈するときの神経細胞のシナプス病態に着目し、その概説を行う。加えて、シナプスの中でも、興奮性シナプスの受容部位（ポストシナプス）である樹状突起スパインに焦点を当てる。スパインはその形態が機能と関連しており、形態解析により機能の類推が可能である点、ヒト死後脳を用いた臨床からの知見が豊富である点など、疾患研究を進める上で様々な利点があり、形態解析を通じて多くの情報を得ることができる（図1）。さらに、近年の技術革新による2光子励起レーザー顕微鏡の発展から、経時的な *in vivo* イメージングが低侵襲で可能となり、認知症モデルマウスの同一樹状突起上にあるスパインが、症状の進行とともに変性していくメカニズムが明らかにされつつある。本総説では、“シナプス病態”という共通する中間形質に基づいて、原因も病態も多岐にわたる認知症に対する認識を再構築することを目的とする。

## 2. シナプス—機能・形態・動態の連関

## 2-1. 樹状突起スパインの機能と形態

1888年のRamón y Cajalの報告以来、樹状突起スパインの形態とその機能について、科学技術の発展とともに精力的に研究が続けられ、多くのことが分かってきた（Rochefort & Konnerth, 2012）。スパイ

## Synapse pathology in dementia

Yuusuke Hatanaka, Keiji Wada, Yoshitaka Nagai

国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部  
[〒187-8502 東京都小平市小川東町4-1-1]Department of Degenerative Neurological Diseases, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry  
(4-1-1 Ogawahigashimachi, Kodaira, Tokyo 187-8502, Japan)

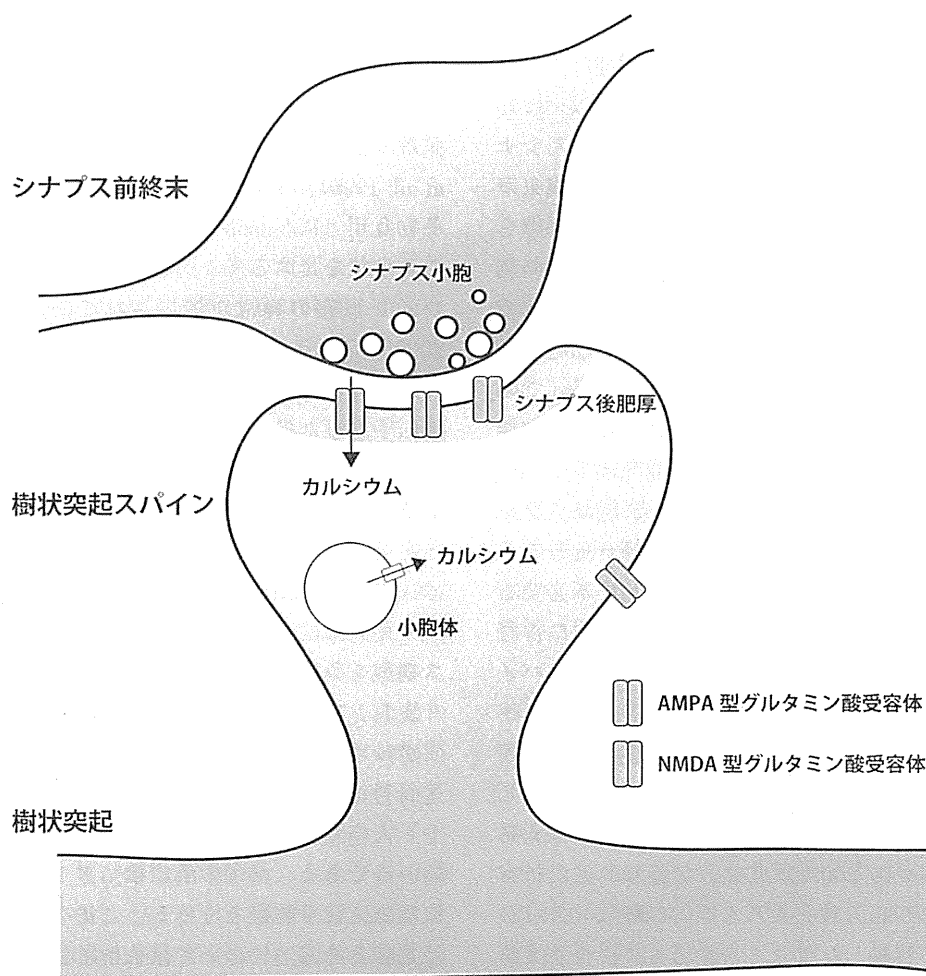


図1. 樹状突起スパイン  
興奮性シナプスの後部構造である樹状突起スパインは、シナプス前終末からの入力を受けて、形態変化を起こすことで、可塑性を制御している。

ンは樹状突起から伸びた微細な突起で、大脳皮質、海馬、扁桃体、線条体、小脳などの、様々な脳部位の神経細胞に分布し、シナプス前部からの情報を受容している。スパインの大きさは、シナプス後肥厚（電子顕微鏡観察時にシナプス後部膜直下に観察される高電子密度領域、シナプス後部に存在するシナプス関連タンパク質の足場構造）の大きさと相関する（Harris & Stevens, 1988）。また、シナプス後肥厚の大きさは、シナプス前終末にて興奮性シナプスの神経伝達物質であるグルタミン酸を貯蔵するシナプス小胞の数とも比例する（Harris & Stevens, 1989）。さらに、スパインの大きさは、グルタミン

酸の受容体である AMPA 型グルタミン酸受容体の数とも相関がある（Matsuzaki et al., 2001）。したがって、スパインが大きいほど、そのシナプスの伝達強度は高いといえる。AMPA 型グルタミン酸受容体、そして NMDA 型グルタミン酸受容体を介したカルシウム流入によって、アクチン骨格の再構築が誘導され、シナプス伝達強度の長期増強時にはスパインの膨大が、長期抑圧時にはスパインの萎縮が起こり、シナプスの可塑性が制御されている（Cingolani & Goda, 2008）。したがって、スパインの形態を解析することで、固定サンプルでも post hoc にシナプス機能を推定することができる。

## 2-2. 樹状突起スパインの機能と動態

高次脳機能の素過程とされる神経可塑性は、神経回路の変化、すなわちシナプスが刈り込みを受け、その後、別の場所に新たに形成されるという、シナプスの「動態」が担うとされる。近年の研究成果から、様々な内在性分子や環境因子がスパイン形態を制御していることが分かってきたが、スパインの動態についてはあまり多くの知見が得られないままであった。しかしながら、近年発達した2光子励起レーザー顕微鏡技術を用いることで、特に *in vivo* での深部経時観察が可能となり、スパインの動態と機能の関わりが徐々に分かってきた。神経発達期においては、スパインは不安定で、著しく生成・消滅（ターンオーバー）し、神経回路の再配線を繰り返しながら、安定なシナプスを形成する。こうして不必要なシナプスが刈り込みを受けながら、脳全体の神経ネットワークが成熟する。成熟期の脳では、スパインの動態性は低下するものの、緩やかにターンオーバーが起こっており、神経回路の恒常性と可塑性が同時に保有されている。記憶などの情報は、こうした神経回路の動的恒常性の内に保存されると考えられる (Bhatt et al., 2009)。成熟脳で経験・活動依存的に神経回路が組み替えられる際、スパインの生成・消滅の平衡が移動し、ここでもやはり、シナプスの刈り込みが発生する (Zuo et al., 2005)。このように、シナプスが刈り込まれることで、神経回路が再構築されるという事象において、神経発達と記憶・学習との間に類似性をみることができる。一方で、記憶・学習により、正味のスパイン数そのものは変化しないものの、スパインのターンオーバー速度が変化するという報告もある (Trachtenberg et al., 2002)。いずれにせよ、スパインの動的恒常性とその可塑性、すなわち、スパイン動態こそが、高次脳機能の素過程を司る本体であろうと推測される。

## 3. シナプス病態

樹状突起スパインの数や形態・動態が脳機能に密接に関与しているということは、逆にいえば、スパインの形態制御機構や動的恒常性の破綻により、神

経回路が攪乱され、脳機能障害に至るということを示している。事実、アルツハイマー病 (Selkoe, 2002)、自閉症 (Hutsler & Zhang, 2010)、脆弱 X 症候群 (Irwin et al., 2001)、ダウン症候群 (Takashima et al., 1994)、不安障害やうつ病 (Vigil et al., 2011)、薬物乱用 (Robinson et al., 2001) などの、複数の異なる症状を呈する多くの精神神経疾患において、スパイン形態の異常が報告されている (Bhatt et al., 2009; Penzes et al., 2011)。認知症状を呈する疾患においても、個々の疾患の病態は多様であり、関連遺伝子もまた多岐にわたる。したがって、本総説では、このような複数の疾患にまたがり存在する認知症状の理解のために、“シナプス病態”という共通項を手がかりに、認知症について捉え直す。以下では、高齢者認知症の二大原因疾患であるアルツハイマー型認知症と血管性認知症について、そのシナプス病態を概説する。

### 3-1. アルツハイマー型認知症

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) は、進行性の記憶障害をはじめとする認知機能の低下や、人格変化を主な症状とする、認知症の原因疾患の一つである。病理学的には、アミロイド斑や神経原線維変化を特徴とするが、このような AD 病理と認知症との関連については依然として不明な点が多い。アミロイド前駆体タンパク質やプレセニリンなど、関連タンパク質の同定も進んでいるが、やはり、その認知機能障害の発症機序について、明確には分かっていない (Selkoe, 1996)。

一方、AD のシナプス病態については、ヒト死後脳を用いた研究から、発症後 2-4 年以内に約 30% のシナプスや樹状突起スパインが減少することが報告されている (Davies et al., 1987)。形態学的な解析の他にも、シナプス関連タンパク質や神経伝達物質合成酵素の減少も報告されており (Small et al., 2001)、シナプス機能の異常が AD の初期病態の一つであるといえる。AD 患者の認知症の重症度とアミロイド  $\beta$  の蓄積が決して相関していない一方で、症状の進行に伴いシナプスが変性していくことが、多くの研究により裏付けられていることから、AD はシナプス機能不全症と考えられている (Sel-

koe, 2002).

AD 関連遺伝子を発現させたアルツハイマー病モデルマウスを用いた研究からも、樹状突起スパインの減少・萎縮をもたらす神経回路異常による脳機能障害が報告されている (Spires et al., 2005). また、健常なマウスの海馬に、ヒト由来アミロイドβオリゴマーを作用させると、スパインの顕著な減少に伴い (Shankar et al., 2008)、長期増強の抑制、すなわちシナプス機能障害が生じる (Jo et al., 2011). さらに、2光子励起顕微鏡を用いた *in vivo* 観察から、スパインの減少、樹状突起や軸索の異常膨化が、加齢に伴い進行的に起こることが示されており、これらの病的な形質は、アミロイド沈着からの距離が近いほど、強く表出される (Tsai et al., 2004). このとき、スパインの生成・消滅速度が増加するとともに、両者の均衡が破綻し、消滅速度の方が生成速度を上回り、結果として、スパイン数が減少する。このとき、神経細胞内のカルシウム動態も変化することから、単一シナプスよりもマクロなレベルの神経回路機能にもまた障害が生じていることが分かっている (Grienberger et al., 2012). したがって、アミロイドβなどのタンパク質が毒性を発揮し、シナプスの動的恒常性を攪乱させ、シナプスの減少を惹起し、その結果、神経回路機能が障害を受け、認知症発症に至ると考えられる。

### 3-2. 脳血管性認知症

脳血管性認知症 (Vascular dementia: VD) は、脳梗塞や脳出血などの脳血管障害に起因する認知症で、AD に次いで患者数が多いことが知られている。通常、樹状突起スパインは、周辺の毛細血管から平均して 10 μm 程度離れた場所に位置し、単位時間あたり約 100 個の赤血球から補給を受けており (Sigler & Murphy, 2010)、虚血に対し高い脆弱性を示す。したがって、脳血管障害時の虚血によるシナプスへの障害について、多くの研究がなされている。

ヒト死後脳研究より、Binswanger 病と Spatz-Lindenberg 病に分類される VD 患者において、海馬でのシナプス関連タンパク質の減少が報告されている (Zhan et al., 1993, 1994). また、頭部外傷による脳

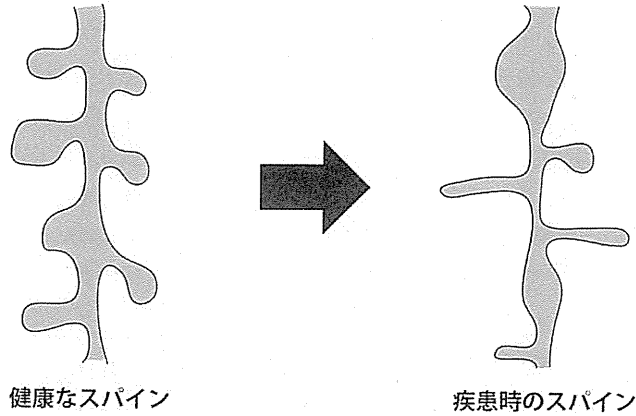
虚血と診断された患者では、樹状突起の膨化やスパインの減少が観察されている (Castejon & Arismendi, 2003). このことから、VD においてもやはり、シナプス病態こそが最終的な認知症状を引き起こす第一義的な機能障害であると推測される。

動物実験では、虚血性脳卒中モデルマウスを用いた研究が盛んに行われており、この分野でもまた、2光子励起顕微鏡による *in vivo* 観察により、飛躍的に多くの情報が得られるようになった。この手法により、単にスパインの形態・動態のみならず、脳血管の走行性と樹状突起の空間的な位置関係や、血流のモニタリングも同時に可能となった。人為的に脳虚血を誘導すると、血流減少後わずか数分でスパインの減少が始まる (Zhang et al., 2005). スパインの減少とともに、樹状突起の膨化も起こり、これらの影響は脳虚血部位に対する近接性に依存して強くなる (Enright et al., 2007). さらに、虚血周辺部位においては、スパインのターンオーバー速度が数週間にもわたって上昇するが、やがて以前の動態に戻り、スパインの数も元の状態まで回復する (Sigler & Murphy, 2010). 認知・感覚・運動機能などの脳機能は、脳虚血時に著しく障害を受けるが、部分的には自然に快復することが知られており、このような虚血時の脳機能障害の可逆性は、スパイン動態の一過的な亢進による神経回路の再配線、すなわち神経可塑性に依るものであることが示唆される (Murphy & Corbett, 2009).

## 4. まとめ

諸疾患に共通する中間形質としてのシナプス病態  
アルツハイマー病・脳血管性認知症ともに、アミロイド沈着や虚血部位に対し、樹状突起スパインは最も脆弱であり、かつその空間配置により重症度が決定される点で共通している。そのとき現れるシナプス病態もまた、スパインの減少・萎縮に伴うシナプス機能の低下、およびスパインのターンオーバー速度の増加後の神経回路の再配線など、多くの表現型を共有する (図 2). 認知症以外の多くの精神神経疾患もまた、スパイン動態の亢進という点におい

### スパイン形態の異常



### スパイン動態の異常

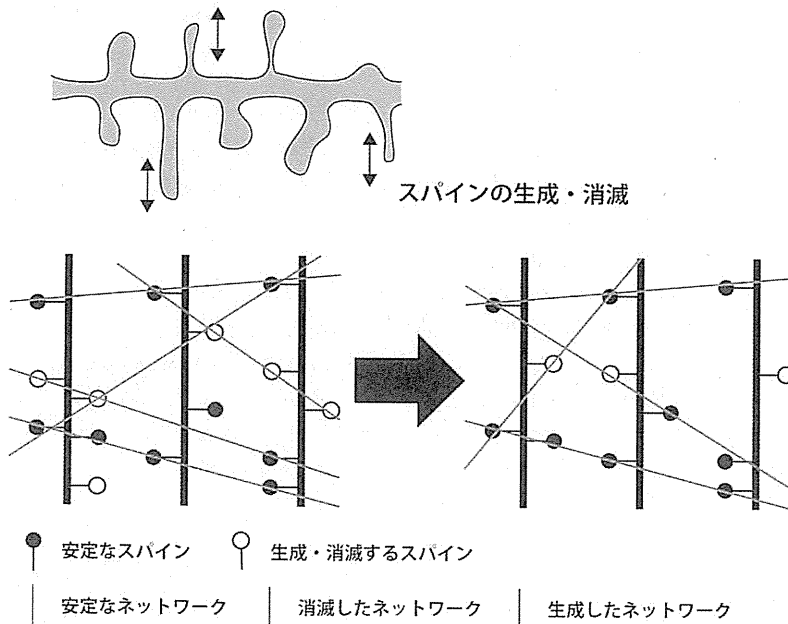


図2. シナプス病態  
 多くの疾患で、樹状突起スパインの減少・萎縮やターンオーバーの亢進が起こる。これにより、既存の神経回路が消滅し、新たな回路が形成される。

て、共通の中間形質を示す。このことは、複数の精神神経疾患の早期病態として現れるシナプス機能異常の根底に、何らかの共通する病態機序が存在することを示唆するものである。シナプスや神経の変性に先んじて起こるシナプス動態、すなわち可塑性の攪乱こそが、認知症などの脳機能障害に繋がると考

えられ、治療介入もまた、こうした病態が現れる早期に行われる必要があるといえる。最後に、シナプス動態亢進による神経回路の再配線という点において、シナプス病態とは、生理的な神経発達や記憶・学習と相似する現象であるという主張をもって、本総説を締めくりたい。



## 文 献

- Bhatt DH, Zhang S, Gan WB (2009) Dendritic spine dynamics. *Annu Rev Physiol* 71 : 261-282
- Castejon OJ, Arismendi GJ (2003) Morphological changes of dendrites in the human edematous cerebral cortex. A transmission electron microscopic study. *J Submicrosc Cytol Pathol* 35 : 395-413
- Cingolani LA, Goda Y (2008) Actin in action : the interplay between the actin cytoskeleton and synaptic efficacy. *Nat Rev Neurosci* 9 : 344-356
- Davies CA, Mann DM, Sumpter PQ, Yates PO (1987) A quantitative morphometric analysis of the neuronal and synaptic content of the frontal and temporal cortex in patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 78 : 151-164
- Enright LE, Zhang S, Murphy TH (2007) Fine mapping of the spatial relationship between acute ischemia and dendritic structure indicates selective vulnerability of layer V neuron dendritic tufts within single neurons in vivo. *J Cereb Blood Flow Metab* 27 : 1185-1200
- Grienberger C, Rochefort NL, Adelsberger H, Henning HA, Hill DN, Reichwald J, Staufenbiel M, Konnerth A (2012) Staged decline of neuronal function in vivo in an animal model of Alzheimer's disease. *Nat Commun* 3 : 774
- Harris KM, Stevens JK (1988) Dendritic spines of rat cerebellar Purkinje cells : serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics. *J Neurosci* 8 : 4455-4469
- Harris KM, Stevens JK (1989) Dendritic spines of CA 1 pyramidal cells in the rat hippocampus : serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics. *J Neurosci* 9 : 2982-2997
- Hutsler JJ, Zhang H (2010) Increased dendritic spine densities on cortical projection neurons in autism spectrum disorders. *Brain Res* 1309 : 83-94
- Irwin SA, Patel B, Idupulapati M, Harris JB, Crisostomo RA, Larsen BP, Kooy F, Willems PJ, Cras P, Kozlowski PB, Swain RA, Weiler IJ, Greenough WT (2001) Abnormal dendritic spine characteristics in the temporal and visual cortices of patients with fragile-X syndrome : a quantitative examination. *Am J Med Genet* 98 : 161-167
- Jo J, Whitcomb DJ, Olsen KM, Kerrigan TL, Lo SC, Bru-Mercier G, Dickinson B, Scullion S, Sheng M, Collingridge G, Cho K (2011) Abeta (1-42) inhibition of LTP is mediated by a signaling pathway involving caspase-3, Akt1 and GSK-3beta. *Nat Neurosci* 14 : 545-547
- Matsuzaki M, Ellis-Davies GC, Nemoto T, Miyashita Y, Iino M, Kasai H (2001) Dendritic spine geometry is critical for AMPA receptor expression in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Nat Neurosci* 4 : 1086-1092
- Murphy TH, Corbett D (2009) Plasticity during stroke recovery : from synapse to behaviour. *Nat Rev Neurosci* 10 : 861-872
- Penzes P, Cahill ME, Jones KA, VanLeeuwen JE, Woolfrey KM (2011) Dendritic spine pathology in neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci* 14 : 285-293
- Robinson TE, Gorny G, Mitton E, Kolb B (2001) Cocaine self-administration alters the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and neocortex. *Synapse* 39 : 257-266
- Rochefort NL, Konnerth A (2012) Dendritic spines : from structure to in vivo function. *EMBO Rep* 13 : 699-708
- Selkoe DJ (1996) Amyloid beta-protein and the genetics of Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 271 : 18295-18298
- Selkoe DJ (2002) Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* 298 : 789-791
- Shankar GM, Li S, Mehta TH, Garcia-Munoz A, Shepardson NE, Smith I, Brett FM, Farrell MA, Rowan MJ, Lemere CA, Regan CM, Walsh DM, Sabatini BL, Selkoe DJ (2008) Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med* 14 : 837-842
- Sigler A, Murphy TH (2010) In vivo 2-photon imaging of fine structure in the rodent brain : before, during, and after stroke. *Stroke* 41 : S117-123
- Small DH, Mok SS, Bornstein JC (2001) Alzheimer's disease and Abeta toxicity : from top to bottom. *Nat Rev Neurosci* 2 : 595-598
- Spires TL, Meyer-Luehmann M, Stern EA, McLean PJ, Skoch J, Nguyen PT, Bacskai BJ, Hyman BT (2005) Dendritic spine abnormalities in amyloid precursor protein transgenic mice demonstrated by gene transfer and intravital multiphoton microscopy. *J Neurosci* 25 : 7278-7287
- Takashima S, Iida K, Mito T, Arima M (1994) Dendritic and histochemical development and ageing in patients with Down's syndrome. *J Intellect Disabil Res* 38(Pt 3) : 265-273
- Trachtenberg JT, Chen BE, Knott GW, Feng G, Sanes JR, Welker E, Svoboda K (2002) Long-term in vivo imaging of experience-dependent synaptic plasticity in adult cortex. *Nature* 420 : 788-794

- Tsai J, Grutzendler J, Duff K, Gan WB (2004) Fibrillar amyloid deposition leads to local synaptic abnormalities and breakage of neuronal branches. *Nat Neurosci* 7: 1181-1183
- Vigil P, Orellana RF, Cortes ME, Molina CT, Switzer BE, Klaus H (2011) Endocrine modulation of the adolescent brain: a review. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 24: 330-337
- Zhan SS, Beyreuther K, Schmitt HP (1993) Vascular dementia in Spatz-Lindenberg's disease (SLD): cortical synaptophysin immunoreactivity as compared with dementia of Alzheimer type and non-demented controls. *Acta Neuropathol* 86: 259-264
- Zhan SS, Beyreuther K, Schmitt HP (1994) Synaptophysin immunoreactivity of the cortical neuropil in vascular dementia of Binswanger type compared with the dementia of Alzheimer type and nondemented controls. *Dementia* 5: 79-87
- Zhang S, Boyd J, Delaney K, Murphy TH (2005) Rapid reversible changes in dendritic spine structure in vivo gated by the degree of ischemia. *J Neurosci* 25: 5333-5338
- Zuo Y, Yang G, Kwon E, Gan WB (2005) Long-term sensory deprivation prevents dendritic spine loss in primary somatosensory cortex. *Nature* 436: 261-265

### Synapse pathology in dementia

Yuusuke Hatanaka, Keiji Wada, Yoshitaka Nagai

Department of Degenerative Neurological Diseases, National Institute of Neuroscience,

National Center of Neurology and Psychiatry

The function of synapses is essential for regulating synaptic plasticity and many brain functions. Therefore, synapse pathology is likely to be a central cause of brain dysfunctions including dementia. Postsynaptic structures called 'dendritic spines' receive excitatory inputs from presynaptic neurons. Because there is a clear correlation between synaptic function and dynamic morphology of spines, time-lapse morphometric analysis of spines is a strong tool for evaluating synaptic function. In this review, we illustrate the commonalities of synapse pathology among several diseases with dementia, that is, decreased spine number and size, and enhanced turnover ratio of spines. These abnormal characteristics of spines can be interpreted as decreased synaptic strength and destabilization of neural circuits.

---

Address correspondence to Dr. Yoshitaka Nagai, Department of Degenerative Neurological Diseases, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry (4-1-1 Ogawahigashimachi, Kodaira, Tokyo 187-8502, Japan)

## 神経変性疾患病態研究のキーワード

永井 義隆

(臨床神経 2012;52:874-876)

Key words : 蛋白質凝集, 品質管理機構, RNAリピート病, 分子標的治療, バイオマーカー

## 1. 神経変性疾患と蛋白質凝集

神経変性疾患は、元来原因不明の進行性神経細胞変性・脱落により様々な神経・精神症状を呈する疾患群と定義されていたが、1990年代からの飛躍的な分子遺伝学的解析の進歩により、大部分の遺伝性神経変性疾患の原因遺伝子がつぎつぎに同定された。その結果実に驚くべきことに、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、ハンチントン病(HD)、脊髄小脳失調症(SCA)など多くの神経変性疾患において、これらの遺伝子異常によりミスフォールディング・凝集しやすい異常蛋白質が産生されることが明らかになった。遺伝性疾患のみならず、孤発性の神経変性疾患においても神経細胞内外に凝集蛋白質が封入体として蓄積していることが従来から知られており、これらのことから異常蛋白質がミスフォールディング・凝集により毒性を獲得(gain of function)し、神経変性を惹きおこすという広く共通の発症分子メカニズムが想定され、コンフォメーション病もしくはミスフォールディング病と総称されるようになった<sup>1)</sup>。筆者らは、これらの神経変性疾患の中で原因遺伝子内のグルタミンをコードするCAGリピートの異常伸長という共通の遺伝子変異により発症するHD、SCA1, 2, 3, 6, 7, 17、歯状核赤核淡着球ルイ体萎縮症、球脊髄性筋萎縮症など9疾患の総称である、いわゆるポリグルタミン(PolyQ)病に着目して研究をおこなっている<sup>2)</sup>。

これらの神経変性疾患の原因蛋白質は、アミノ酸配列はまったくことなるにもかかわらず、注目すべきことに、いずれも共通にβシート構造に富んだアミロイド線維状構造を持つ凝集体を形成する。最近では、神経細胞内外に蓄積した封入体や難溶性のアミロイド様凝集体よりも、βシートに構造転換したモノマーやオリゴマーと呼ばれる可溶性の微細な重合体の方が強い神経毒性を発揮すると考えられている<sup>3)</sup>。しかしながら筆者らは、変性蛋白質のβシート構造転換による神経毒性の獲得だけでなく、アミロイド線維形成・凝集による分解抵抗性の獲得も長期にわたる神経毒性を発揮して晩発性の神経変性疾患の発症に寄与するという露出βシート仮説を提唱している<sup>2)</sup>。さらに最近、このような凝集蛋白質が細胞外に放出され、プリオンのように細胞間を伝播して変性病態を拡大さ

せる可能性が示唆されている<sup>4)</sup>。

一方、生体内にはこのような蛋白質ミスフォールディング・凝集に対する品質管理機構として、分子シャペロンによるフォールディング補正、あるいはユビキチン・プロテアソーム系やオートファジー・リソソーム系などの蛋白質分解システムなどが備わっており、実際にこのような品質管理機構の活性化により変性蛋白質を除去し、神経変性を抑制できることが実験的に示されている<sup>5)6)</sup>。他方、品質管理機構の機能低下によっても神経変性が惹きおこされることが明らかにされており、変性蛋白質の産生・凝集と品質管理機構とのバランス(プロテオスタシス)の破綻が神経変性疾患の発症につながると想定されている<sup>7)</sup>。また最近、疫学研究や動物モデルをもちいた実験により、糖尿病などの代謝異常がプロテオスタシスに影響を与える可能性が示唆されている。

## 2. 神経変性疾患とRNA代謝異常

神経変性疾患の分子遺伝学的解析から、上述のような蛋白質をコードする領域内の遺伝子変異による異常蛋白質のミスフォールディング・凝集を原因とする疾患群だけでなく、非翻訳領域内のリピート配列の異常伸長により発症する脆弱X関連振戦/運動失調症候群(FXTAS : CGGリピート)、SCA8(CTGリピート)、SCA10(ATTCTリピート)、SCA12(CAGリピート)、SCA31(TGGAAリピート)、SCA36(GGCCTGリピート)など一群の神経変性疾患が徐々に明らかにされてきた。これらの疾患では、異常伸長リピートを持つRNAの毒性獲得(gain of function)による神経変性メカニズムが想定され、RNAリピート病と総称されている<sup>8)</sup>。RNAリピート病のうちもっとも研究が進んでいる筋強直性ジストロフィーでは、蓄積した異常RNA自身による神経毒性獲得と、蓄積RNAに巻き込まれるRNA結合蛋白質の機能喪失によるRNAスプライシング異常などに基づく発症メカニズムが示唆されている。

一方ALSにおいて、近年、RNA結合蛋白質であるTDP-43やFUSの遺伝子変異が同定され、これらの蛋白質の凝集・蓄積による毒性獲得(gain of function)とそれにともなう核内からの消失による機能喪失(loss of function)の両者がALS発症にかかわると考えられるようになり、RNA代謝の