

タイトル

筋萎縮性側索硬化症を引き起こす変異型 SOD1 タンパク質に共通の構造変化を解明

1. 発表者：

一條秀憲（東京大学大学院薬学系研究科生命薬学専攻 教授）

藤澤貴央（東京大学大学院薬学系研究科生命薬学専攻 特任助教）

2. 発表のポイント：

○どのような成果を出したのか

筋萎縮性側索硬化症(ALS)を引き起こす 100 種類を超える様々なタイプの変異型 SOD1 タンパク質が毒性を発揮する共通の機構を明らかにしました。

○新規性（何が新しいのか）

ALS を引き起こす様々なタイプの変異型 SOD1 タンパク質が共通の構造変化を引き起こしていることを明らかにし、また、ALS を引き起こすタイプの変異型 SOD1 を見分ける抗体を作製することに成功しました。

○社会的意義／将来の展望

本研究成果により、様々なタイプの *SOD1* 遺伝子変異による ALS に適用可能な診断薬ならびに治療薬の開発が期待されます。

3. 発表概要：

筋萎縮性側索硬化症（Amyotrophic Lateral Sclerosis ; ALS）は、運動神経が特異的に障害される極めて重篤な神経変性疾患です。ALS の原因はいまだに不明ですが、約 1 割の患者は遺伝子異常で発症し、特に Cu, Zn superoxide dismutase (SOD1)（注 1）という酵素をコードする遺伝子の様々な変異（100 種類以上）が知られています。しかし、様々な変異型 SOD1 が ALS を引き起こす共通の機構については全く分かっていませんでした。今回、東京大学大学院薬学系研究科の一條秀憲教授と藤澤貴央特任助教らの研究グループは、東京大学医学部附属病院 神経内科（教授 辻省次）との共同研究で、ALS を引き起こす変異型 SOD1 が共通した立体的な構造を取ることで神経毒性を引き起こすことを世界で初めて発見しました。またこの構造にのみ反応する抗体の開発に成功しました。本研究成果は、遺伝性 ALS の新しい診断に寄与すると同時に、様々なタイプの *SOD1* 遺伝子変異による ALS に適用可能な治療薬の開発に繋がることが期待されます。本研究成果は、2012 年 8 月 21 日に、米国の科学雑誌「Annals of Neurology」のオンライン版に公開されます。なお、本研究は、文部科学省脳科学研究戦略推進プログラムの一環として、また科学研究費補助金ならびに先駆的医薬品・医療機器研究発掘支援事業などの助成を受けて行われました。

4. 発表内容：

< 研究の背景 >

筋萎縮性側索硬化症（Amyotrophic Lateral Sclerosis ; ALS）は、運動神経が特異的に障害される極めて重篤な神経変性疾患です。現在、ALS 患者数は日本国内で 8000 人を超えており、年々患者数は増え続けています。ALS の原因は未だに不明であることから根治を期待できる治療法は現在ありません。ALS の約 1 割は遺伝子異常で発症し、特に *Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1)* の遺伝子変異が最も高頻度に見られます。この遺伝子変異によって産生される変異型 SOD1 タンパク質が神経毒性を発揮して ALS を引き起こすと考えられています。これまでに、100 種類を超える様々なタイプの *SOD1* 遺伝子変異が発見されていますが、共通の病態発症機構については全く不明であり、全ての変異が実際に病気に関わっているか否かもわかっていませんでした。今回、東京大学大学院薬学系研究科の一條秀憲教授と藤澤貴央特任助教らの研究グループは、様々なタイプの変異型 SOD1 が ALS を引き起こす共通のメカニズムの解明に取り組みました。

< 研究の詳細 >

これまでに一條教授らは、代表的な 3 種類の変異型 SOD1 が、小胞体に存在する Derlin-1（注 2）というタンパク質に極めて特異的に結合し、その分子機能に影響を与え、小胞体ストレス（注 3）を誘導し、運動神経細胞死を引き起こすことを明らかにしています。この機構が、これまでに報告されている全ての変異型 SOD1 に共通した毒性発揮機構であるかどうかを調べるために、本研究では、全 132 種類の変異型 SOD1 と Derlin-1 との結合を検討しました。その結果、ほとんど全ての変異型 SOD1 が Derlin-1 と結合することが明らかとなりました。さらに、Derlin-1 と結合しない変異型 SOD1 は、毒性を発揮しないこともわかりました。これらの結果は、ALS を引き起こす変異型 SOD1 は共通して Derlin-1 との結合を介して毒性を発揮することを示唆しています。

次に一條教授らは、どのようなメカニズムで様々な変異型 SOD1 が Derlin-1 と結合するかを明らかにしようと考えました。まず、異なる 2 種類の変異型 SOD1（アミノ酸の 85 番目または 93 番目に変異を持っている変異体）の Derlin-1 結合領域を調べました。すると、どちらの変異型 SOD1 も、変異が入った位置とは全く別の部位である、5~18 アミノ酸を介して Derlin-1 と結合していることが明らかとなりました。この結果から、通常の変異型 SOD1（=野生型 SOD1）では立体構造上内部に隠されている Derlin-1 結合領域（5~18 アミノ酸）が、Derlin-1 と結合する変異型 SOD1 では外部に露出してくるのではないかと予想されました。これを検証するため、一條教授らは、Derlin-1 結合領域を露出した変異型 SOD1 を特異的に認識することができる抗体を作製し、この抗体を用いて、全ての変異型 SOD1 について Derlin-1 結合領域の露出を検討しました。その結果、Derlin-1 と結合する変異型 SOD1 は全て Derlin-1 結合領域を露出していることがわかりました。さらに、実際に *SOD1* 遺伝子変異を持つ ALS 患者由来の細胞においても変異型 SOD1 が Derlin-1 との結合領域を露出するような構造変化を起こしていることがわかりました。

以上のことから、本研究は、ALS を引き起こす変異型 SOD1 が共通して「Derlin-1 結合領域の露出」という構造変化を起こしていることを実験的に証明したことになります。

< 社会的意義・今後の期待 >

今回、一條教授らの研究グループは、ALS を引き起こすタイプの変異型 SOD1 を見分ける抗体の作製に成功し、その抗体を用いた解析により、ALS を引き起こすタイプの変異型 SOD1 が共通の構造変化を起こし、Derlin-1 と結合することで毒性を発揮していることを明らかにしました。本研究で作製した抗体は、毒性を発揮するタイプの変異型 SOD1 を見分ける

ことが可能であり、世界初の ALS 分子標的診断ツールとしての応用が期待されます。また、本研究は、変異型 SOD1 と Derlin-1 の結合阻害剤が、様々なタイプの *SOD1* 遺伝子変異による ALS の治療に適用できる可能性を実験的に示したものです。最近、*SOD1* 遺伝子変異を有さない孤発性 ALS において、野生型 SOD1 が変異型様構造に変化しているとの報告があり、SOD1 と Derlin-1 の結合が孤発性 ALS の発症にも関与している可能性があります。今後、SOD1 と Derlin-1 の結合を阻害する低分子化合物または抗体を探索し、新規 ALS 治療薬の開発につなげていきます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：Annals of Neurology

論文タイトル：

A novel monoclonal antibody reveals a conformational alteration shared by amyotrophic lateral sclerosis-linked SOD1 mutants

著者：

Takao Fujisawa, Kengo Homma, Namiko Yamaguchi, Hisae Kadowaki, Naomi Tsuburaya Isao Naguro, Atsushi Matsuzawa, Kohsuke Takeda, Yuji Takahashi, Jun Goto, Shoji Tsuji, Hideki Nishitoh and Hidenori Ichijo

DOI 番号：10.1002/ana.23668

アブストラクト URL：<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ana.23668/abstract>

6. 問い合わせ先：

一條秀憲教授

〒113-0033 文京区本郷 7-3-1

東京大学・大学院薬学系研究科・生命薬学専攻 細胞情報学教室

Tel:03-5841-4859 Fax:03-5841-4778

E-mail:ichijo@mol.f.u-tokyo.ac.jp

一條不在時

藤澤貴央

東京大学・大学院薬学系研究科・生命薬学専攻 細胞情報学教室

Tel:03-5841-4858 Fax:03-5841-4798

E-mail:fujisawa@mol.f.u-tokyo.ac.jp

※「文部科学省 脳科学研究戦略推進プログラム」に関するお問い合わせ
脳科学研究戦略推進プログラム 事務局 (担当：大塩)

TEL：03-5282-5145 FAX：03-5282-5146

E-mail:srpbs@nips.ac.jp

7. 用語解説：

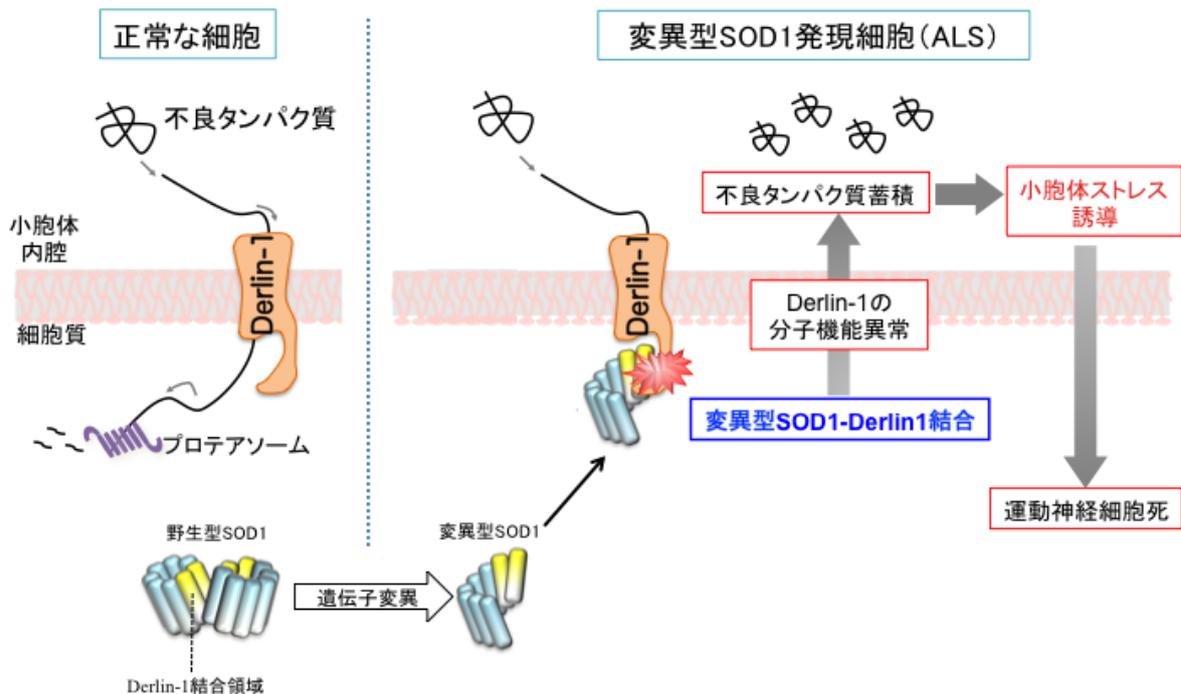
(注1) SOD1 (Cu/Zn superoxide dismutase)：細胞内で発生する有害な活性酸素であるスーパーオキシドを解毒する反応系を触媒する酵素です。1993年にALSの原因遺伝子であることが報告され、現在までに100種類以上の遺伝子変異が報告されています。

(注2) 小胞体ストレス：小胞体は、主に脂質合成、カルシウム貯蔵、分泌および膜タンパク質合成の場としてきわめて重要な役割を担う細胞内小器官です。細胞に、虚血、熱ショック、遺伝子変異、アミノ酸飢餓などのストレスがかかると、小胞体を通じて合成されるタンパク質の立体構造異常が高頻度で起こり、小胞体内腔に不良タンパク質が蓄積する「小胞体ストレス」が生じます。その結果、小胞体受容体の活性化を介して細胞内シグナルが伝達されます。

(注3) Derlin-1：小胞体ストレスを回避するためのメカニズムの一つである「小胞体関連分解」に必須の分子として同定された、小胞体膜に存在する膜タンパク質です。小胞体内腔から細胞質側への不良タンパク質の輸送に関わると考えられています。

8. 添付資料：

図1 様々なタイプの変異型SOD1によるALS発症の共通の機構



小胞体内で生じた不良タンパク質はDerlin-1を介して細胞質側に輸送され、プロテアソームにより分解されます。遺伝子変異によってDerlin-1結合領域が露出した変異型SOD1は、Derlin-1と結合し、Derlin-1の分子機能異常を引き起こし、小胞体ストレスを介した運動神経細胞死を誘導します。