

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名 「神経変性の分子機構解析に基づく新しい治療戦略の開発」
2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名 (研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)  
研究代表者 垣塚 彰 (京都大学大学院生命科学研究所高次生体統御学分野 教授)  
主たる研究参加者  
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)  
後 藤 由 季 子 (東京大学分子細胞生物学研究所 助教授)

### 3. 研究内容及び成果:

#### 垣塚グループ

ハンチントン病、マシャド・ジョセフ 病 (MJD) などの9つの遺伝性神経変性疾患は原因遺伝子内の伸長したCAGリピートが作り出すグルタミンリピート(ポリグルタミン)によって発症すると考えられるため「ポリグルタミン病」と呼ばれる。しかし、何故ポリグルタミンが神経細胞変性や細胞死を引き起こすかは十分に解明されていない。そこで、ポリグルタミンなどの異常蛋白質の蓄積・凝集が神経変性を引き起こしているものと仮定し、ポリグルタミンをモデルに用いて神経変性疾患に共通する発症メカニズムの解析を行ってきた。その結果、I. MJDの原因蛋白質からポリグルタミンを含むC末端部分を切り出す(プロセシングする)活性を持つ PC12 細胞の亜株を分離し、プロセシングが約220番目のアミノ酸近傍でおこなわれていること、さらに、MJD患者の罹患部位でも同様なプロセシングが生じていることを明らかにした。II. 培養神経細胞でポリグルタミンが引き起こす細胞死シグナルを解析し、ポリグルタミンの蓄積は、小胞体ストレスをもたらす、それがASK1-SEK1-JNKのシグナルとなって細胞死誘導に重要な役割を果たすことを明らかにした。III. ポリグルタミンが引き起こす神経細胞死に関わる遺伝子をショウジョウバエを用いた遺伝学的な手法でスクリーニングし、ter94(ドロソフィラの VCP)が、細胞死に積極的に関わる遺伝子であることを明らかにした。IV. 多くの神経変性疾患に認められる異常蛋白質の蓄積を感知している分子を想定し、伸長したポリグルタミンをもつ MJD蛋白質と相互作用する蛋白質を培養細胞から生化学的に精製し、その蛋白質が VCPであることを明らかにした。V. さらに、VCPが神経変性疾患において重要な役割を果たすことを示す多くの実験結果を得た。すなわち、1) VCP蛋白質はポリグルタミンの凝集体やLewy小体などの神経変性疾患に認められる異常蛋白質と共局在を示すこと、2) VCPは細胞内の凝集体を解きほぐす潜在能力をもつこと、3) VCPのATPase活性の低下はERストレスと ERの異常な膨潤による空胞形成及び細胞死を誘導すること、4) VCPは酸化によりそのATPase活性を失活すること、5) VCPは、酸化以外にリン酸化やアセチル化といった蛋白質修飾を受けること、6) リン酸化やアセチル化によってVCPのATPase活性が変化すること、7) 神経変性疾患の障害部位で共通するVCPの蛋白質修飾が起きている可能性があること、を見いだした。今後、VCPの機能修飾の実態を詳細に解明することで、主要な神経変性疾患の分子メカニズムの根幹が明らかになり、多数の神経変性疾患に対して有効な治療・予防法の開発に発展する基盤(足がかり)が出来るものと期待される。

#### 一 條グループ

多様な神経変性疾患において神経細胞死誘導に比較的共通のメカニズムとして注目されるストレスシグナル伝達経路におけるASK1-MAPキナーゼ系の役割の解析を中心に研究を行った。ASK1ノックアウトマウスを用いた研究から、ASK1がTNFや酸化ストレスによるJNK/p38MAPキナーゼの持続的活性化ならびにアポトーシスに極めて重要な働きをしていることが明らかになった。ASK1がオリゴマー形成に伴う自己リン酸化によって活性化されることが判明し、MAPキナーゼ経路の他のMAPKKKにおいても同様の活性化機構が作動している可能性が示唆された。ASK1ノックアウトマウスの解析から、ASK1以外の細胞内キナーゼもASK1をリン酸化しうることが示唆され、今後MAPKKKKとしてのASK1キナーゼの同定が期待される。いずれにしても、以上の研究成果は、ASK1-MAPキナーゼ系を標的とした神経変性疾患治療法の開発が極めてユニークかつ有効であ

る可能性を示すものと考えられる。

#### 後藤グループ

・細胞の生存シグナル Aktがアポトーシス促進に働くNur77, Bad, Bax, caspase-9を直接間接に抑制することを明らかにした。また、Aktが癌遺伝子Mdm2のリン酸化により、Mdm2のp53ユビキチンリガーゼ活性を上昇させることを見いだした。

・神経系前駆細胞の生存促進機構の解析 Notchによる神経系前駆細胞の生存促進メカニズムについて検討した結果、細胞間相互作用によるNotchシグナルの活性化は、これまでよく知られていたNotch下流経路(Hes経路)ではなく、新規の経路を介してBcl-2、Mcl-1の発現を誘導し、神経系前駆細胞の生存を促進していることが明らかになった。

・死シグナルの解析と生死シグナルのバランス ミトコンドリアの上流において生存シグナルと死シグナルが拮抗するメカニズムは、ほ乳類細胞の生死決定機構を理解する上で非常に重要である。Aktを介した生存シグナルとJNKを介した死シグナルが14-3-3に収束し、拮抗的に働くことが示された。

#### 4. 事後評価結果

##### 4 - 1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

論文発表は海外で58件掲載された。また、6件の国内出願、3件の海外出願を行っている。そのうち米国での重要特許1件の取得が確定した。6件の国内出願のうち3件は本テーマの副産物によるもので、このチームの発想の豊かさと研究の幅の広さを示したものである。異常蛋白質の蓄積を感知する分子を想定し、MJD蛋白質と相互作用する蛋白質を精製し同定した結果と、ポリグルタミンが引き起こす神経細胞死に関わる遺伝子をショウジョウバエを用いた遺伝学的な手法でスクリーニングした結果、奇しくも同一のVCPというタンパク質であることを見出したことによって、研究のフォーカスが絞られることになった。さらにVCPはリン酸化やアセチル化によってその機能が劇的に変化することを発見したので、VCPの研究を加速させている。このメカニズムがアルツハイマーを含む神経変性疾患共通のメカニズムであれば、その有用性が更に高まることが期待される。その兆候は得つつあるが、VCPの機能修飾の実体は未だ詳細に解明されず、今後の課題である。現在SORSTにより、更に詳細な研究が行われているので、その成果を期待したい。これら研究成果により、この研究チームは大学内でも魅力的な存在となり、多くの若く有能な学生を引きつける拠点になっているようで、若手研究者の育成面でも高く評価されている。一條グループ、後藤グループともレベルの高い研究を精力的に展開したことは高く評価される。今後とも総合的な力が発揮できるよう、協力関係を維持していくことが望まれる。

##### 4 - 2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

異常蛋白質の蓄積を感知し、かつポリグルタミンが引き起こす神経細胞死に関わる遺伝子としてVCPを同定し、そのVCPはリン酸化等の修飾による機能が変化することを見出した。これが、種々の神経変性疾患共通のメカニズムに基づくものであれば、これら根治的治療法のない疾患の治療に結びつく可能性もある画期的な研究になりうると期待される。

##### 4 - 3. その他の特記事項(受賞歴など)

研究代表者の垣塚 彰 教授が平成14年11月ベルツ賞を受賞した。