

CAGリピート病の治療への道

不随意運動や歩行時のふらつきが生じたり、筋が萎縮したりするなどの症状を呈する遺伝性神経変性疾患には、長い間、治療法や予防法はもちろんのこと、きちんとした診断法もなく患者は一人暗闇に取り残されていた。

遺伝子解析の進歩とともに徐々に診断がつくようになり、1991年にはDNAの3つの塩基配列の繰り返し異常に多いこと(異常伸長)によって発症するトリプレットリピート病の存在が明らかになった。トリプレットの中でもシトシン(C)、アデニン(A)、グアニン(G)の並びが繰り返し続くCAGリピート病は、不随意運動を生じるハンチントン舞蹈病など最も多く報告されており、現在までに8種の疾患が知られている。

東京大学の神経内科の医師として長らく臨床にも携わってきた脳科学総合研究センターの貫名信行・病因遺伝子研究グループ・グループディレクター兼CAGリピート病研究チーム・チームリーダーは、「私にとってのCAGリピート病の研究目的は、今はまったくない予防法、さらには治療の道を何とかして見つけ出すことに尽きます。発病のメカニズムを探ることも、これを原点に行っています」と語る。

予防・治療への道程はどのように切り開かれつつあるのだろうか。

● CAGの異常伸長がもたらすもの

● CAGリピート病の場合、その反復回数は40回以上にもほる場合が多い。CAGの繰り返しは翻訳領域にあるためアミノ酸の産出に結びつき、グルタミンが連鎖したポリグルタミンが生じる。このポリグルタミンの異常伸長が、病因に深く関わ

っていると考えられている。ポリグルタミンは神経細胞の中、主に核内にたまっている。

「ポリグルタミンがなぜたまることと病因とがどのように関係しているのかを一步一步詰めています」

● 分子・細胞・個体の3つの実験系

● その解析には、分子、細胞、マウスの3つのレベルでの実験系を用いている(図①)。分子のレベルでは、ポリグルタミンの存在によってタンパク質分子の性質がどのように変わるのかを調べている。細胞内にはポリグルタミンを含むタンパク質はいろいろ存在し、さまざまな機能を果たしている。しかし、その中でポリグルタミン自体がどんな役割・働きを演じているのかは、ほとんどわかっていない。正常なものはポリグルタミンがあっても凝集することなく、溶けた状態で細胞内に存在する。一方、異常に伸長したポリグルタミンを含むタンパクは溶けにくくなる。

「それゆえ、長いポリグルタミンの入ったきれいなものを採るのが大変なんです」

そこで貫名チームリーダーたちは、安定したミオグロビンタンパク質にいろいろな長さのポリグルタミンを入れた分子を作り、性質の変化を調べている。ポリグルタミンの連鎖を増やしていき、その数が病気領域に近づくほど分子モデルでも凝集しやすくなることが明らかになっている。

「私たちの考えでは、ポリグルタミン鎖が伸びると分子全体が不安定になって壊れやすく、正常な形を保てない状態になってしまう。そうした状態で互いにぶつかりあうと、ポリグルタミンのところで結合



貫名チームリーダー

しあって塊を作っていくだろうと……」

しかし、なぜ塊を作ると悪いのかは、細胞レベル、さらに個体レベルで調べないとわからない。

細胞モデルとしては、ポリグルタミンと蛍光を発するGFP (Green Fluorescent Protein) を結合したタンパク質をどんどん生産するような系を用いている(図②)。この系ではポリグルタミンが核内にたまっていくと、細胞死(アポトーシス)を生じる。

「伸長したポリグルタミンが神経細胞死を引き起こしていることは、ほぼ認められています」

この細胞モデルでは異常遺伝子にはGFPという蛍光タンパク質がつけられており、凝集体を採りやすくしている。採取した凝集体を解析すると、ポリグルタミンだけでなく、いろいろなタンパク質が入っていることがわかってきた。この中には、ポリグルタミンの凝集を阻害しようと結合したタンパク質もあることが明らかになっている。これについては、後で詳しく触れよう。

個体レベルのマウスの実験系ではCAGの異常に伸長した遺伝子を入れたトランスジェニックマウスを使っている(図③)。

「CAGのリピートが40程度でも、ある年齢になると発症しますが、実験を迅速化するために150くらいのリピートのものを入れて発症を早めています」

マウスの系でも異常遺伝子にはGFP蛍光タンパク質がつけられている。

「細胞レベルでは凝集体ができると細胞は死んでしまうのに、マウスではほとんどの神経細胞で凝集が起こる状況でも細胞そのものは死にません。マウスの頭の中には細胞を生かそうという仕組みがあるた

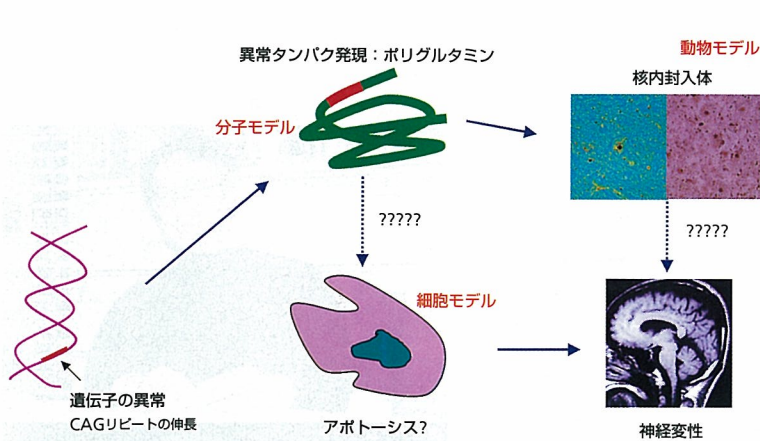


図1

めに細胞が病的な存在ではあるが、生き長らえているのだと思います」

このような仕組みが何なのかを探ることは、貫名チームリーダーのそもそもの研究目的である予防・治療法の可能性につながるが、「いきなり個体レベルから探っても系が複雑すぎて不可能です。私たちは、分子レベルでポリグルタミンの凝集を抑えるものを見つけることに努め、それを次に細胞レベルで確かめ、そして個体のマウスレベルで実験するという方法をとっています」

● ポリグルタミンの凝集を抑えるもの

分子レベルでの凝集を阻害する薬剤の研究を行う一方、細胞内（生体内）にある抗凝集の働きをもつタンパク質の研究にも力を注いでいる。

これはシャペロンと呼ばれるタンパク質で、他のタンパク質が立体構造をとる（フォールディング）ときにそれを助ける働きをもち、熱ショックタンパク質の多くが含まれる。熱ショックタンパク質は熱ショックによって合成が促されるタンパク質で、熱変性したタンパク質を正常の構造に戻し、その凝集を防ぐ働きがある（図4）。

「熱ショックタンパク質のうち、HSP40（分子量40000）、HSP70（分子量70000）が細胞モデルでポリグルタミンの凝集を抑えています」

先の細胞モデルの凝集体を解析すると、HSP40や70は凝集する前の異常ポリグルタミン鎖にくっついており、細胞死を防ごうとしていると考えられる。また、マウスの脳内神経細胞の核にたまったポリグルタミンの凝集体の中にも、熱ショックタン

パク質が存在する。

「ですから生体には、ポリグルタミンの凝集の防御機構のひとつとして、熱ショックタンパク質を始めとするシャペロンが出勤して、凝集を抑制するというプロセスが存在するようです。ただし普通の量ではとても多量のポリグルタミンを処理できないのではないかと……」

この機構を明らかにするためには、熱ショックタンパク質などシャペロンの遺伝子をアデノウイルスなどに組み込んで、マウスの脳に打ち込むという実験が必要となってくる。

「熱ショックタンパク質の生産量が増えれば、細胞に凝集体ができなくなるかど

（図1）CAGリピート病の病態
 病因遺伝子に存在する伸長したCAGリピートがポリグルタミン鎖として翻訳され、これが神経細胞の核に凝集体（核内封入体）を作る。この状態で神経細胞の変性が起こり、疾患が発症する。この過程のそれぞれのモデル系を研究対象としている。

（図2）細胞モデル
 マウスニューロプラスターマにGFPとポリグルタミンを含む融合タンパクを発現させると、細胞死が引き起こされる。

うかを調べるわけです。今、実験準備を進めていますが、なかなか難しい実験だと思います。アデノウイルスを感染させたところは部分的によくなることはあっても、脳の機能全体がよくなることはないと思います。症状としてはどうなるかは実験を行って見ないと検討が付きませんね。まったく改善が見られないということも考えられます」

というのは、ポリグルタミンのたまることが病気の引き金なのか、たまる前のものに毒性があるゆえ防御機構としてためているのか、どちらとも考えられるからだ。分子、細胞、個体の3つのレベルで、順々にひとつひとつの可能性を吟味して

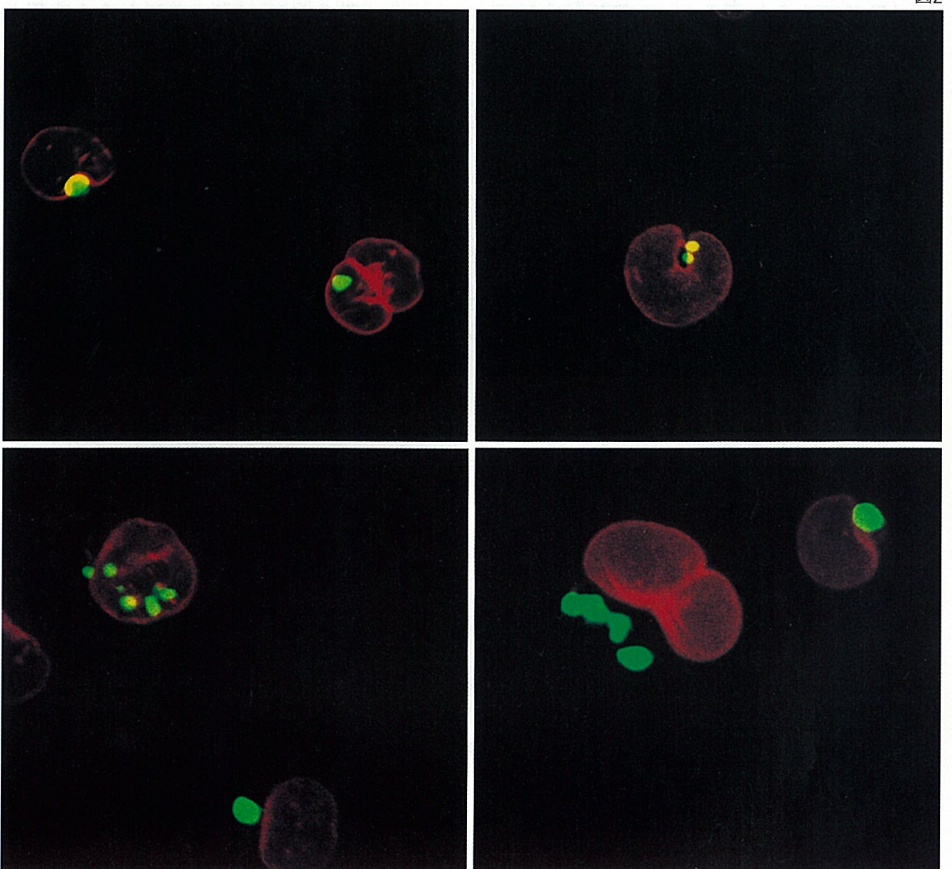


図2

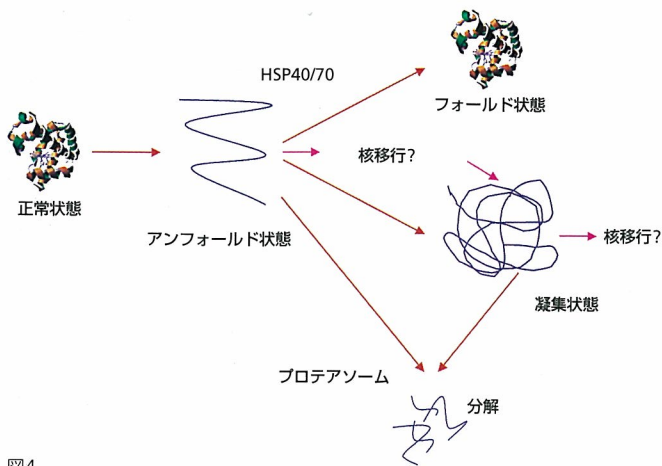


図4

いって初めて病気のメカニズムは明らかになるのだろう。

「病因をつめていくのも非常に大事なことです。一方で予防・治療のことを考えると、とにかく何かを与えて発症や症状を抑えることができればよいということになります」

過去においても結核やポリオなど、細菌やウイルスと発症との関わりがはっきりしなくとも、症状を抑える抗生物質や発症を防ぐワクチンの開発によって治療・予防の道が開かれたケースは多々ある。

「ニワトリが先か卵が先かといった面は医学には必ずあります。今のところ私たちは、ポリグルタミンの凝集阻害に着目して、それを制御するいろいろなタンパク質を探し、分子、細胞、個体レベルで現象、症状の変化を試していきたいと思っています」

CAGリピート病研究の広がり

ヒトゲノム計画も一段落し、今後は解析されたDNA情報をもとに、まずはひとつの遺伝子の異常により引き起こされる病気、「単一遺伝子病」の仕組みが明らかにされていくだろうといわれている。

「その尖兵となっているのがCAGリピート病です。ここで開発された手法は他の単一遺伝子病解明の基になるでしょう」

また、神経疾患にはCAGリピート病と同様に特定のタンパク質がたまるものが多く、アルツハイマー病やパーキンソン病などもそうである。

「このような病気は単一遺伝子ではなく、いくつかの遺伝子異常の相互作用および環境因子との相互作用によるものと考えられ、解明はより難しいとされてい

ます。しかし、タンパク質の構造が不安定になってたまるというところは同じだという認識を私はもっています。CAGリピート病の研究は、これらの疾患に対しても手がかりを提供できるのではないでしょう」

現在、貫名チームリーダーたちは、ポリグルタミンを含むタンパク質の構造をより正確に求めるために、他の研究チームと共同で、播磨科学公園都市にある大型放射光施設SPring-8の放射光を使ったタンパク質の結晶解析を考えているという。

「理研に来て3年しかたっていませんが、

ここでは異なった分野の研究者の連携が盛んですね。私たちもこの精神を生かしたいと思います」

構造が正確にわかれば、それと積極的に結合する物質を探し出して結合させ、ポリグルタミン同士の結合作用を減らすことも考えられるからだ。

「解析の面ではDNAチップなども使えるようになっていきますし、このようなテクノロジーの進歩が神経変性疾患の研究を大きく飛躍させる時期にきていると感じています。今後はもっと面白くなるでしょう」

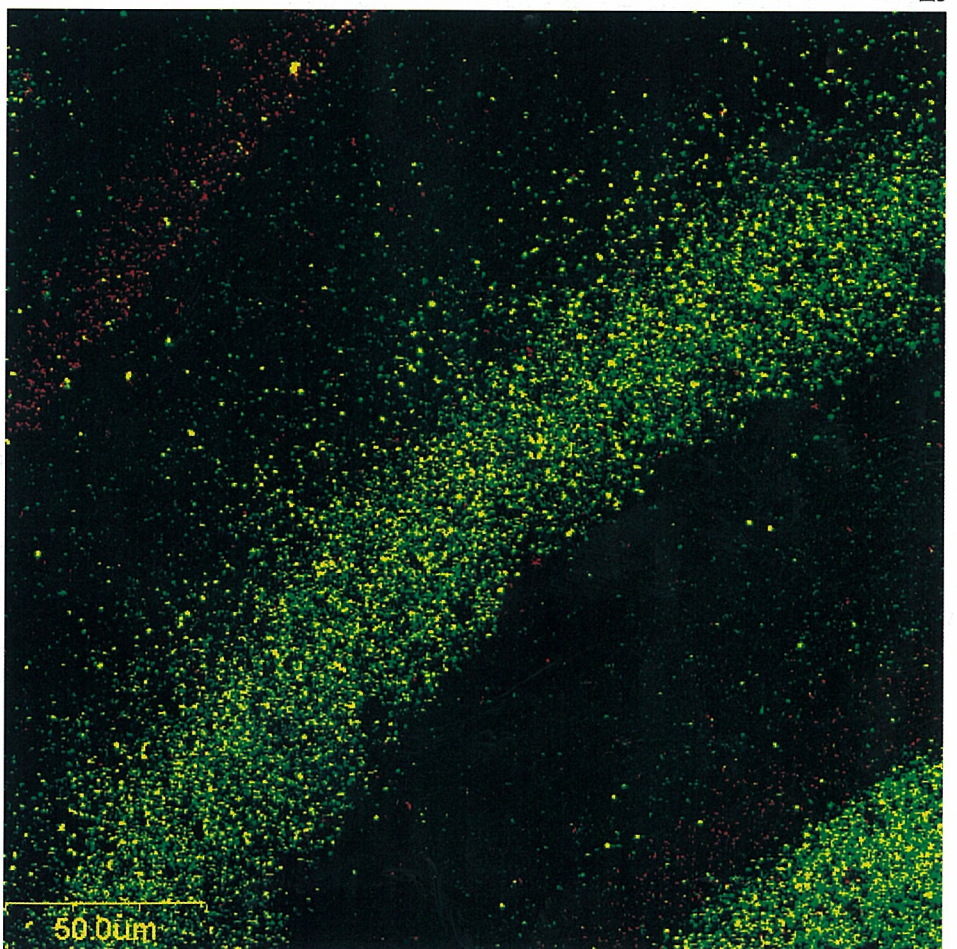


図3

(図3) マウスモデル GFPとポリグルタミンを含む融合タンパクを発現するトランスジェニックマウス。蛍光(緑)を発する凝集体が形成される。これらの凝集体はユビキチン化されている。

(図4) 凝集体形成とその抑制系 異常ポリグルタミンを持つタンパクはアンフォールドの状態になりやすく、このような状態から凝集しやすい。これを抑制するのがシャペロン系で、HSP40やHSP70である。また、この異常タンパクを分解する系としてプロテアソーム系がある。

文責：広報室

監修：脳科学総合研究センター
病因遺伝子研究グループ グループディレクター
CAGリピート病研究チーム チームリーダー

貫名信行

取材・構成：由利伸子