

田中元雅

独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター 田中研究ユニット

## 研究テーマ

### 孤発性アミロイドーシスの分子機構解明

#### 1. 緒言

原因蛋白質のアミロイド（凝集体）化によって引き起こされる神経変性疾患はアミロイドーシスと総称される。アミロイドが関与する神経変性疾患は遺伝性、感染性（プリオン病など）もあるが、大部分は孤発性であり、その多くは中高年になって発症する。これまで、遺伝性や感染性のアミロイドーシスは比較的好く研究されてきたが、孤発性のケースはあまり研究が進んでいない。孤発性アミロイドーシスの発症では、長い潜伏期間の後、何らかの要因で原因蛋白質の凝集体の「種（たね）」が生じ、それが発端となり凝集体が次々に生成すると考えられるが、その最初の「種」がどのように生じるか、それがどのように発症へ導くか不明な部分が多い。本研究では、孤発性プリオン病発症機構に関し、本研究ではわれわれがすでに系を確立している酵母プリオン[*PSI*<sup>+</sup>]の系で研究を行った

[*PSI*<sup>+</sup>]の系では最初にどのような酵母プリオンSup35蛋白質凝集体の核形成がモノマーの状態から起こるのかを分光学的手法で明らかにする。また、最初にどのような核形成が起これば、最終的にどのような細胞表現型が出現するかを、申請者が開発した、アミロイドを酵母の中へ直接導入する手法によって明らかにする。これら研究から、最初に生じる「種」の生成機構やその物理的性質と最終的に出てくる細胞表現型との相関関係を明らかにすることを目的とする。

#### 2. 方法

まず、Sup35のプリオン化に関与するドメインを含むSup-NMのモノマー構造の多型について、円偏光二色性分光計で調べた。特に、異なる温度（4度、37度）でのモノマー構造の差異を調べた。また、異なる温度でのSup-NMの会合状態の変化を大型放射光Spring-8を用いたX線小角散乱や分析用超遠心で調べた。また、会合状態の変化がプリオン株の表現型にもたらす影響を調べるため、異なる温度で作成したアミロイドを酵母の中へ導入し、それによって生じるプリオン株の表現型を検討した。さらに、Sup-NMの会合状態に影響を与えるアミノ酸を同定するため、様々なSup-NM変異体を作成し、その変異体のX線小角散乱を測定した。以上から、異なるモノマーが最終的にプリオン株を導く分子機構の解明を目指した。

#### 3. 結果

4度と37度におけるSup-NMモノマー構造の差異は比較的小さいことが分光学的手法で明らかになった。ところが、変性Sup-NMに特異的な抗体を用いると、37度のSup-NMモノマーは、4度にくらべてより変性していることが明らかになった<sup>1)</sup>。一方、4度のモノマーは、半分以上がオリゴマーを形成していることがX線小角散乱や分析用超遠心から明らかになった。また、そのオリゴマーは特異的に強いプリオン株を導くことが明らかになった。また、オリゴマーはアミロイド性を有するものの、オリゴマー形成に関わるアミノ酸は、アミロイド形成に関わるアミノ酸領域とは大きく異なることが判明した。

#### 4. 考察

4度のSup-NMモノマーはオリゴマーを形成し、それが核となってアミロイド伸長が起こり、強いプリオン株を引き出すことが判明した。これは4度のSup-NMモノマーが比較的フォールディングしているため、アミロイド

伸長に関わることのできるアミノ酸が比較的少ないことに起因していると考えられる。そのため、アミロイドが脆弱で、多くの種が生じるため、強いプリオン株を引き出していると考えられた<sup>2)</sup>。また、オリゴマーとアミロイドの構造が異なっており、核形成とアミロイド伸長では、それぞれに関与するアミノ酸が異なることが明らかになった。一方、37度では、オリゴマーは観測されず、モノマーが構造変化し、それが核となることで、アミロイドの伸長が起こっていくと考えられた。よりアンフォールドした37度モノマーでは、そのアミロイド化がエントロピー的により起こりやすいために、オリゴマーを形成せずに、容易にアミロイドできるものと考えられる。

以上から、Sup-NMモノマーの構造差異が、アミロイドを形成するパスウェイ、アミロイドの構造やそれが引き出すプリオン株の表現型の差異を決定している根源的な因子であることが明らかになった。逆に、モノマー構造の制御は、アミロイドに関与する多くの神経変性疾患の治療法を考える上で、非常に重要であることが明らかになった。

#### 5. 参考論文

- 1) Ohhashi et al., submitted (2009).
- 2) Tanaka et al., Nature 442, 585-589 (2006).