

神経変性疾患に関わる蛋白質の凝集化機構の解明とその予防・治療法の探究



タンパク質工学研究室

●プロジェクトメンバー (グループリーダー)

工学部 化学・バイオ系学科

教授 溝端知宏

工学部 化学・バイオ系学科

助教 本郷邦広

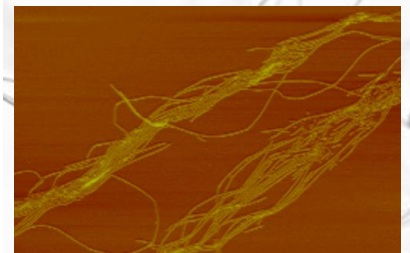
工学部 化学・バイオ系学科

教授(併任) 河田康志

研究概要:

本グループでは、認知症等の難治性神経疾患を引き起こす蛋白質の不溶性凝集体（アミロイド線維）が形成される詳細なメカニズムを解明し、その効果的な抑制法を探究する基礎研究を行っています。

- ・細胞内外における蛋白質線維化の詳細な仕組みを分析するための新たな方法論を提唱しました。
- ・アミロイド線維の沈着が生物や細胞に及ぼす影響を評価・可視化し、疾患の効果的な予防・治療法につながる有用物質の探索に利用しました。
- ・アミロイドの応用を見据えた「操り方」の探索と開発を手がけています。



蛋白質のアミロイド線維
(原子力間力顕微鏡測定)

細胞内で蛋白質は様々な生理的機能を支える重要な生体高分子ですが、その機能の実現は蛋白質の緻密な水中構造によるものです。生合成された直後の蛋白質は細胞内の環境要因や分子シャペロンと呼ばれる特別な蛋白質によって複雑な立体構造を形成し、生理的機能を発揮しますが、その役割を果たした後、または構造の劣化によって正常機能が発揮できなくなった場合、分解されて「リサイクル」されます。このような細胞内の蛋白質循環サイクルは加齢と共にその性能が減退することも知られており、そうなった場合、蛋白質は正しくリサイクルされずに不溶化し、細胞内に沈着（蓄積）して細胞全体の機能を脅かすような存在になります。

人の神経細胞においては、生理的機能が蛋白質の構造の高い柔軟性（構造ダイナミズム）に支えられていることが多く、このような“ダイナミックな”蛋白質は上に記したような「リサイクル不良」が起きると不溶物として細胞内に蓄積する傾向が強いことが分かっています。興味深いことに、このような細胞内に沈着する傾向の強い蛋白質は不溶化する際に「アミロイド線維」と呼ばれる特徴的な共通構造を形成します。蛋白質のアミロイド線維は高い構造安定性を見せる規則正しい線維状の構造で、この構造安定性が細胞の中での蓄積を促進しているとも考えられています。

当グループではこのような興味深い性質を持つアミロイド線維に注目し、次のような目標達成に向けて研究を進めています。

- ① その線維が形成される様子を可能な限り詳細に解析し、理解すること
- ② 生物の中におけるアミロイド線維蓄積を可視化し、生理的な影響を評価すること、線維化を抑制する各種因子の効果を評価すること
- ③ アミロイド線維の有効な「操り方」を見だし、アミロイド線維のユニークな特徴を医学的・工学的に応用する手段を開発すること

“Understand”理解する
→新分析法による詳細解析

“Control”制御する
→線維化を抑制する
因子の検索と評価

“Utilize”活用する
→線維の新規利用法
開発

蛋白質のアミロイド線維

図1. 本プロジェクトの研究目標。

①アミロイド線維が形成される様子の詳細な解析研究

蛋白質のアミロイド線維形成反応の分子論的メカニズムの研究について、様々な研究グループと協力して新しい実験系の構築と分析手法の開発を行ってきています。細胞内で蛋白質が細胞膜（脂質二重膜）と相互作用することを想定し、モデル脂質膜とパーキンソン病の発症関連蛋白質である α シヌクレインとの関連性をNMR法や分光法を駆使して研究をしたり（文献(1)）、アミロイド線維化メカニズムのアミノ酸残基レベルで解析する新しいNMR手法の開発（文献(2)）などの研究を進めてきました。

②細胞や生体中でのアミロイド線維蓄積の可視化とミニシャペロンの機能評価

アミロイド線維を形成する蛋白質を蛍光蛋白質と融合させた物を培養神経細胞内で発現させ、この細胞が様々な環境ストレスを受けたときに実際に形成される細胞内アミロイド線維を可視化するシステムを構築しました。これを利用して、アミロイド線維が引き起こすストレスに対し耐性を付与するような低分子化合物を検索し、ある種の化合物（植物由来ポリフェノール）が細胞内でのアミロイド線維を抑制し、モデルマウスにおいても類似したストレス軽減効果と疾患発症予防効果を示すことを明らかにしました（文献(3)）。最近の研究では、同じモデル神経細胞系を用い、蛋白質構造の安定化に働く「分子シャペロン」という蛋白質がポリフェノール化合物と類似した効果を見せることを実証しています（文献(4)；図2）。現在はこの新しい発見を元に、ポリフェノール化合物や分子シャペロンを実際の疾患予防、または疾患の治療に利用する手法の開発にも着手しています。

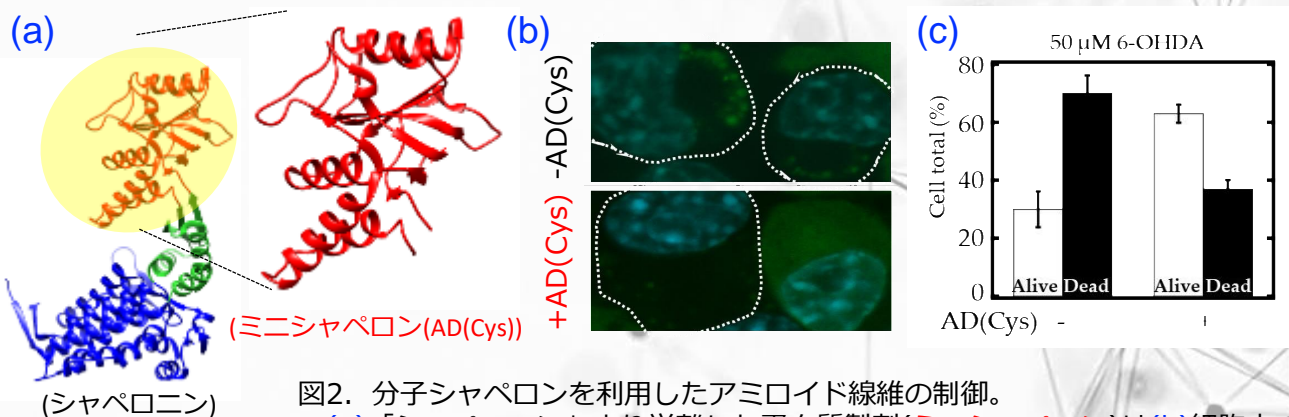


図2. 分子シャペロンを利用したアミロイド線維の制御。

(a)「シャペロニン」より単離した蛋白質製剤(ミニシャペロン)は(b)細胞内の蛋白質凝集(蛍光輝点)を抑え、(c)細胞の生存率を高めた。(文献(4)より)

③アミロイド線維の医工学的応用に向けた開発展開

蛋白質のアミロイド線維に対する理解が深まるにつれ、様々な場面で線維が生物の様々な機能実現にとって重要であることが判明しました。「機能的アミロイド」というコンセプトは、このような最新の研究より発展した新しい概念です。最近、我々のグループでは「機能的アミロイド」の構造機能相関に対する理解を深めるため、「アミロイド線維」「分子シャペロン」「環境応答」という多岐にわたる現象の境界に位置するモデル蛋白質の大腸菌HdeAを対象に、線維化と機能実現の関連を理解し、それを操る方法の開発を目指しています（図3、文献(5)）。これまで得た知見をベースに、将来的にはアミロイド線維を新しい用途に応用することを視野に入れ、研究を進めています。

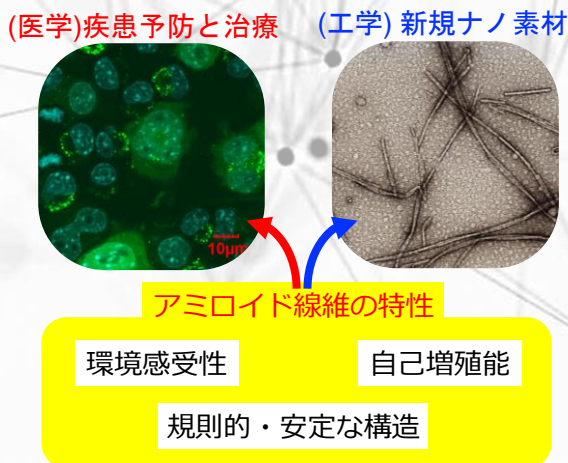


図3. アミロイドの特性を活かした医学・工学応用展開。

1. Terakawa, M. S., *et al.* (2018) Membrane-induced initial structure of alpha-synuclein control its amyloidogenesis on model membranes. *Biochim. Biophys. Acta* **1860**, 757-766
2. Morimoto, D., *et al.* (2017) High-Sensitivity Rheo-NMR Spectroscopy for Protein Studies. *Anal. Chem.* **89**, 7286-7290
3. Yamakawa, M. Y., *et al.* (2016) Anthocyanin suppresses the toxicity of A β deposits through diversion of molecular forms in *in vitro* and *in vivo* models of Alzheimer's disease. *Nutr Neurosci* **19**, 32-42
4. Yamamoto, H., *et al.* (2019) Human Molecular Chaperone Hsp60 and Its Apical Domain Suppress Amyloid Fibril Formation of alpha-Synuclein. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 47
5. Miyawaki, S. *et al.* (2019) Acid-denatured small heat shock protein HdeA from *Escherichia coli* forms reversible fibrils with an atypical secondary structure. *J. Biol. Chem.* **294**, 1590-1601