

凝集体形成からみた神経変性機序

貫名 信行

(臨床神経 2011;51:976-978)

Key words : ポリグルタミン病, 凝集体, ユビキチン結合タンパク質, 転写因子, RNA結合タンパク質

1. はじめに

ハンチントン病をはじめとするポリグルタミン病は遺伝子の CAG リピートの伸長にともなう伸長ポリグルタミンをふくむ遺伝子産物の核内封入体とその病態に深く関与していると考えられる。われわれは伸長ポリグルタミンが構成する凝集体の構造特性を明らかにするため、 α ヘリックスからのみなるミオグロビンに、ことなる長さのポリグルタミン鎖を挿入した分子モデルの構造解析をおこなった。その結果伸長ポリグルタミンは分子内 β シート構造を取ることで、この β シートが分子間結合するとアミロイド線維を形成することを明らかにした¹⁾。さらに X 線小角散乱法をもちいて早期に形成される非線維性凝集体についてもその構造を検討した結果 quasi-aggregate (今日オリゴマーと呼ばれているものに近い)と呼んだ構造物を同定した。この凝集体はポリグルタミンが表面に露出しており、ポリグルタミンが内部に隠れる線維とはことなり、ポリグルタミン結合タンパク質を結合(セクエストレーション)して機能阻害する構造的基盤となることを示した²⁾。

2. 伸長ポリグルタミン結合タンパク質の網羅的解析

ポリグルタミン結合タンパク質の網羅的解析のため、ハンチンチン exon1-GFP 融合タンパク質発現細胞からの凝集体の精製法を確立し³⁾、その結合タンパク質を質量分析によって網羅的に解析した。その結果 Hsc70, Hsp40 のシャペロン系タンパク質が同定されるとともにプロテアソームのサブユニット、既報のハンチンチン結合タンパク質 formin binding protein, myeloid leukemia factor 2 などが同定され、方法的な有効性が示された。この方法により、Toll interacting protein (Tollip), ubiquilin1, 2 といったユビキチン結合タンパク質も同定され、ユビキチン化された凝集体に結合したものと考えた⁴⁾。別の方法によって同様にユビキチン結合タンパク質 p62 の凝集体結合もわれわれの研究室において同定している⁵⁾。p62 は最近選択的オートファジーに関係する重要な分子であることがわかってきており、ユビキチン結合タンパク質の凝集体への結合が単純にユビキチン化された凝集体に結合して

いるだけなのか、より重要な病態における意義があるのかについては今後の検討が必要である。

3. 転写因子の凝集体セクエストレーション仮説について

ポリグルタミン病においては転写異常がみとめられており、この機序として TAF, CBP などの転写因子、転写関連因子が結合して機能阻害されることによる病態が従来考えられてきた。しかし、われわれの系ではこれらの転写因子が同定されず、NF-YA が同定されたため、その機能を解析した⁶⁾。NF-YA は Hsp70 のプロモーターに結合しその発現を制御するため、モデルマウスにおける Hsp70 の発現異常は NF-Y の障害によることが想定された。さらにモデルマウス脳における転写因子の機能異常のスクリーニングから POU ドメインを持つ転写因子 Brn2 が伸長ポリグルタミンに結合し、減少していることもみいだした。Brn2 はその機能を代償する Brn1 が大脳皮質に発現しているために機能異常を大脳皮質ではおこさないが、Brn1 が発現していない視床下部においては Brn2 の減少が視床下部における神経ペプチドの発現異常をひきおこすことが示唆された⁷⁾。このような部位特異的代償機構の存在はポリグルタミン病における病変特異性の決定因子の一つの説明となりえる。

4. 凝集体結合タンパク質としての RNA 結合タンパク質

われわれはさらに凝集体結合タンパク質として FUS/TLS を報告した⁸⁾。TLS は伸長ポリグルタミンに結合し、その凝集を阻害することをみいだした。この伸長ポリグルタミン核内封入体への結合はハンチンチンのみならず、他のポリグルタミン病においてもみとめられた。興味深いことにわれわれの報告の後に FUS/TLS が家族性筋萎縮性側索硬化症 ALS6 の遺伝子であることが報告され、共通の神経変性病態の存在も示唆される。一方 RNA 結合タンパク質はポリグルタミン結合をおこしやすいものが他にもあり、TIA-1 をそのひとつとして同定し報告した。TIA-1 はそれ自身が凝集するタンパク質であり、またハンチンチン凝集体は TIA-1 の凝集の核

(シード)となり促進する。ことなるタンパク質がシードとなることをクロスシーディングというが、このクロスシーディングの存在は病態の多様性の基盤となる可能性があることを指摘した⁹⁾。

5. おわりに

このように凝集体結合タンパク質は病態の様々なプロセスに関与している分子であることがわかる。また治療という観点で考えるとこの凝集体を減少させることが病態の如何にかかわらず重要であると考えられ、伸長ポリグルタミンを特異的に分解系にもっていくシャペロン介在性オートファジーを利用する遺伝子治療を開発した¹⁰⁾。この方法によってモデルマウスにおいて治療効果がみいだされたことは伸長ポリグルタミンがタンパク質レベルで病態に直接関与していることを示唆している。今後このような病態に関与する多様な治療標的に対する治療の試みが期待される。

文 献

- 1) Tanaka M, Morishima I, Akagi T, et al. Intra- and intermolecular beta-pleated sheet formation in glutamine-repeat inserted myoglobin as a model for polyglutamine diseases. *The Journal of biological chemistry* 2001;276:45470-45475.
- 2) Tanaka M, et al. Expansion of polyglutamine induces the formation of quasi-aggregate in the early stage of protein fibrillization. *The Journal of biological chemistry* 2003;278:34717-34724.
- 3) Mitsui K, et al. Purification of polyglutamine aggregates and identification of elongation factor-1 alpha and heat

shock protein 84 as aggregate-interacting proteins. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 2002;22:9267-9277.

- 4) Doi H, et al. Identification of ubiquitin-interacting proteins in purified polyglutamine aggregates. *FEBS letters* 2004;571:171-176.
- 5) Nagaoka U, et al. Increased expression of p62 in expanded polyglutamine-expressing cells and its association with polyglutamine inclusions. *Journal of neurochemistry* 2004;91:57-68.
- 6) Yamanaka T, et al. Mutant Huntingtin reduces HSP70 expression through the sequestration of NF-Y transcription factor. *The EMBO journal* 2008;27:827-839.
- 7) Yamanaka T, et al. Mutant huntingtin fragment selectively suppresses Brn-2 POU domain transcription factor to mediate hypothalamic cell dysfunction. *Human molecular genetics* 2010;19:2099-2112.
- 8) Doi H, et al. RNA-binding protein TLS is a major nuclear aggregate-interacting protein in huntingtin exon 1 with expanded polyglutamine-expressing cells. *The Journal of biological chemistry* 2008;283:6489-6500.
- 9) Furukawa Y, Kaneko K, Matsumoto G, et al. Cross-seeding fibrillation of Q/N-rich proteins offers new pathomechanism of polyglutamine diseases. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 2009;29:5153-5162.
- 10) Bauer PO, et al. Harnessing chaperone-mediated autophagy for the selective degradation of mutant huntingtin protein. *Nature biotechnology* 2010;28:256-263.

Abstract**Neurodegeneration based on polyglutamine aggregation**

Nobuyuki Nukina, M.D.

RIKEN Lab for Structural Neuropathology

One of the major hypotheses about polyQ toxicity is the sequestration of functionally important proteins into the aggregates. We established and carried out a direct, systematic proteomic analysis of aggregate-interacting proteins (AIPs). This analysis, as well as other studies in our lab, has revealed the following AIPs in addition to our previously reported chaperones: ubiquitin binding proteins such as ubiquilins and Tollip and p62, TLS and transcription factor NF-Y. Although transcriptional dysregulation has been reported in polyQ disease, the precise mechanism has not been clarified. We identified NF-Y as an AIP and found the reduction of NF-Y binding to the promoter region of HSP70, one of the NF-Y targets. Because suppressive roles of HSP70 on the HD pathological process have been shown in several HD models, NF-Y could be an important target of expanded polyQ. We further screened transcription factors, which reduced in HD model mouse, using Protein DNA array and found the decrease of POU domain factor. Based on this result, we confirmed Brn2 is decreased in HD model mouse, which showed the dysfunction of hypothalamus. We proposed the mechanism of hypothalamic dysregulation, suggesting the region specific abnormality could be induced by the imbalance of cellular compensatory mechanism.

(Clin Neurol 2011;51:976-978)

Key words: Polyglutamine disease, aggregate, ubiquitin binding protein, transcription factor, RNA binding protein
