

<シンポジウム 14—2>神経変性をどう考えるか？病態理解に至る最近の進歩

DNA 損傷修復からみた神経変性機序

岡澤 均

(臨床神経 2011;51:979-981)

Key words : ポリグルタミン病, DNA修復, DNA損傷, 分子治療, オミックス

ポリグルタミン病は核内封入体形成が病学的特徴であり、変異タンパクの核移行を阻害すると病態の進行がいちじるしく改善することがマウスモデルで証明されている。また、球脊髄性筋萎縮症で期待される治療薬リユプロレリンはアンドロゲン分泌を介して変異アンドロジェン受容体の核移行を阻止するといわれている。したがって、変異タンパクの核内部での非生理的機能はポリグルタミン病態の上で重要な地位を占めるものと考えられる。

私たちは、変異タンパクの核内機能について10年ほど前からオミックス的手法をもちいて研究をしてきた。変異タンパクは核移行後に生理的核タンパクと結合して、その量的あるいは機能的変化をきたすことが想定される。そこで、はじめにポリグルタミン病タンパクの発現によって量的変化を生じる正常核タンパクをスクリーニングする目的で、可溶性核タンパクの網羅的プロテオーム解析をおこなった。この際、大脳、小脳、線条体より神経細胞を初代培養して、アデノウイルスベクターを感染させて正常型および変異型のハンチンチンとアタキシン1を発現させた。その結果、ハンチンチン病と脊髄小脳変性症1 (SCA1) 型の両病態において脆弱性が知られている神経細胞では、共通して可溶性核タンパク分画からHMGB1/2タンパクが減少していることを発見した¹⁾。HMGBはDNAの構造変換を担う重要なタンパクであり、核機能のあらゆる場面でもちいられている。その結果として、ポリグルタミン病態ではHMGB1/2の基本的機能である転写ならびにDNA損傷修復に機能低下がおきていると考えられる¹⁾。さらに、HMGB1補充はショウジョウバエの複眼のポリグルタミン変異タンパクによる変性を有為に抑制することも併せて明らかになった¹⁾。

次に、インタラクトーム(網羅的タンパク間結合情報)解析をもちいて、変異タンパクとの結合が直接的に(量的変化を介さずに)細胞機能異常に結びつく病態分子の探索を進めた²⁾。その結果、DNA2重鎖切断修復のnon-homologous end joiningにおいて重要な働きを示すKu70と変異ハンチンチンが結合し、この結合によりKu70のDNA損傷修復機能が阻害され、これによってDNA損傷が増加することを明らかにした³⁾。非分裂細胞である神経細胞においては、一般にDNA2重鎖切断修復はhomologous end-joining (HEJ)ではなく、non-homologous end-joining (NHEJ)によっておこなわれる。

NHEJ過程では、DNA2重鎖切断部位をKu70とKu80が形成するヘテロダイマーが認識し、DNA2重鎖をヘリカーゼ活性で解くとともに、局所にDNA-PKcsおよびXRCC4 (DNA ligase IV) をふくむDNA修復複合体を形成すると考えられている。変異ハンチンチンタンパク質はKu70と結合し、Ku70-Ku80のヘテロダイマー形成の低下、Ku70, Ku80のDNAへの結合の低下、およびDNA-PK活性の低下を招く (Fig. 1)。さらに、マウス個体レベルでのKu70の補給 (ハンチンチン病モデルマウスとKu70トランスジェニックマウスの掛け合わせ) は、in vivoのマウス線条体神経細胞におけるDNA損傷改善とマウス個体寿命の顕著な延長につながることも併せて明らかにした (Fig. 2)。

さらに、mRNA発現の網羅的解析(トランスクリプトーム解析)からは、病態抵抗性ニューロン(ハンチンチン病態における小脳顆粒細胞)におけるHsp70の変異ハンチンチンによる発現誘導⁴⁾、バグマングリアにおいて機能する新規病態抑制分子MaxerのSCA1病態における減少⁵⁾、そして線条体ニューロンにおけるOmiの減少など⁶⁾、選択的神経細胞障害につながる新たな病態関連分子を同定した。私たちのえたこれらの結果は、複数のポリグルタミン病に共通する病態としてDNA損傷修復障害を新たに同定した点と、選択的神経細胞障害につながる複数の病態を示唆した点で、価値のあるものと考えている。

DNA損傷修復障害は、ウェルナー症候群やコケイン症候群などの早老症において、修復遺伝子そのものの変異によるDNA損傷修復障害が神経系をふくむ老化につながるということが知られている。また、トポイソメラーゼ1変異によるSCAN1⁷⁾あるいはアプラタキシン変異によるAOA1⁸⁾など常染色体劣性遺伝形式の脊髄小脳変性症においても、single strand break repairと神経変性の直接的関係が強く示唆されている。さらには、ataxia-telangiectasiaの原因遺伝子ATMはdouble strand break repairのきっかけを作るMRN複合体によって損傷箇所に引き寄せられて、NBS1, P53, BRCA1などのターゲット分子のリン酸化を通じてアポトーシスを誘導する¹⁰⁾。ATM変異を持つ細胞はirradiationに対して抵抗性であることが知られており、ATM変異によって損傷したゲノムを持ち越した神経細胞は神経変性につながるのかもしれない。

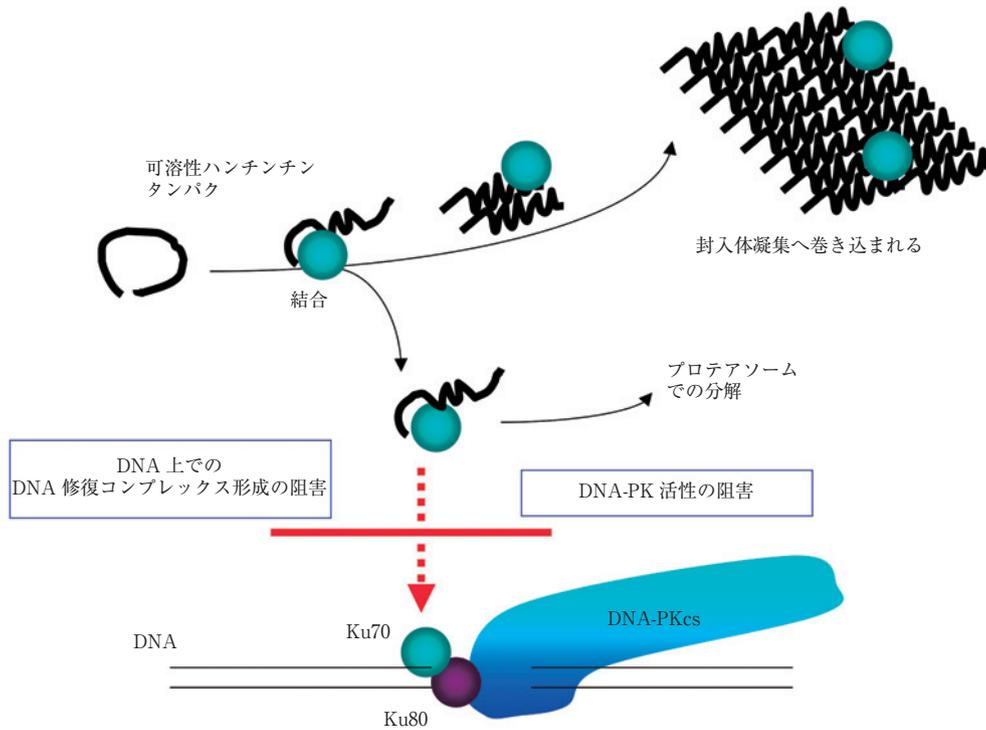


Fig. 1 異常ハンチンチンによる Ku70 を介した DNA 損傷修復障害のメカニズム。異常ハンチンチン病タンパク (異常ハンチンチン) は Ku70 と結合して、核内の 2 重鎖切断修復機能を低下させる。この結果、DNA 損傷が蓄積すること (神経細胞は直ちには細胞死をおこさないが) が変性につながる。

総数 : 63 件

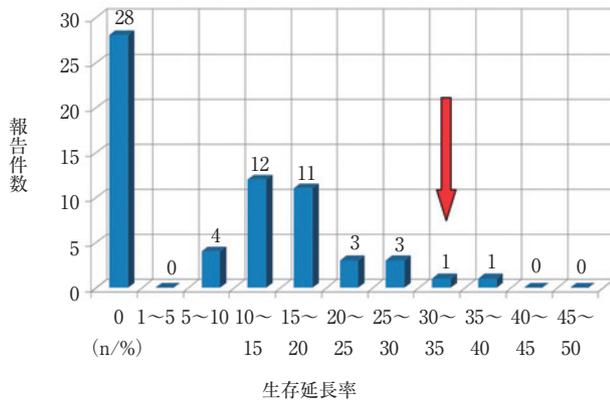


Fig. 2 ハンチントン病モデルマウス R6/2 に対する従来の治療成績。

私たちの Ku70 補充療法は (内在性発現量の約 2 倍以上で上昇させる), モデルマウスの寿命を顕著に延長した。この寿命延長効果はこれまでの報告の中でほぼ最長である。

私たちのポリグルタミン病における成果および他の神経変性に関する他のグループの成果を併せると、DNA 損傷修復障害が神経変性における共通病態であることが考えられる。さらに、この病態は老化とも深い関連が示唆される。変性の本質そして老化と変性の関係が、この知見をきっかけに解明さ

れていくことを望んでいる。

文 献

- 1) Qi ML, Tagawa K, Enokido Y, et al. Proteome analysis of soluble nuclear proteins reveals that HMGB1/2 suppress genotoxic stress in polyglutamine diseases. *Nat Cell Biol* 2007;9:402-414.
- 2) Goehler H, Lalowski M, Stelzl U, et al. A protein interaction network links GIT1, an enhancer of huntingtin aggregation, to Huntington's disease. *Mol Cell* 2004;15:853-865.
- 3) Enokido Y, Tamura T, Ito H, et al. Mutant huntingtin impairs Ku70-mediated DNA repair. *J Cell Biol* 2010;189:425-443.
- 4) Tagawa K, Marubuchi S, Qi M-L, et al. The induction levels of hsp70 differentiate the vulnerabilities to mutant huntingtin among neuronal subtypes. *J Neurosci* 2007;7: 868-880.
- 5) Shiwaku H, Yoshimura N, Tamura T, et al. Suppression of the novel ER protein MAXER by mutant ataxin-1 in Bergman glia contributes to non-cell autonomous toxicity. *EMBO J* 2010;29:2446-2460.
- 6) Inagaki R, Tagawa K, Qi ML, et al. Omi/HtrA2 is relevant to the selective vulnerability of striatal neurons in

- Huntington's disease. *Eur J Neurosci* 2008;28:30-40.
- 7) Takashima H, Boerkoel CF, John J, et al. Mutation of TDP1, encoding a topoisomerase I-dependent DNA damage repair enzyme, in spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy. *Nat Genet* 2002;32:267-272.
- 8) Date H, Onodera O, Tanaka H, et al. Early-onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia is caused by mutations in a new HIT superfamily gene. *Nat Genet* 2001;29:184-188.
- 9) El-Khamisy SF, Saifi GM, Weinfeld M, et al. Defective DNA single-strand break repair in spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy-1. *Nature* 2005;434:108-113.
- 10) Zhao S, Weng YC, Yuan SS, et al. Functional link between ataxia-telangiectasia and Nijmegen breakage syndrome gene products. *Nature* 2000;405:473-477.

Abstract

DNA repair and neurodegeneration: a common pathology shared by polyglutamine diseases

Hitoshi Okazawa, M.D.

Neuropathology, Tokyo Medical and Dental University

Nuclear dysfunctions have been implicated in the pathology of polyglutamine diseases, while the details remain unclear. By employing various omics approaches, we have identified target molecules of mutant polyglutamine proteins in the nucleus. Proteome analysis of soluble nuclear proteins identified decreased HMGB1/2 in vulnerable neurons of Huntington's disease (HD) and spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1). Interactome analysis unraveled Ku70 as a direct binding partner of mutant huntingtin. DNA damage repair is significantly impaired by interaction of mutant polyglutamine proteins with HMGB or Ku70, and the functional rescue of these molecules alleviated symptoms and pathologies of HD and SCA1. These results strongly suggest that impairment of DNA damage repair is a common pathology shared by multiple polyglutamine diseases.

(*Clin Neurol* 2011;51:979-981)

Key words: Polyglutamine disease, DNA repair, DNA damage, Molecule-targeted Therapy, Omics
