
シャペロン誘導剤の アルツハイマー病への応用

Application of chaperone Inducer for Alzheimer Disease

大阪大学大学院 医学研究科 精神医学教室

工藤 喬*

宮崎大学医学部 解剖学講座

今泉 和則

岐阜薬科大学 生体機能分子額教室

原 英彰

はじめに

近年、アルツハイマー病 (AD) の治療薬開発は、 β/γ セクレターゼ阻害薬、NSAIDs、アミロイドワクチンなど様々な可能性が検討されているが、実用化に至ったものは未だない。従って、現時点では多くの可能性を模索すべき時期であろうと思われる。我々は、従来からADの病態を小胞体 (ER) ストレスに対する反応、即ちunfolded protein response (UPR) の見地から検討してきた。近年我々は、ERストレスについて蓄積してきた知見を踏まえた治療戦略について検討を始めている。

1. UPR

UPRには、分子シャペロン誘導 (Transcriptional induction)、蛋白翻訳抑制 (Translational attenuation)、プロテアソームによる小胞体関連分解 (ER-associated degradation: ERAD) が想定されている。UPRはER膜上に存在するトランスデューサーIRE1、PERK、ATF6がER内のunfolded proteinの蓄積を感知することから始動する。そのうちIRE1とATF6は、BiPをはじめとするシャペロン分子を誘導し、unfolded

proteinの折りたたみを是正する方向で働く。一方、PERKは転写因子eIF2 α をリン酸化し、翻訳開始を阻害する。これにより、多くの蛋白はERストレス下では産生が低下して、更なるunfolded proteinの蓄積を防止する。また、unfolded proteinはプロテオソームに運ばれ、ERADによって分解される (図1)。これらのUPRによってもunfolded proteinの蓄積が是正しない場合、ER膜上にあるカスパー12/4の活性化、c-JUN NH2-terminal kinases (JNK) 経路の活性化、更にはCHOPを誘導し、アポトーシスを引き起こす (図1)。従って、UPRを何らかの方法で活性化してやれば、ERストレスによる細胞障害に対する治療に繋がる可能性がある。

2. アルツハイマー病における神経変性と ER ストレス

我々は家族性アルツハイマー病 (FAD) の主要な原因遺伝子であるプレセニリン1 (PS1) がERに局在することから、ERストレスとPS1変異体の関係について検討した。PS1変異体発現神経細胞

* Takashi Kudo, M.D., Ph.D.:Department of Psychiatry, Osaka University Graduate School of Medicine

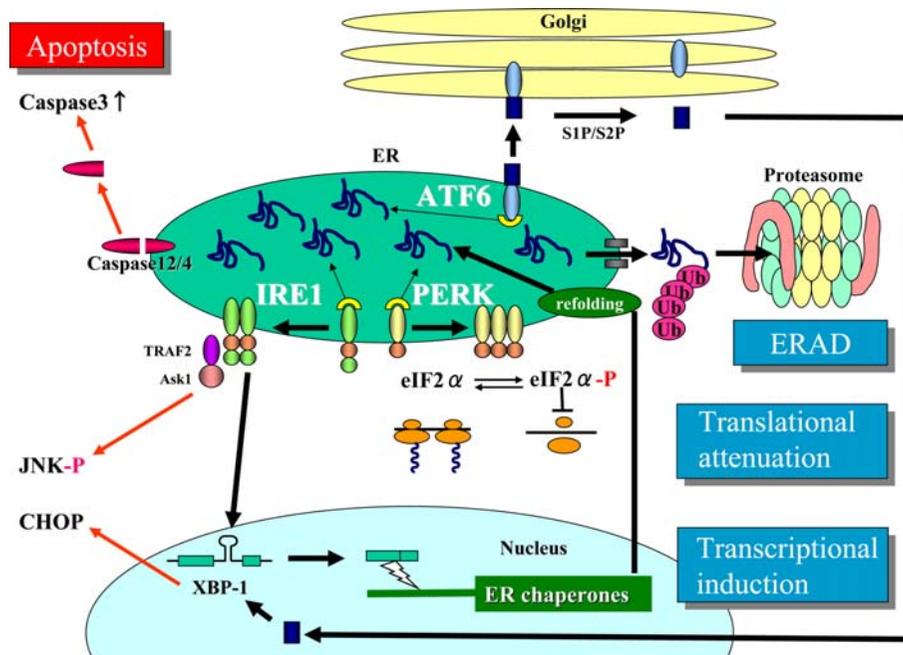


図1 小胞体 (ER) ストレス反応 (unfolded protein response: UPR) とアポトーシス

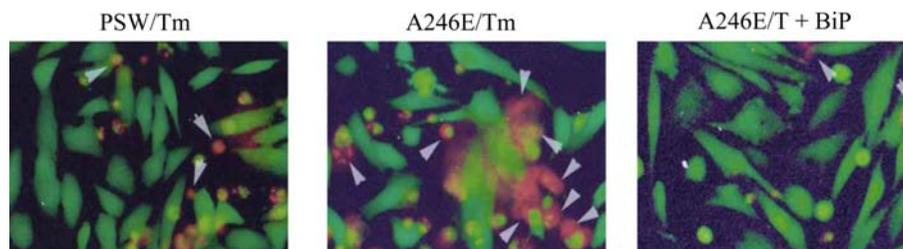


図2 プレセニン1 (PS1) 変異体発現細胞のERストレス脆弱性とBiP誘導によるレスキュー
PS1変異体 (A246E) 発現細胞は野生型 (PSW) 細胞に比し、ERストレス (tunicamycin: Tm) に脆弱性を示す (矢印は神経細胞死) が、予めウイルスベクターを用いてBiPを発現させておくと、この脆弱性はレスキューできる。(文献1)より。)

は、ERストレスに脆弱であることが示され、ERストレス下における分子シャペロンBiPの誘導が抑制されることが見出された¹⁾。PS1変異体神経細胞のUPRを検討すると、IRE1、PERK、ATF6全てのトランスドューサーの活性化が障害されており、UPR抑制のためにERストレス脆弱性を来していることが示唆された^{1) 2) 3)}。また、PS1変異体神経細胞にUPRの1つであるBiPをウイルスベクターにより発現させておくと、ERストレス脆弱性をレスキューできることも示された (図2)。従って、PS1変異によるFADの神経変性にはUPR障害が関与すると考えられる。実際、FAD患者脳ではBiPの発現が低いことが観察されており、お

もしろいことに孤発性AD患者脳でもBiP発現が低下していることが観察された¹⁾。これは、ADの神経変性に共通してBiP誘導障害即ちUPR障害が関与することを示唆する事実である。

3. アミロイド代謝とERストレス

アミロイドカスケード仮説⁴⁾によれば、アミロイド蛋白Aβの蓄積・凝集がADの病態の根元であるとされ、ERストレスとAβ代謝の関係に我々は注目した。ERストレスによって誘導されるBiPはアミロイド前駆体蛋白 (APP) に結合する。BiPのKDEL配列はリテンションシグナルとして認識され、ER側への逆行輸送方向へ分子を向けると

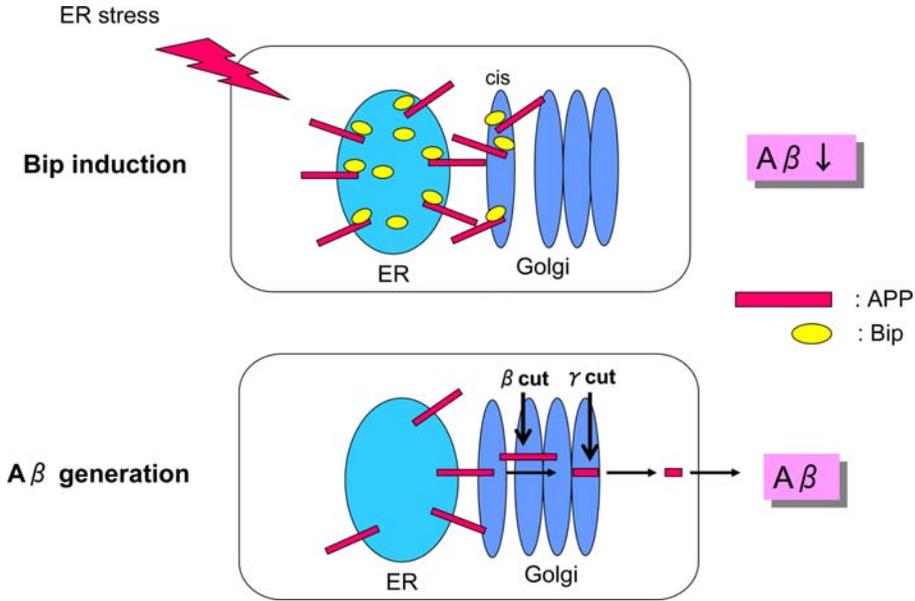


図3 アミロイド代謝と ER ストレス (シャペロン誘導: BiP)
ER ストレスによって誘導されるシャペロン BiP は APP と結合し、APP の局在を ER 側へシフトさせ、Aβ を切り出す β/γ セクレターゼの分布から APP を離すことで、Aβ 産生を減少させる。

され⁵⁾、BiPが結合したAPPも分布をER側へ移す。Aβを産生するβ及びγセクレターゼは分泌側のゴルジ体やエンドソームに存在するが、その場からAPPが移動するために、Aβ産生が減少すると考えられた(図3)。実際、BiPを人為的に導入して発現させると、分泌Aβの減少が観察されている⁶⁾。

4. シャペロン誘導剤の開発

以上述べた我々の知見から、分子シャペロン誘導はADの治療戦略に利用できる可能性が考えられる。そこで、我々はBiPのプロモーター領域を用いたルシフェラーゼアッセイ系を構築し、BiPを誘導する化合物の検索を開始した。その過程で、1つの化合物を見出し、BiP inducer X (BIX) と名付けた。

もし、BIXがERストレスラーとして働き、UPRの一環としてBiPを誘導するのであれば、ERストレスによるアポトーシスも活性化してしまい、神経細胞死抑制には逆効果となる(図1)。しかし、神経細胞を用いた実験から、BIXはBiPのみ誘導し、ERストレスによるXBP-1のスプライシング、CHOPの誘導などは起こさないことが示された

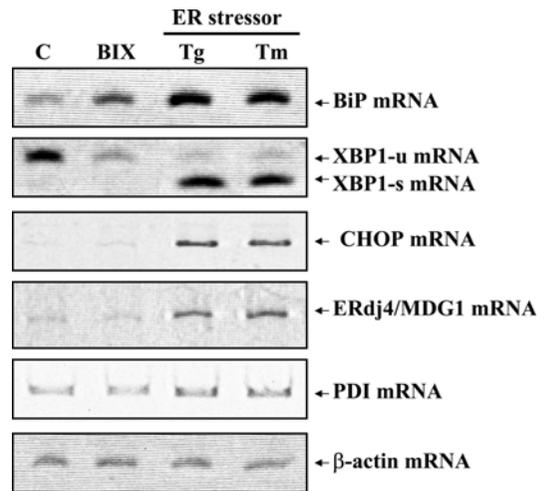


図4 BIXのBiP誘導効果とその他のERストレス
BIXはBiPのみを誘導し、thapsigargin (Tg) や tunicamycin (Tm) などのERストレスラーが誘導するその他のERストレス誘導分子は誘導しない。

(図4)。

BIXの抗ERストレス効果について神経細胞を用いて検討した。12時間前にBIXを前投与しておき、薬剤によりERストレスをかけると、BIX非投与細胞に比し、刺激後12~48時間の細胞の生存率が上昇することが観察された(図5)。

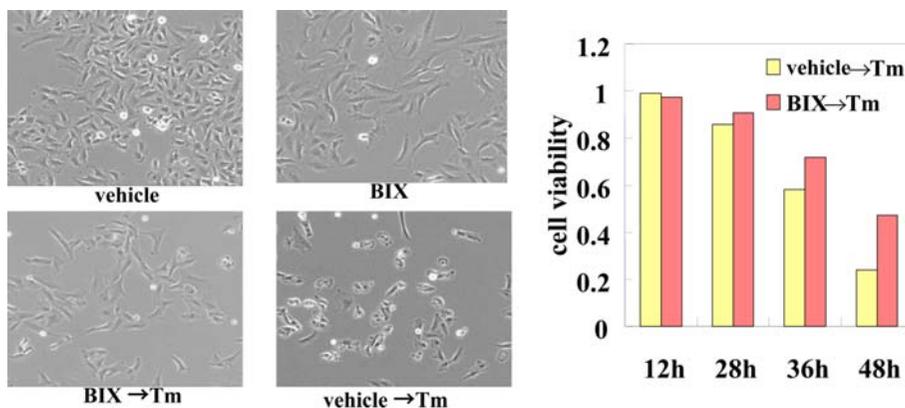


図5 BIXの抗ERストレス効果
BIXを12時間前に前投与しておく、vehicle投与神経細胞に比し、ERストレス(tunicamycin: Tm)による神経細胞死を抑制できる。

このBIXの抗ERストレス効果について我々は、in vivoでも確認している。マウスを用いた中大脳動脈閉塞(MCO)モデルでは、脳梗塞巣周囲のpenumbra領域にERストレスが生じる。MCO30分前にBIXを脳室内投与しておく、24時間後のpenumbraを含めた梗塞領域の縮小が観察された。

上述したBiP誘導がAβ産生を減少させるという知見から、BIXのAβ産生に対する効果も検討している。予想通り、BIXを投与すると、誘導されたBiPがAPPと結合することでAPPの局在を変え、Aβのセクレターゼによる切り出しが減少することで、Aβを低下させる事が確認されている。

以上のようにBIXには抗ERストレス効果とAβ産生抑制効果があり、新しいAD治療薬となる可能性があり、更なる検討を進めている。

文献

- 1) Katayama, T., Imaizumi, K., Sato, N., et al: Presenilin-1 mutations downregulate the signalling pathway of the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol.* 1: 479- 4 85, 1999
- 2) Katayama, T., Imaizumi, K., Honda, A., et al: Disturbed activation of endoplasmic reticulum stress transducers by familial Alzheimer's

disease-linked presenilin-1 mutations. *J Biol Chem.* 276: 43446-43454, 2001

- 3) Yasuda, Y., Kudo, T., Katayama, T., et al: FAD-linked presenilin-1 mutants impede translation regulation under ER stress. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 296: 313-318, 2002
- 4) Hardy, J., and Selkoe, D. J: The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 297: 353-356, 2002
- 5) Yamamoto, K., Fujii, R., Toyofuku, Y., et al: The KDEL receptor mediates a retrieval mechanism that contributes to quality control at the endoplasmic reticulum. *EMBO J.* 20: 3082-3091, 2001
- 6) Kudo T, Okumura M, Imaizumi K, et al: Altered localization of amyloid precursor protein under endoplasmic reticulum stress. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 344: 525-530, 2006

この論文は、平成18年7月22日(土) 第20回老年期痴呆研究会(中央)で発表された内容です。