

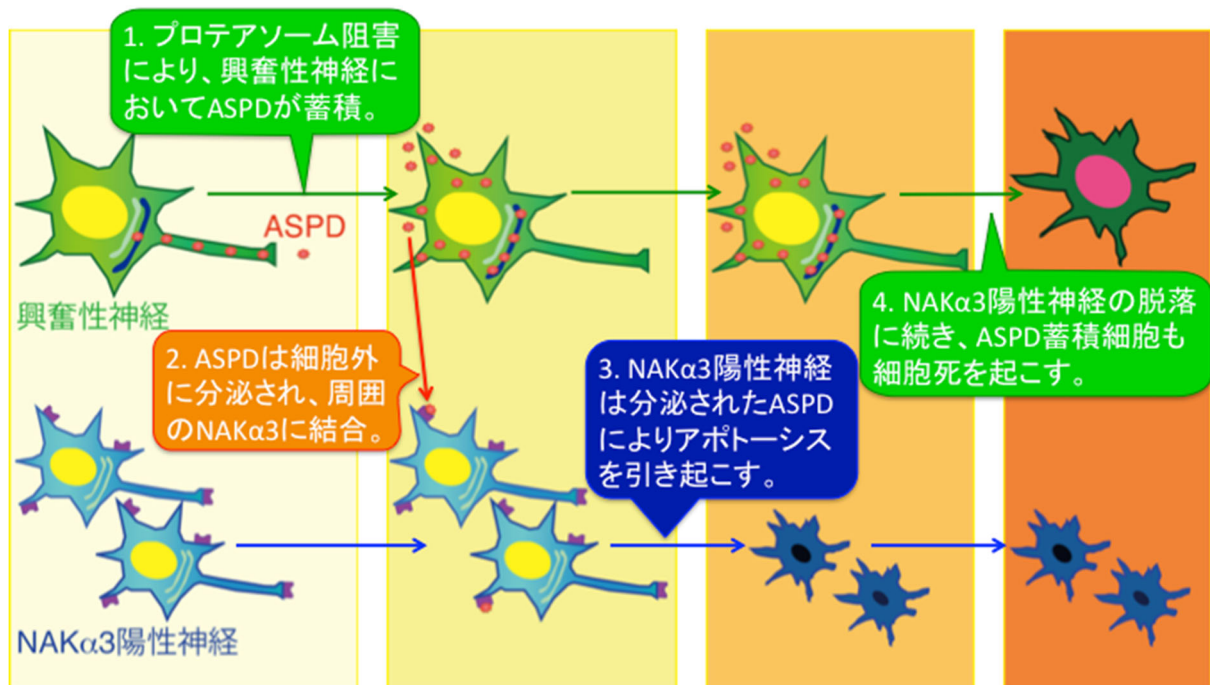
アルツハイマー病の神経毒性物質の形成と伝搬機構を解明

—発症に繋がる新たなメカニズムを提案—

概要

アルツハイマー病の原因となるアミロイド β ($A\beta$) は、前駆体である APP (アミロイド β 前駆体タンパク質) が、神経細胞内を輸送される過程で切断されて産生されます。これまで $A\beta$ が産生されるメカニズムについては殆ど神経細胞以外の細胞を用いて解析されてきました。しかし、機能分担に応じて複雑な形態を持ち、異なる細胞内輸送システムを持つ神経細胞において、 $A\beta$ がどこで産生されているか、どこで毒性を持つ凝集体に変わるのかは、未だ不明でした。これを解決するために、京都大学大学院医学研究科 星美奈子 特定准教授 (研究当時、現：神戸医療産業都市推進機構先端医療研究センター神経変性疾患研究部長、京都大学大学院医学研究科非常勤講師) らは、成熟神経細胞を用いた実験系の構築に着手しました。その結果、アルツハイマー病の神経細胞死の原因として本研究グループが患者脳から見つけた毒性凝集体アミロスフェロイドが、特定の神経細胞で検出され、この毒性凝集体の蓄積に伴って神経細胞内での細胞内輸送が異常になることを示しました。さらに、本研究では、細胞のタンパク質の構造異常を見張り、異常タンパク質を壊す役割を持つプロテアソームの活性低下が、毒性凝集体の蓄積を起こすことを示し、これまで不明であったアルツハイマー病発症の初期過程に踏み込むことに成功しています。これにより、将来、新しいメカニズムによる治療薬の開発が可能になると期待されます。

本研究成果は、2019 年 3 月 1 日に国際学術誌「iScience」にオンライン掲載されました。



1. 背景

アルツハイマー病は認知症のひとつであり、記憶や思考能力が徐々に障害され、最終的に日常生活にも支障をきたす疾患です。その患者数は世界中で約 5000 万人おり、2050 年には約 3 倍に増加すると予想されています (World Alzheimer Report 2018. Alzheimer's Disease International)。しかし、未だアルツハイマー病の原因は明らかになっておらず、明確な治療法也没有ありません。

アルツハイマー病では脳の神経細胞が減少し、脳内に異常な凝集体によるシミ「老人斑」や、線維状の沈着物「神経原線維変化」と呼ばれる異常が見つかり、最終的には神経細胞同士のネットワークが消失してしまいます。この老人斑は、アミロイド β ($A\beta$) と呼ばれるタンパク質の凝集、蓄積により形成されるものであり、 $A\beta$ が脳内に蓄積することが、現在アルツハイマー病の原因の一つとされています。 $A\beta$ は、膜タンパク質である前駆体 APP (アミロイド β 前駆体タンパク質) が細胞内輸送で運ばれる過程で切断されて形成されてきますが、 $A\beta$ がどこで産生されているのかについてのこれまでの報告は、神経細胞以外の細胞を用いて解析されてきました。神経細胞は情報を外から受け取る樹状突起、情報を処理する細胞体、情報を発信する軸索と、全く異なる機能を担う部位から形成されており、機能的に異なる部位を作るために、普通の細胞よりも極めて複雑な細胞内輸送システムを持っています。従って、神経細胞内のどこで $A\beta$ が産生されているのかについて調べることは、アルツハイマー病を理解する上で、重要な課題となっています。

近年アルツハイマー病の原因として、比較的少数のタンパク質が凝集した「オリゴマー」と呼ばれる構造体が毒性発揮の中心的な役割を担うと考えられています。星らの研究グループは、以前 $A\beta$ が 30 個集まった球状構造体「アミロスフェロイド (amylospheroids; 以下 ASPD と略)」が強い神経毒性を持つことを報告しました (Hoshi et al. 2003, PNAS, 100, 6370-6375)。これまでの研究により、ASPD がアルツハイマー病の病態と相関して脳内の蓄積量が増えることや、神経細胞の生存や機能に重要なタンパク質ナトリウム-カリウムポンプの $\alpha 3$ サブユニット (以下 NAK $\alpha 3$) に結合することで、直接神経細胞を殺す活性があることを見出してきました (Ohnishi et al. 2015, PNAS, 112, E4465-4474)。また、アルツハイマー病患者脳では、一部の領域でのみ神経細胞死が起きますが、この神経細胞死が起きる領域と ASPD の蓄積が起きる領域が一致しており、ASPD がアルツハイマー病の病態に重要な働きを持つことがうかがえます。しかし、ASPD が脳内でどのようにして形成されているかについては不明です。そこで、本研究では、成熟神経細胞を用いて、 $A\beta$ 及び ASPD が細胞内のどこに蓄積し、どのように伝搬するかを調べました。 $A\beta$ オリゴマーの研究が進まない理由に、 $A\beta$ オリゴマーを特異的に検出することができないという点があげられますが、星らは ASPD 立体構造選択的な抗体の作成に成功しており (Noguchi et al. 2009, JBC, 284, 32895-32905)、この抗体を用いることで、ASPD に関する研究を進めることができました。

2. 研究手法・成果

本研究では、ASPD や $A\beta$ が神経細胞内のどこで形成し、どのようにして伝搬するかを調べるため、ASPD を産生する成熟神経細胞をモデルとして構築しました。家族性アルツハイマー病で報告されている変異を持つ APP を神経細胞で発現させ、異常タンパク質の分解を行う酵素複合体である「プロテアソーム」の働きを阻害することで、神経細胞内に ASPD が蓄積することを見出しました。しかし、この ASPD の蓄積は神経細胞のうち、一部の細胞でしか見られませんでした。そこで、ASPD を蓄積する細胞がどのような細胞かを調べたところ、これらの細胞は神経細胞の活動を活性化する「興奮性神経細胞」であることがわかりました。また、ASPD が細胞内のどこに多く存在するかを調べたところ、通常状態では主に軸索に多く存在していましたが、プロテアソームの阻害により、主に樹状突起に存在するようになり (図 1 上パネル)、ASPD の蓄積に伴って細胞内

の輸送に異常が出ることが示唆されました。実際、ASPD の蓄積は、細胞内で新しく生成されたタンパク質の仕分けに重要な働きを持つ「トランスゴルジネットワーク」に多く見られ (図 1 真ん中、下パネル)、細胞内輸送の異常と ASPD の蓄積が密接に関係していることが示唆されました。

次に、興奮性神経細胞内で形成した ASPD が、細胞外に分泌されているかを調べたところ、実際に細胞外に分泌されていることがわかりました。興奮性神経細胞から細胞外に分泌された ASPD は、周囲の神経細胞の NAK α 3 に結合することで NAK α 3 を持つ神経細胞の細胞死を引き起こすことが示されました。周囲の NAK α 3 神経細胞の細胞死を引き起こした ASPD 蓄積細胞は、その後、NAK α 3 神経細胞とは異なるメカニズムで細胞死を起こすことがわかりました。

本研究により、神経細胞における毒性 A β オリゴマーの形成と輸送に関して、より理解を深めることができました。またプロテアソームの活性と ASPD の蓄積に相関があることが示唆され、プロテアソームの活性がアルツハイマー病の病態に重要な働きを持つ可能性が示されました。この結果は、将来的に APP/A β の分解を調節することによる、A β 凝集体に対するアルツハイマー病治療薬の開発につながることを期待できます。

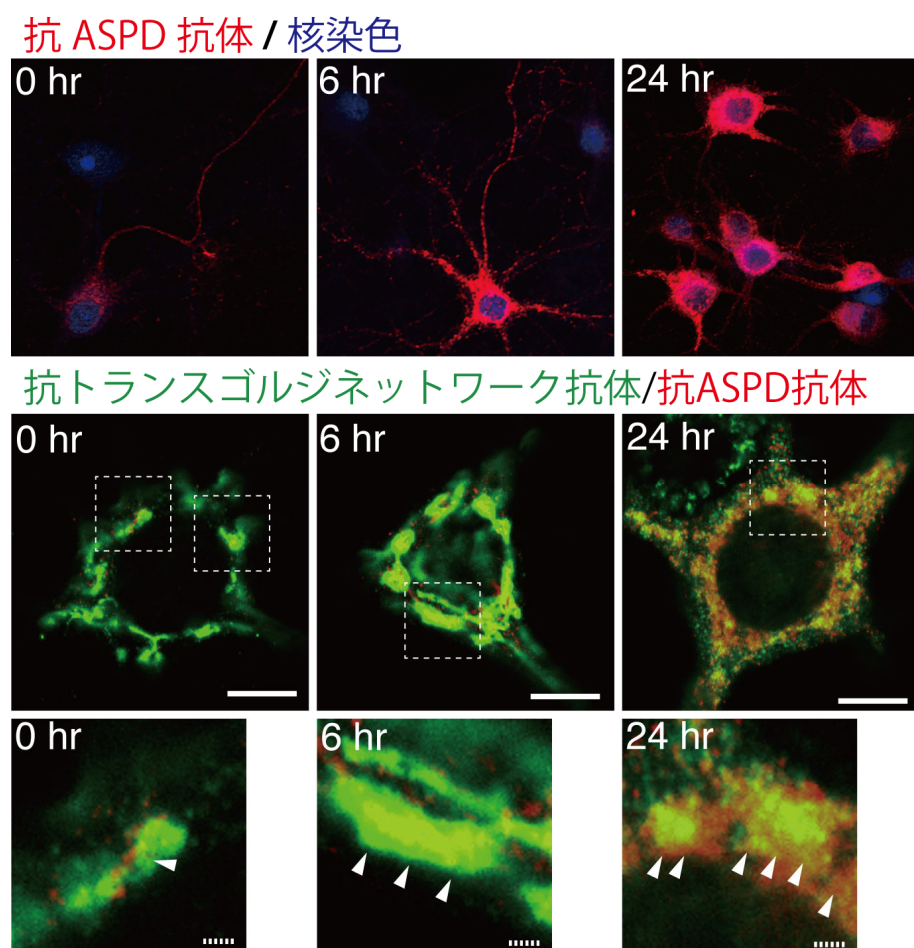


図 1. ASPD の神経細胞内の蓄積

各図左上の時間はプロテアソーム阻害剤の投与時間を示している。

上のパネルは ASPD (赤) の染色像を示しており、プロテアソーム阻害剤を添加していない時 (0 hr) では ASPD が軸索に存在しているのに対し、プロテアソーム阻害剤添加時 (6, 24 hr) では ASPD が樹状突起に存在していることが分かる。

真ん中、下のパネルは ASPD (赤) のトランスゴルジネットワーク (緑) への存在を示しており、ASPD がトランスゴルジネットワークに存在していることが分かる (下のパネルの矢印で示される場所)。

3. 波及効果、今後の予定

これまでの研究で ASPD がアルツハイマー病患者脳で蓄積していることが解っていましたが、本研究により、神経細胞内で実際に形成されること、さらに神経細胞から分泌され、周囲の細胞の神経細胞死を引き起こすことがわかり、アルツハイマー病患者脳で起こる神経細胞死のメカニズムについて、より明解に説明することが可能となりました。また、ASPD の蓄積が一部の神経細胞でのみ起こることがわかりました。この神経細胞種による違いは、アルツハイマー病患者脳において、神経の脱落が特定の領域でのみ観察されるという現象の説明につながる可能性が考えられます。神経細胞種の違いによる ASPD の形成について研究するには、細胞内における ASPD の形成メカニズムについて理解することが重要な課題です。そこで今後は、ASPD の形成についてリアルタイムでモニタリングする実験系を構築し、研究を進めていく予定です。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、主に MEXT 科研費（基盤研究（B））、新潟大学脳研究所、武田科学振興財団（ライフサイエンス研究助成）の支援を受けて行われました。

<研究者のコメント>

本研究は、アルツハイマー病患者脳で蓄積が見られる ASPD について、神経細胞内での形成、更には神経細胞からの分泌を初めて確認したもので、実際の脳内で起きている ASPD の形成、伝搬、神経脱落の過程を解明する上で大きな成果です。今後、ASPD の形成機構について更に研究を進めていくことは、ASPD を含む A β オリゴマーを対象としたアルツハイマー病治療につながると期待しています。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Alzheimer's A β Assemblies Accumulate in Excitatory Neurons Upon Proteasome Inhibition and Kill Nearby NAK α 3-Neurons by Secretion

アミロイド β タンパク質集合体はプロテアソーム阻害により興奮性神経に蓄積し、分泌されることで周囲の NAK α 3 陽性神経を殺す。

著 者：Hitomi Komura, Shota Kakio, Tomoya Sasahara, Yoshie Arai, Naomi Takino, Michio Sato, Kaori Satomura, Takayuki Ohnishi, Yo-ichi Nabeshima, Shin-ichi Muramatsu, Isao Kii, Minako Hoshi

掲 載 誌：iScience DOI：未定

<イメージ図>

APP発現成熟神経細胞

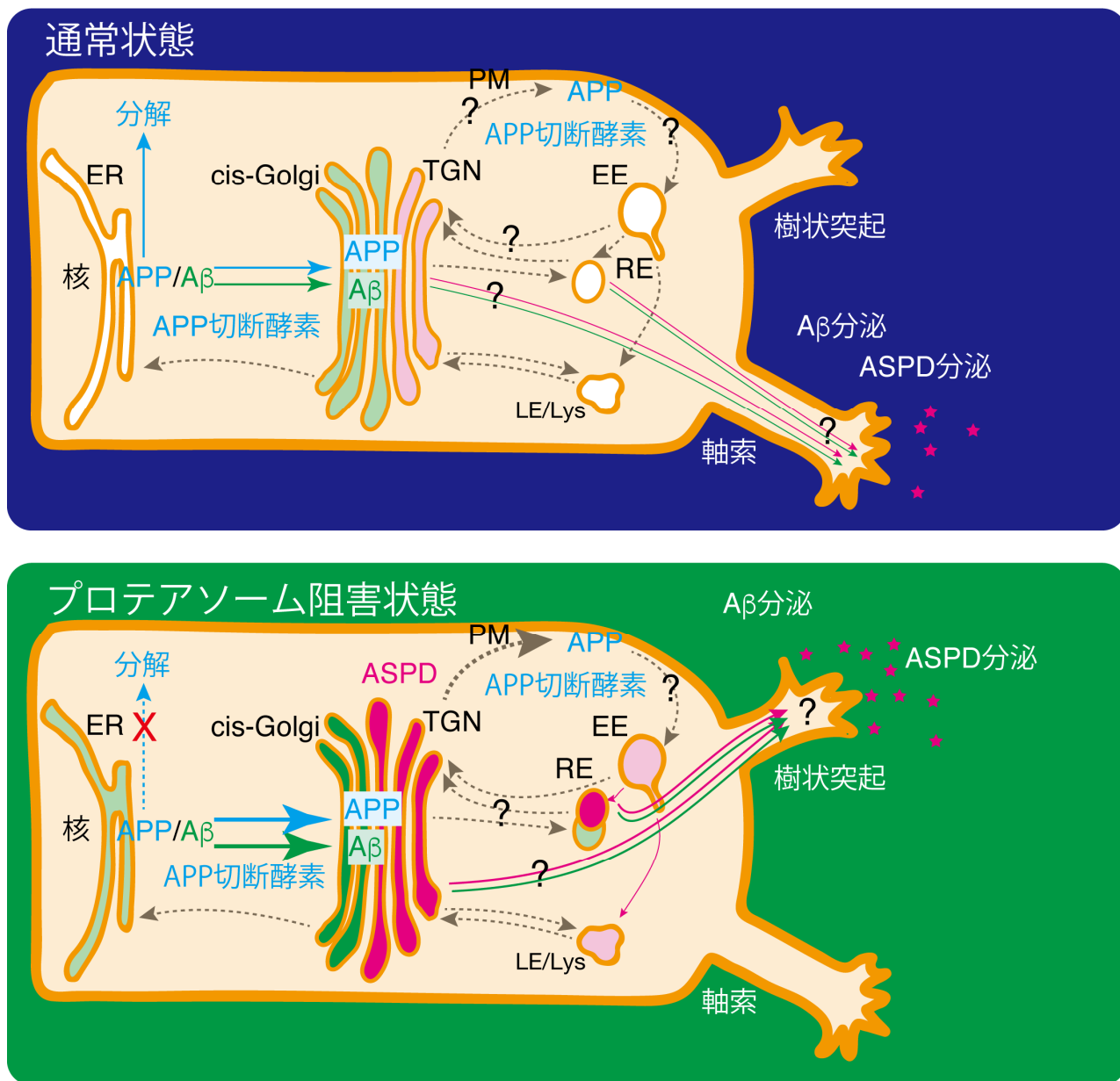


図2. 本研究より明らかになった APP、Aβ、ASPD の局在

通常状態（上パネル）では、APP は小胞体（ER）で合成され、一部はすぐに分解される。分解を受けなかった APP はシスゴルジ（cis-Golgi）、トランスゴルジネットワーク（TGN）と輸送され、細胞膜に運ばれる。APP は APP 切断酵素により切断され、Aβ を産生し、更に ASPD を形成する。ASPD は主にトランスゴルジネットワークに見られ、軸索へと輸送される。

プロテアソーム阻害状態（下パネル）では、合成された APP が分解を受けなくなり、APP の量が増加する。APP 量の増加に伴い、Aβ や ASPD の量も増加する。ASPD は主にトランスゴルジネットワークに蓄積し、小胞体やシスゴルジ、リサイクリングエンドソームにも蓄積する。プロテアソームの阻害により、ASPD の分布は軸索から樹状突起へと変化する。

ER;小胞体、cis-Golgi;シスゴルジ、TGN;トランスゴルジネットワーク、PM;細胞膜、EE;初期エンドソーム、RE;リサイクリングエンドソーム、LE;後期エンドソーム、Lys;リソソーム