

治療薬開発

小胞体ストレスの シャペロン誘導

KEY WORDS

- 小胞体
- シャペロン
- アポトーシス
- アミロイドβ蛋白

大阪大学大学院医学系研究科情報統合医学講座精神医学 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学教室 原 英彰
 大阪大学大学院医学系研究科情報統合医学講座精神医学 武田 雅俊

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さまざまな可能性が検討されているが、実用化に至ったものはいまだない。したがって、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。われわれは、従来からADの病態を小胞体(ER)ストレスに対する反応、すなわち、unfolded protein response (UPR)の見地から検討してきた。近年われわれは、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。

I. 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、

Takashi Kado(助教授)
 Kazunari Imaizumi(教授)
 Hideo Hara(教授)
 Masatoshi Takeda(教授)

さらなる 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 の蓄積が正しくない場合, 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, さらには CHOP を誘導し, アポトーシスを引き起こす (図 1)。したがって, UPR をなん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。

II. アルツハイマー病における神経変性と ER ストレス

われわれ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いだされた¹⁾。PS1 変異体神経細胞の UPR を検討すると, IRE1, PERK, ATF6 すべ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 ストレス脆弱性をきたしていることが示唆された¹⁾⁻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)。したがって, 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, 興味深いことに孤発性 AD 患者脳でも BiP 発現が低下していることが観察された⁴⁾。これは, AD の神経変性に共通して BiP 誘導障害すなわち UPR 障害が関与することを示唆する。

III. 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⁵⁾によれば, アミロイド β 蛋白 ($A\beta$) 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 $A\beta$ 代謝の関係にわれわれは注目した。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 側への逆行輸送に分子のをせるとされ⁶⁾, BiP が結合した APP も分

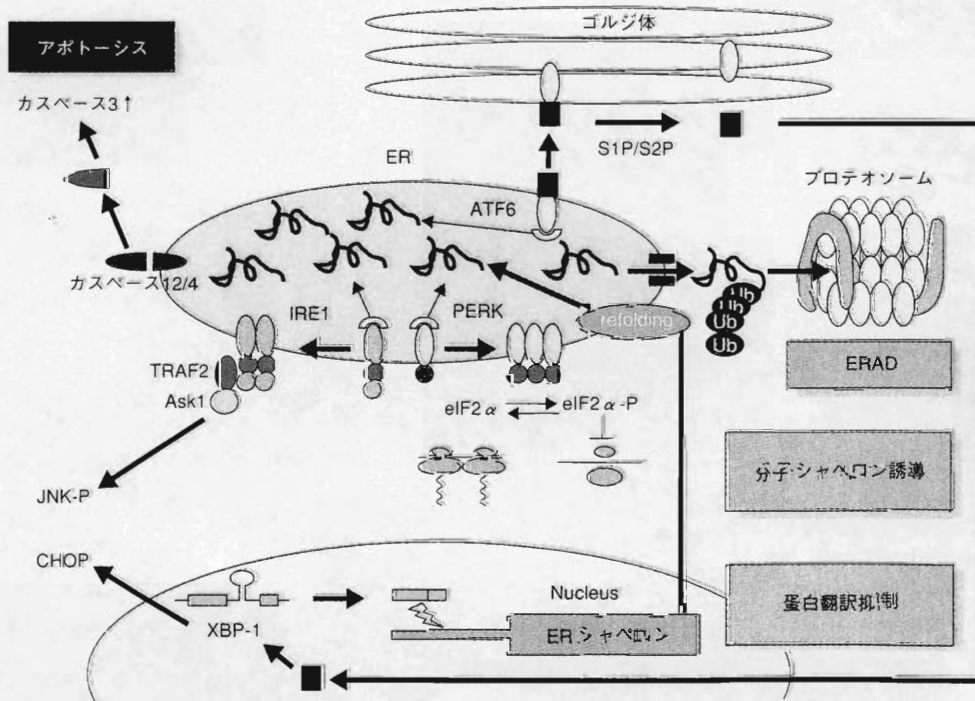


図 1. 小胞体 (ER) ストレス反応 (unfolded protein response : UPR) とアポトーシス

布をER側へ移す。Aβを産生するβおよび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⁾。

IV. シャペロン誘導剤の開発

以上述べたわれわれの知見から、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、われわれは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を誘導するコンパウンドの検索を開始した。その過程で、1つのコンパウンドを見だし、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の抗ERストレス効果について神

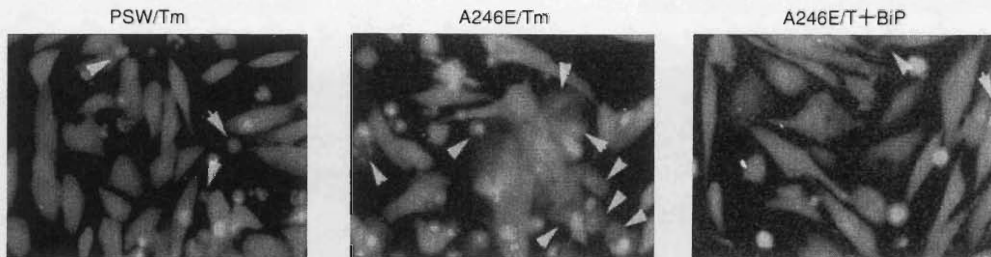


図2. プレセニリン1 (PS1) 変異体発現細胞のERストレス脆弱性とBiP誘導によるレスキュー¹⁾
PS1変異体(A246E)発現細胞は野生型(PSW)細胞に比し、ERストレス(チュニカマイシン:Tm)に脆弱性を示す(矢印は神経細胞死)が、あらかじめウイルスベクターを用いてBiPを発現させておくと、この脆弱性はレスキューできる。

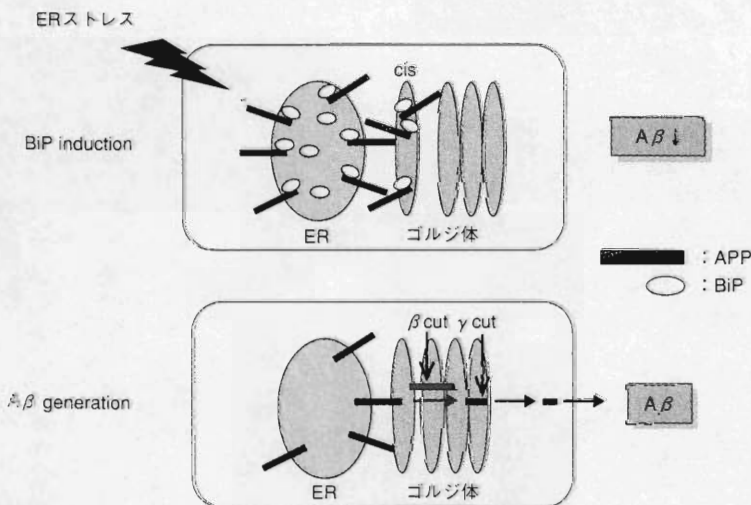


図3. アミロイド代謝とERストレス(シャペロン誘導: BiP)
ERストレスによって誘導されるシャペロンBiPはAPPと結合し、APPの局在をER側へシフトさせ、Aβを切り出すβ/γセクレターゼの分布からAPPを離すことで、Aβ産生を減少させる。

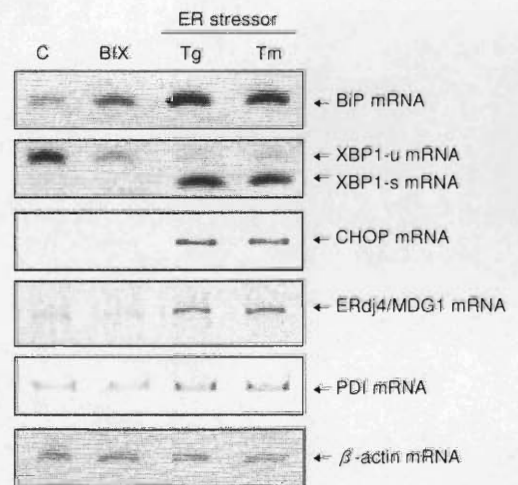


図4. BIXのBiP誘導効果とその他のERストレス
BIXはBiPのみを誘導し、サブシガルギン(Tg)やチュニカマイシン(Tm)などのERストレスラーが誘導するその他のERストレス分子は誘導しない。

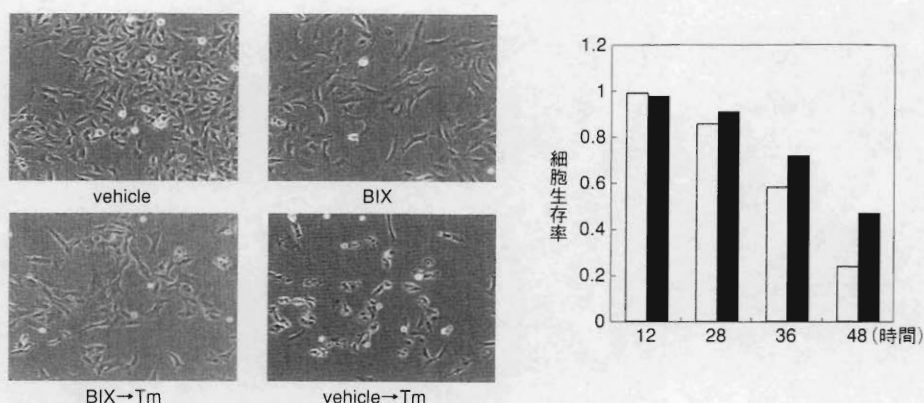


図5. BIXの抗ERストレス効果

□ : vehicle→Tm, ■ : BIX→Tm

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(チユニカマイシン:Tm)による神経細胞死を抑制できる。

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)。

このBIXの抗ERストレス効果についてわれわれは、*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。MCO 30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。

前述した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を低下させることが確認されている。

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、さら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 : 479-485, 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, Selkoe DJ : 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