

## アミロイド構造に着目した ハンチントン病発症機構の解明

独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター  
ユニットリーダー 田中 元雅



ハンチントン病は中高年で発症する遺伝性神経変性疾患であり、これまでに根本的な治療法は見出されていない。原因蛋白質ハンチンチンのエクソン1内にグルタミンリピートの異常な伸長を含む(約40リピート以上)ことが、その発症の原因であり、それによって脳内に凝集体を形成することがその大きな特徴である。原因蛋白質内の異常に伸長したポリグルタミン鎖は特異的な $\beta$ シートに富んだ構造をとり、それが線維状の凝集体(アミロイド)を形成する引き金となることがこれまでに明らかになっている。ところが、その原因蛋白質の凝集体自体に神経細胞に対する毒性があるのかは議論が分かれている。

これまで当研究室では、ハンチンチンのアミロイドには構造多形が存在し、その多形によって異なる細胞毒性をもたらすことを明らかにしてきた(Nekooki-Machida et al., PNAS, 2009)。本研究では、このようなハンチンチンのアミロイド構造の多形に着目し、ハンチントン病に顕著に観察される精神障害の発現とアミロイドとの相関の解明、さらには、老化がハンチンチンのアミロイドの構造にどのような影響を与えるかについて検討を行った。

当研究室では、ハンチンチンと、遺伝子変異が統合失調症や気分障害を含む広い家族性の精神障害に関わることが知られているDISC1 (Disrupted in schizophrenia) とがin vivoで結合していることをこれまでに見出している。そこで、DISC1がハンチントン病モデルマウスR6/2における核内凝集体に取り込まれているかを免疫染色によって調べたところ、DISC1がハンチンチン凝集体と共局在することが明らかになった。また、凝集体を膜上で捕捉するフィルタートラップ法によってもDISC1がハンチンチン凝集体に取り込まれ、また、界面活性剤に耐性になっていることを明らかにした(図1)。また、DISC1の凝集過程を吸光度で追跡すると、一定時間のラグタイムの後に自発的に凝集体を形成するが、微量のハンチンチン凝集体の存在が、そのDISC1の凝集化を著しく促進させることを明らかにした(図2)。さらに、その共凝集に伴うDISC1凝集体の構造は自発的に生成したDISC1凝集体の構造とは異なり、より多くの $\beta$ シート構造を含んでいることが赤外分光法から明らかになった。これらの結果は、ハンチンチン凝集体存在下における、DISC1の凝集に伴うその機能低下がハンチントン病に見られる精神障害の発現に深く関わっている可能性を示唆している。

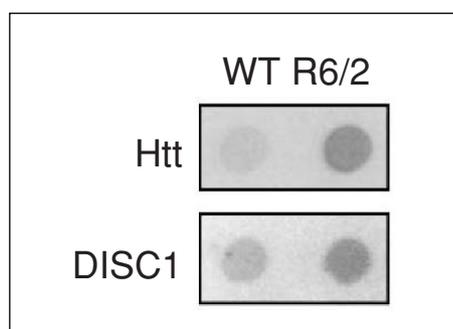


図1 DISC1はR6/2マウスにおいて界面活性剤に耐性の凝集体を形成する

野生型(WT)、ハンチントン病モデルマウス(R6/2)の脳ホモジネートをセルロース膜上で捕捉し、界面活性剤(2% SDS)で洗浄後、Htt抗体(上)、DISC1抗体(下)でブロッティングを行った結果を示す。

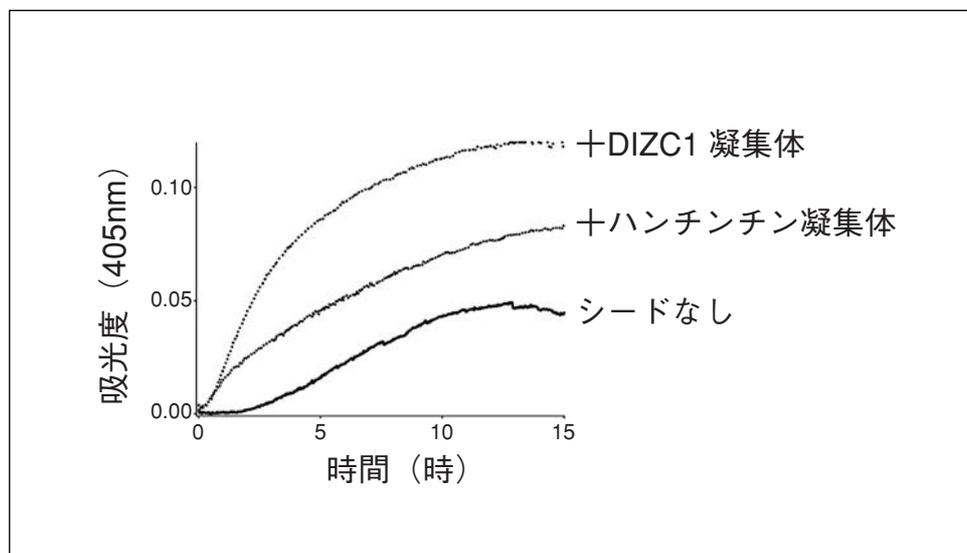


図2 ハンチンチン凝集体存在下でDISC 1の凝集化が加速する

少量のDISC 1凝集体またはハンチンチン凝集体の存在下、および非存在下で精製DISC 1の凝集過程を405nmの吸収（濁度）で追跡した結果を示す。

また、東京大学大学院薬学研究科三浦研究室との共同研究によって、老化がハンチンチンのアミロイド構造にどのような影響を与えるか検討を行った。若年期および老年期において、同じ期間（4日間）だけハンチンチンをDrosophilaの複眼に発現させることのできる系を用いることによって、若年期および老年期のみハンチンチン凝集体を形成させることができる。これまでの研究で、老年期にハンチンチン発現させたDrosophilaの方がより強い神経変性を引き起こすことが明らかになっている。しかし、その結果とハンチンチン凝集体との関係は不明であった。

本研究では、R6/2マウスを用いた時と同様の手法で各Drosophilaから若年期および老年期に形成したハンチンチン凝集体を単離、精製した。Drosophila由来の各凝集体の存在下で、精製ハンチンチン-エキソン1蛋白質の凝集過程を吸光度（405nm）でモニターしたところ、老年期の凝集体の方がハンチンチン-エキソン1蛋白質の凝集をより速く加速させ、両凝集体でハンチンチン-エキソン1蛋白質の凝集させ方が異なっていることが判明した。この結果はDrosophila由来の各凝集体の構造が異なることを示唆している。そこで次に、両者のハンチンチン凝集体の物理的性質をフィルタートラップ法によって検討した。その結果、老年期の凝集体の方が界面活性剤により弱いことが明らかになり、より脆弱な構造をしていることが示された（Tonoki et al., Genes Cells, 2011）。この結果は、これまで当研究室で明らかにした、線条体由来のアミロイドがより脆弱であり、より強い細胞毒性を示すという知見とも一致した（Nekooki-Machida et al., PNAS, 2009）。

以上の結果は、個体の年齢による細胞内環境の変化によってアミロイドの構造が変わりうる（構造多形を示しうる）こと、老化によって毒性のより高いアミロイド構造が形成されることを示しており、アミロイドの構造多形の制御が、細胞毒性を制御し、疾患治療戦略を立てる上で重要な因子になってくることを示している。