

# 神経変性疾患克服への展望

永井 義隆

近畿大学 医学部 内科学教室 脳神経内科部門

Toward developing therapy for neurodegenerative diseases

Yoshitaka Nagai, M.D., Ph.D.

Department of Neurology, Kindai University Faculty of Medicine

## 抄 録

アルツハイマー病, パーキンソン病, 筋萎縮性側索硬化症, 脊髄小脳変性症などの神経変性疾患は, 有効な治療法に乏しい難病である. 1990年代からの分子遺伝学的解析技術の進展によって多くの遺伝性疾患の原因遺伝子が同定され, 従来からの病理学的知見と併せて, 様々なタンパク質のミスフォールディング・凝集により神経変性が引き起こされるという広く普遍的な発症分子メカニズムが考えられるようになった. 筆者らは, 遺伝性疾患であるポリグルタミン病をモデルとして研究を進め, ペプチド QBP1 が異常伸長ポリグルタミンタンパク質の異常  $\beta$  シート構造転移・凝集を阻害し, 神経変性を抑制することを明らかにした. 続いて, 低分子化合物スクリーニングによりアルギニンの凝集阻害活性を見出し, ポリグルタミン病モデルショウジョウバエ, マウスへの有効性を明らかにし, 現在脊髄小脳失調症患者に対する医師主導治験を行っている. また, 分子シャペロンやオートファジー系タンパク質分解機構などタンパク質恒常性 (プロテオスタシス) 維持機構の応用による治療法開発も行ってきた. 一方, 遺伝子非翻訳領域内のリピート配列異常伸長を原因とするノンコーディングリピート病の1つ SCA31 について, リピート RNA に結合する TDP-43 が RNA シャペロンとして, 神経変性を抑制することを見出した. このような研究により, 近い将来に神経変性疾患が克服できることを期待している.

**Key words:** 神経変性疾患, ポリグルタミン病, ノンコーディングリピート病, タンパク質ミスフォールディング・凝集, RAN 翻訳, 分子標的治療法

### はじめに～神経変性疾患に共通する発症メカニズムとしてのタンパク質ミスフォールディング・凝集

アルツハイマー病, パーキンソン病, 筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: ALS), 脊髄小脳変性症, ハンチントン病などに代表される神経変性疾患は, それぞれ特定の領域の神経細胞が進行性に変性・脱落し, 様々な神経・精神症状を呈する一群の疾患群と定義されている. 病理学のおよび生化学的解析から, アルツハイマー病における老人斑, 神経原線維変化, パーキンソン病におけるレビー小体など, 脳内に様々なタンパク質からなる封

入体が蓄積することが知られていたが, これらのタンパク質封入体が神経変性の原因であるのか, 単なる変性の結果であるのかは長い間未解明であった. しかし, 1990年代からの分子遺伝学的解析手法の飛躍的な進展に伴って遺伝性神経変性疾患の原因遺伝子が次々に同定され, その結果, 変異タンパク質の多くがミスフォールディングして凝集しやすい性質を持つことが明らかにされた. 例えば, 家族性アルツハイマー病では原因遺伝子であるアミロイド前駆体タンパク質 (amyloid precursor protein; APP) やプレセニリン (presenilin-1, -2) の遺伝子変異により, 凝集性の高いアミロイド  $\beta$  (amyloid- $\beta$ ) が過

大阪府大阪狭山市大野東377-2 (〒589-8511)

受付 令和3年4月28日

DOI: 10.15100/00021773

剰に産生される<sup>1-3</sup>。αシヌクレイン遺伝子のミスセンス変異や重複変異により凝集性の高いαシヌクレイン(α-synuclein)が過剰に産生され、家族性パーキンソン病や類縁疾患であるレビー小体型認知症の原因となる<sup>4-6</sup>。家族性ALSでは、TAR DNA-binding protein 43 (TDP-43) 遺伝子の変異によりTDP-43の凝集性が促進される<sup>7,8</sup>。C9orf72遺伝子の変異によってもTDP-43の凝集・蓄積が引き起こされて家族性ALSや前頭側頭型認知症の原因となり<sup>9,10</sup>、一方でタウの遺伝子変異はタウの凝集・蓄積を認める前頭側頭型認知症の原因となる<sup>11</sup>。そして、様々な脊髄小脳失調症、ハンチントン病などでは、CAGリピート配列の異常伸長という特徴的な共通の遺伝子変異により凝集性の高い伸長ポリグルタミン鎖をもつ変異タンパク質が産生されて、神経変性が引き起こされる<sup>12,13</sup>。

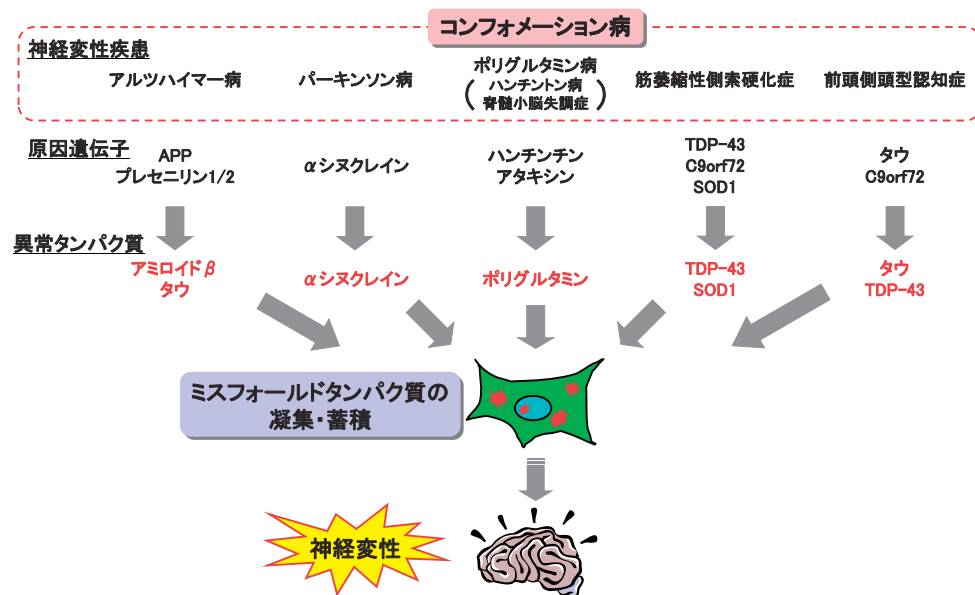
患者の大多数を占める孤発性疾患において脳内に封入体として凝集・蓄積しているタンパク質はこれらの遺伝性疾患と同様のタンパク質であり、注目すべきことに、このような疾患原因タンパク質はアミノ酸配列が全く異なるにも関わらず、いずれもβシート構造に富んだアミロイド線維状凝集体を形成することが明らかにされた。さらに、様々な神経変性疾患の遺伝子改変動物モデルにおいても、やはりこれらの疾患原因タンパク質が凝集・蓄積して神経変性を再現できることが実験的に証明された。以上のことから、これらの多彩な神経変性疾患において、様々なタンパク質のミスフォールディング・凝集により共通に神経変性が引き起こされるという広く普

遍的な発症分子メカニズムが考えられるようになり、これらの疾患はコンフォメーション病もしくはミスフォールディング病と総称されるようになった<sup>12,14-16</sup>(図1)。本稿では、これまで筆者らが進めてきた、タンパク質のミスフォールディング・凝集に焦点を当てた神経変性疾患に共通の発症メカニズムの解明、治療法の開発を目指した研究を中心に、神経変性疾患の治療法開発の展望について概説する。

#### ポリグルタミン病をモデルとしたタンパク質ミスフォールディング・凝集を標的とした治療法開発

上述のように、1990年代以降に多くの遺伝性神経変性疾患の原因遺伝子同定が進んだ結果、実に驚くべきことに、ハンチントン病、脊髄小脳失調症(spino-cerebellar ataxia: SCA) 1, 2, 3, 6, 7, 17型、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症、球脊髄性筋萎縮症(spino-bulbar muscular atrophy: SBMA)の9疾患において、原因遺伝子内のCAGリピート配列の異常伸長という共通の遺伝子変異が発見された。これらのCAG配列はいずれもグルタミンをコードし、異常伸長したポリグルタミン鎖を持つ変異タンパク質が産生されるため、これらはポリグルタミン病と総称されている<sup>12,13,17</sup>(表1)。ポリグルタミン病では、1)それぞれの疾患で異常伸長となるCAGリピート数の閾値が約35~40以上と共通しており、2)CAGリピート数と疾患の発症年齢・重症度とが相関する、さらに3)CAGリピートが次世代へさらに伸長して遺伝することにより疾患がより重症化する(表現促進現象)、などの臨床遺伝学的共通点が

図1. 神経変性疾患共通の発症分子メカニズムとしてのタンパク質ミスフォールディング・凝集



知られている。そして、これらの原因タンパク質は、ポリグルタミン鎖以外には相同性を持たず、一つの対立遺伝子の変異のみで発症する優性遺伝性を示す (SBMA 以外) ことから、ポリグルタミン病では異常伸長ポリグルタミン鎖自身が原因タンパク質の機能とは無関係に神経毒性を獲得 (gain of toxic function) して、共通のメカニズムで発症すると考えられている。ポリグルタミン病の発症分子メカニズムとして、異常伸長したポリグルタミン鎖を持つ変異タンパク質はミスフォールディングを生じてβシート構造への異常構造転移を起し、アミロイド線維様の凝集体を形成して神経細胞内に封入体として蓄

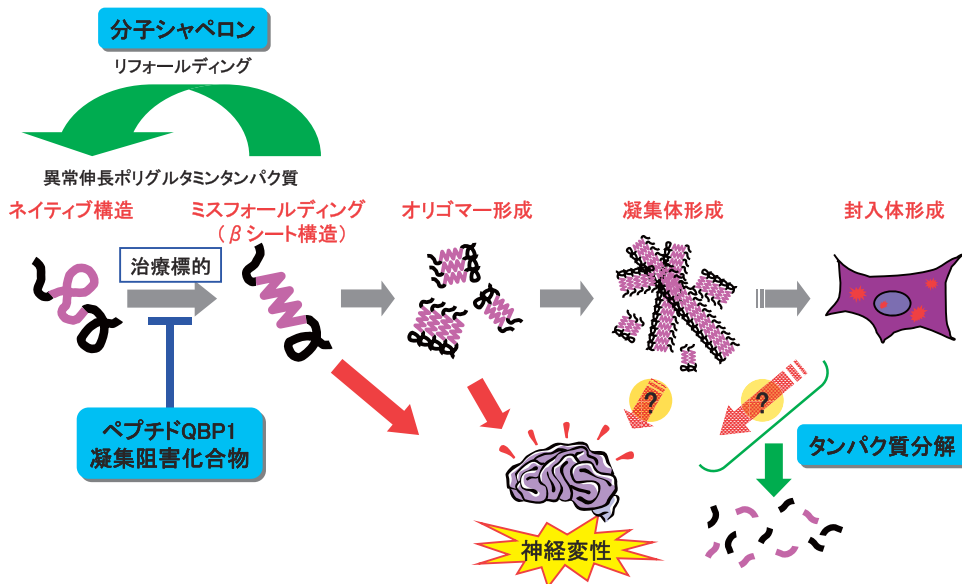
積し、その結果、細胞レベル・個体レベルで様々な神経機能異常をきたして最終的に神経変性を引き起こすと考えられている<sup>12,18</sup> (図2)。

筆者は、1) 環境因子の寄与が少ない遺伝性疾患であるため分子生物学的な解析に適しており、2) ポリグルタミン鎖長が神経毒性と相関するため早発型の遺伝子改変実験モデルを樹立しやすいという特徴から、ポリグルタミン病をモデルとしてタンパク質ミスフォールディング・凝集による共通の普遍的な神経変性メカニズムの解明、治療法の開発を目指した研究を進めてきた<sup>12,17</sup>。筆者らは、異常伸長ポリグルタミン鎖に特異的に結合する分子によりポリ

表1. ポリグルタミン病

疾患	遺伝形式	リピート配列	原因遺伝子	リピート長		病変部位
				正常	異常	
ハンチントン病 (HD)	AD	CAG	<i>huntingtin</i>	6~35	36~180	尾状核, 被殻, 大脳皮質
脊髄小脳失調症1型 (SCA1)	AD	CAG	<i>ataxin-1</i>	6~39	39~91	小脳皮質, 歯状核, 脳幹
脊髄小脳失調症2型 (SCA2)	AD	CAG	<i>ataxin-2</i>	14~31	32~200	小脳皮質, 大脳基底核, 脳幹, 脊髄
脊髄小脳失調症3型 (SCA3/MJD)	AD	CAG	<i>ataxin-3</i>	10~44	53~87	小脳歯状核, 大脳基底核, 脳幹, 脊髄
脊髄小脳失調症6型 (SCA6)	AD	CAG	<i>α1A calcium channel</i>	4~19	20~33	小脳皮質
脊髄小脳失調症7型 (SCA7)	AD	CAG	<i>ataxin-7</i>	4~35	34~306	小脳, 脳幹, 網膜
脊髄小脳失調症17型 (SCA17)	AD	CAG	<i>TATA box-binding protein</i>	25~44	45~63	小脳, 大脳皮質, 基底核
歯状核赤核淡着球ルイ体萎縮症 (DRPLA)	AD	CAG	<i>atrophin-1</i>	6~36	48~93	小脳歯状核, 赤核, 淡着球, 脳幹, 大脳皮質
球脊髄性筋萎縮症 (SBMA)	XR	CAG	<i>androgen receptor</i>	9~36	38~65	脊髄・延髄運動ニューロン

図2. ポリグルタミン病の発症分子メカニズムと治療標的



グルタミンタンパク質のミスフォールディング・凝集を阻害できる可能性を考え、フェージディスプレイスクリーニングにより異常伸長ポリグルタミン鎖に特異的に結合するペプチド QBP1 (SNWKW-WPGIFD) を同定した<sup>19</sup>。そして、実際に QBP1 が異常伸長ポリグルタミンタンパク質の異常  $\beta$  シート構造転移および凝集体形成を阻害して<sup>18</sup>、細胞毒性を抑制することを明らかにした。さらに、QBP1 の遺伝子発現や体外からの投与によりポリグルタミン病モデルショウジョウバエの神経変性が抑制されることを示し、*in vivo* での治療効果を明らかにした<sup>20, 21</sup> (図 2)。しかし、QBP1 は血液脳関門透過性が低いためにポリグルタミン病モデルマウスに対する治療効果は限定的であり<sup>22</sup>、治療薬としては脳移行性の高い低分子化合物アナログの分子デザインが必要である<sup>23, 24</sup>。

筆者らは、これまで得られた知見を基により高い脳内移行性が期待される低分子化合物からの創薬を目指して、ポリグルタミン凝集阻害活性を持つ低分子化合物のスクリーニングを行った。独自のポリグルタミンタンパク質凝集濁度アッセイ系 (US 特許)<sup>19</sup> を用いて、大規模な低分子化合物ライブラリー (約 46,000 化合物) からハイスループットスクリーニングを行い、約 100 種類の新規ポリグルタミン凝集阻害化合物を同定した (未発表)。このうちヒトへの安全性が示されている既存薬アルギニンに着目して研究を進め、ポリグルタミン病モデルショウジョウバエに投与した結果、ポリグルタミンタンパク質封入体および神経変性が抑制されることを明らかにした。続いて 2 種類のポリグルタミン病モデルマウスを用いて有効性の検証を進め、ヒト認可容量相当のアルギニンの経口投与により、脳内のポリグルタミンタンパク質封入体、神経変性および運動障害が抑制されることを明らかにした。さらに重要なことに、神経症状発症後からの投与でも有効性が確認できた<sup>17, 25</sup> (図 2)。以上の結果から、アルギニンの臨床応用を目指して、新潟大学・小野寺理博士らと共に脊髄小脳失調症 6 型 (SCA6) 患者に対する医師主導治療が進行中である。アルギニンは、タンパク質の構造を安定化させる化学シャペロン作用を持つことが知られており、ポリグルタミン以外の他の疾患原因タンパク質にも有効性を示すことが期待される。

#### 生体内のタンパク質恒常性 (プロテオスターシス) 維持機構を応用した治療法開発

一方、生体内にはタンパク質ミスフォールディング・凝集に対する防御機構としてタンパク質恒常性 (プロテオスターシス) の維持機構が備わっており、

分子シャペロンによるタンパク質のフォールディング介助、凝集抑制や、オートファジー・リソソーム系やユビキチン・プロテアソーム系タンパク質分解機構による凝集タンパク質の分解・除去などが知られている<sup>26, 27</sup>。このようなプロテオスターシス維持機構の活性化による神経変性疾患の治療への応用が試みられており、実際にポリグルタミン病やパーキンソン病のモデルマウス、ショウジョウバエにおいて分子シャペロンの遺伝子発現による神経変性抑制効果が示されている<sup>28-31</sup> (図 2)。筆者らは、薬剤での分子シャペロンの発現誘導による治療法開発を目指して、熱ショック転写因子活性化剤である 17-AAG の投与により Hsp70 や Hsp40 などの分子シャペロン群の発現が誘導され、ポリグルタミン病モデルショウジョウバエの神経変性が抑制されることを明らかにした<sup>32</sup>。さらに、ポリグルタミン病モデルマウスに対してウイルスベクターを用いた Hsp40 の遺伝子治療を行ったところ、ウイルス感染細胞だけでなく、予想外にも周囲の非感染細胞でもポリグルタミンタンパク質封入体が抑制されるという、非細胞自律的 (non-cell autonomous) な治療効果を認め<sup>33</sup>。続いて、培養細胞レベルでの細胞間相互作用解析を行った結果、Hsp40 や Hsp70 などの分子シャペロンがエクソソームと呼ばれる細胞外小胞にて細胞外に分泌され、周囲の細胞に取り込まれてポリグルタミン凝集体形成を抑制することを見出した。さらにポリグルタミン病モデルショウジョウバエを用いて、筋肉や脂肪などの末梢組織での Hsp70 や Hsp40 の発現による複眼変性抑制効果を示し、エクソソームを介した分子シャペロンの細胞間伝播が個体レベルのプロテオスターシス維持機構に寄与することを提唱した<sup>34</sup>。分子シャペロンは、タンパク質のミスフォールディング・凝集を原因とする様々な神経変性疾患に広い有効性を発揮することが期待される<sup>27</sup> (図 2)。

タンパク質分解機構として、ユビキチン・プロテアソーム系分解機構は基質タンパク質のアンフォールディングを必要とし、ユビキチンを付加してプロテアソームにて選択的に分解する。一方、オートファジー・リソソーム系分解機構では、タンパク質複合体やオルガネラなどの基質をオートファゴソームで取り囲んでリソソームに輸送して分解するため、タンパク質凝集体の分解にはより適していると考えられる<sup>26</sup>。オートファジーは従来非選択的な分解機構だと考えられていたが、最近ではミトコンドリアなどのオルガネラ、細胞内細菌、タンパク質凝集体などを選択的に分解する選択的オートファジーの研究が進んでいる。筆者らは、選択的オートファジーのア



ダブター分子として報告された p62 に着目し、その機能喪失によりポリグルタミンタンパク質のオリゴマー様凝集体が蓄積し、ポリグルタミン病モデルショウジョウバエの神経変性が増悪することを示した<sup>35</sup>。また、理化学研究所（当時）・貫名信行博士との共同研究にて、QBP1 を応用して異常伸長ポリグルタミンタンパク質を選択的に認識させてシャペロン介在性オートファジーにより分解することにより、ポリグルタミン病モデルマウスに対する治療効果を示した<sup>36</sup>。今後、ミスフォールドタンパク質の選択的分解促進はポリグルタミン病のみならず、様々な神経変性疾患の治療法開発へ向けて重要な治療戦略であると考えられる（図2）。

### 孤発性神経変性疾患におけるタンパク質ミスフォールディング・凝集を誘発する遺伝的・環境因子

これまで述べたように、筆者らは遺伝性疾患であるポリグルタミン病をモデルとして、タンパク質ミスフォールディング・凝集による普遍的な神経変性メカニズムの解明、治療法の開発を目指した研究を進めてきたが、患者の大多数を占める孤発性神経変性疾患において、変異を持たない野生型タンパク質がミスフォールディング・凝集するメカニズムは十分には解明されていない。孤発性神経変性疾患は様々な遺伝的因子と環境因子によって発症すると考えられるが、最近の網羅的なゲノム解析により、神経変性疾患の様々な遺伝的リスク因子が明らかにされつつある。

パーキンソン病や類縁疾患であるレビー小体型認知症において、患者脳で蓄積するレビー小体の構成タンパク質は  $\alpha$  シヌクレインであり<sup>37</sup>、一部の遺伝性疾患では  $\alpha$  シヌクレイン遺伝子のミスセンス変異や重複変異が原因となる<sup>4,5</sup>。一方、孤発性疾患パーキンソン病においても、ゲノムワイド関連解析から、 $\alpha$  シヌクレイン遺伝子内の 1 塩基多型 (Single nucleotide polymorphism: SNP) が発症リスク遺伝子となることが明らかにされ<sup>38,39</sup>、パーキンソン病の発症において  $\alpha$  シヌクレインが中心的な役割を果たすことが示唆された。注目すべきことに、孤発性疾患パーキンソン病の最も強いリスク遺伝子としてゴーシェ病の原因遺伝子グルコセレブロシダーゼ (glucocerebrosidase 1: GBA1) の遺伝子変異が明らかにされた<sup>40</sup>。筆者らは、その病態メカニズムを解明するために、 $\alpha$  シヌクレインを発現するパーキンソン病モデルショウジョウバエを用いた遺伝学的解析を行った。その結果、GBA1 遺伝子の機能喪失により基質グルコシルセラミドおよび異常構造  $\alpha$  シヌクレインが蓄積し、運動機能障害および神経変性が

増悪することを明らかにした。生化学的解析の結果、糖脂質グルコシルセラミドとの相互作用により  $\alpha$  シヌクレインの異常構造転移が促進されることを見出した。以上の結果から、糖脂質との相互作用により野生型  $\alpha$  シヌクレインの異常構造転移・凝集が促進されることが、孤発性疾患パーキンソン病の発症を引き起こす重要な分子メカニズムであると考えられた<sup>6,41</sup>。

一方、孤発性神経変性疾患の発症リスクとなる環境因子としては、臨床的疫学研究から教育歴、経済的因子、糖尿病、高血圧、喫煙、肥満、社会的孤立、食事、運動、睡眠などがアルツハイマー病のリスクとなることが知られている<sup>42</sup>。筆者らは、これらの環境因子のうちで、介入・コントロールにより発症予防効果が期待できる食事、運動、睡眠などのライフスタイル環境因子に着目して研究を進めている。睡眠障害は、アルツハイマー病やパーキンソン病など多くの神経変性疾患に共通して認められ、これらは睡眠-覚醒を制御する脳領域の神経変性の結果であると理解されてきたが、一方で、逆に神経変性の発症や進行に関わる危険因子としての可能性が示され、注目されている<sup>43</sup>。筆者らは、睡眠障害が神経変性病態に及ぼす影響とそのメカニズムを解明するために、アルツハイマー病モデルマウスに患者類似の慢性的な睡眠障害を誘導した。その結果、睡眠障害によりアミロイド  $\beta$  陽性の老人斑が増加し、その程度は睡眠障害の程度と相関することを明らかにした<sup>44</sup>。以上のことから、睡眠障害は神経変性疾患に共通するタンパク質の異常凝集・蓄積のリスク因子となる可能性が示唆された<sup>43</sup>。

### ノンコーディングリピート病におけるリピート関連非 AUG 依存性翻訳に着目した病態解明と治療法開発

上述のように、筆者らは多くの神経変性疾患に共通する普遍的な発症メカニズムとして、タンパク質ミスフォールディング・凝集に着目して、病態解明、治療法開発を目指した研究を進めてきたが、一方で、タンパク質をコードしない遺伝子非翻訳領域内のリピート配列の異常伸長変異により発症する一群の遺伝性神経変性疾患が知られており、これらはノンコーディングリピート病と総称されている<sup>45,46</sup>（表2）。例えば、脊髄小脳失調症 8 型 (SCA8) は ataxin-8OS 遺伝子の 3' 非翻訳領域内の CTG リピート配列、SCA31 は BEAN 遺伝子イントロンの TGGAA リピート配列、C9orf72 連鎖性 ALS では C9orf72 遺伝子 5' 非翻訳領域/イントロン内の GGGGCC リピート配列の異常伸長変異により発症する。ノンコーディングリピート病では、転写された異常伸長リピート

配列を持つ変異 RNA が様々な RNA 結合タンパク質を巻き込んで神経細胞内で RNA foci として凝集・蓄積し、異常 RNA 自身による毒性獲得 (RNA gain of function) もしくは RNA 結合タンパク質の機能喪失 (loss of function) による発症メカニズムが考えられてきた (図 3)。しかし驚くべきことに、これらの非翻訳領域内のリピート配列は開始コドン AUG を持たないにもかかわらず、変異リピート RNA を鋳型としてリピート関連非 AUG 依存性 (Repeat associated non-AUG: RAN) 翻訳と呼ばれる非古典的な翻訳機構によりポリペプチドが産生されることが発見され<sup>47</sup>、これらの RAN 翻訳ポリペプチド

が神経毒性を発揮することが明らかにされた<sup>48</sup>。この RAN 翻訳の発見を機に、原因リピート配列が遺伝子翻訳領域内か非翻訳領域内かによって別々に議論されていたリピート病において、リピートペプチドによる共通の病態メカニズムが見え始めてきた<sup>46</sup>。

筆者らは、東京医科歯科大学・水澤英洋博士 (現国立精神・神経医療研究センター)、石川欽也博士らと共に SCA31 の原因となる異常伸長 UGGAA リピート RNA を発現するショウジョウバエモデルを樹立し、異常伸長 UGGAA リピート RNA は患者と同様に RNA foci を形成し、RAN 翻訳によるリピートペプチドの蓄積を伴って神経変性を引き起こすこ

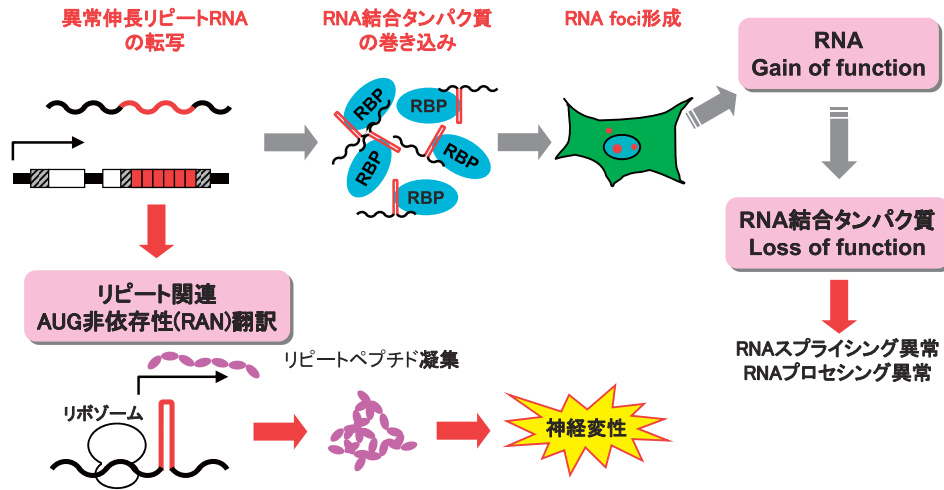
表 2. ノンコーディングリピート病

疾患	遺伝形式	リピート配列	原因遺伝子	リピートの位置	リピート長	
					正常	異常
筋強直性ジストロフィー 1 型 (DM1)	AD	CTG	<i>DMPK</i>	3'-UTR	5~38	50~>2000
筋強直性ジストロフィー 2 型 (DM2)	AD	CCTG	<i>ZNF9</i>	intron	10~26	75~11000
脊髄小脳失調症 8 型 (SCA8)	AD	CTG	<i>ataxin-8OS</i>	3'-UTR	15~50	71~1300
脊髄小脳失調症 10 型 (SCA10)	AD	ATTCT	<i>E46L</i>	intron	10~29	280~4500
脊髄小脳失調症 12 型 (SCA12)	AD	CAG	<i>PPP2R2B</i>	5'-UTR	7~45	51~78
脊髄小脳失調症 31 型 (SCA31)	AD	TGGAA	<i>BEAN</i>	intron	0	500~760
脊髄小脳失調症 36 型 (SCA36)	AD	GGCCTG	<i>NOP56</i>	intron	3~8	650~2500
脊髄小脳失調症 37 型 (SCA37)	AD	ATTTTC	<i>DABI</i>	intron	0	31~75
C9orf72 連鎖性筋萎縮性側索硬化症/ 前頭側頭型認知症 (C9-ALS/FTD)	AD	GGGGCC	<i>C9orf72</i>	5'-UTR/ intron	2~23	700~1600
ハンチントン病類縁疾患 2 型 (HDL2)	AD	CTG	<i>JPH-3</i>	3'-UTR	6~28	41~58
良性成人型家族性 ミオクロノスτέんかん 1 型 (BAFME1)	AD	TTTCA	<i>SAMD12</i>	intron	0	440~3680*
良性成人型家族性 ミオクロノスτέんかん 2 型 (BAFME2)	AD	TTTCA	<i>STARD7</i>	intron	0	600~900?
良性成人型家族性 ミオクロノスτέんかん 3 型 (BAFME3)	AD	TTTCA	<i>MARCH6</i>	intron	0	660~2800*
良性成人型家族性 ミオクロノスτέんかん 4 型 (BAFME4)	AD	TTTCA	<i>YEATS2</i>	intron	0	1000~1600*
良性成人型家族性 ミオクロノスτέんかん 6 型 (BAFME6)	AD	TTTCA	<i>TNRC6A</i>	intron	0	~1100*
良性成人型家族性 ミオクロノスτέんかん 7 型 (BAFME7)	AD	TTTCA	<i>RAPGEF2</i>	intron	0	~2200*
神経核内封入体病 (NIID)	AD	CGG	<i>NOTCH2NLC</i>	5'-UTR	50<	70~220
眼咽頭遠位型ミオパチー 1 型 (OPDM)	AD	CGG	<i>LRP12</i>	5'-UTR	13~45	>75
眼咽頭遠位型ミオパチー 2 型 (OPDM2)	AD	CGG	<i>GIPC1</i>	5'-UTR	12~32	73~164
白質脳症を伴う眼咽頭型ミオパチー (OPML)	AD	CGG	<i>LOC642361/ NUTM2B-AS1</i>	noncoding	3~16	?**
脆弱 X 関連振戦/失調症候群 (FXTAS)	XD	CGG	<i>FMR1</i>	5'-UTR	5~40	55~200

\*TTTCA リピートおよび TTTTA リピートを合わせた長さ

\*\*体細胞不安定性のためにリピート長測定困難

図3. ノンコーディングリピート病の発症分子メカニズム：リピート関連 AUG 非依存性翻訳 (RAN 翻訳) の発見



とを示した。そして、UGGAA リピート RNA 結合タンパク質として ALS の原因タンパク質である TDP-43 を同定し、TDP-43 が RNA 凝集および RAN 翻訳を抑制する RNA シャペロンとして働き、神経変性を抑制することを見出した。逆に、変異型 TDP-43 を発現する ALS モデルショウジョウバエにおいて、UGGAA リピート RNA の発現により TDP-43 の凝集、神経変性を抑制することを明らかにした<sup>49</sup>。以上の結果から、TDP-43 の RNA シャペロンとしての新機能が明らかになり、さらに RNA と RNA 結合タンパク質間のクロストークの均衡の破綻により SCA31 などの変異 RNA が原因となるノンコーディングリピート病と ALS などの RNA 結合タンパク質の凝集が原因となる疾患の両病態が発症することが示唆された<sup>50</sup>。

おわりに

これまで述べたように、神経変性疾患の研究は分子遺伝学的解析技術の飛躍的な進展を機に爆発的に進み、原因遺伝子の同定から引き続く分子生物学解析により発症メカニズムが分子レベルで明らかになりつつあり、その病態メカニズムに基づいた分子標的治療の開発を目指した研究が進んでいる。その結果、タンパク質のミスフォールディング・凝集が、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、ポリグルタミン病など多くの神経変性疾患に共通する普遍的な神経変性メカニズムとして、重要な役割を果たすと考えられるようになった。興味深いことに、これらの疾患原因タンパク質凝集体はいずれもβシート構造に富んだ共通のアミロイド線維構造を持つことから、この共通構造を認識するよ

うな凝集阻害薬は多くの神経変性疾患に広く応用できる可能性がある。

今後、神経変性疾患に対する分子標的治療薬の開発がさらに進むと考えられるが、治療薬候補の臨床応用へ向けて、解決すべき大きな課題がある。第一に、神経変性疾患は緩徐進行性であるため、これらの病態抑制治療法 (disease-modifying therapy) の有効性の評価には長期間を要すると考えられ、従来の対症治療法 (symptomatic therapy) と同様の臨床症状による評価ではなく、短期間での薬効評価に適した鋭敏な病態バイオマーカーの開発が必要である。第二に、多くの神経変性疾患は孤発性発症であるため発症前での診断は困難であり、患者が診断を受けた時点では既に分子病態は進行していると考えられる。したがって、より早期から治療薬候補の介入試験を行うためには、臨床症状の発現前から発症を予測できる診断バイオマーカーの開発が望まれている。現在、アミロイドやタウ PET をはじめとする様々な画像診断法や、脳脊髄液や血液などの体液中に含まれるタンパク質や核酸を評価する生化学バイオマーカーの探索が精力的に進められている。このように、これまでは難病とされていた神経変性疾患に対する治療薬の開発研究が進んでおり、近い将来に神経変性疾患が克服できることを期待している。

謝 辞

本稿で紹介した研究の遂行にあたり、実験を行っていた大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝学ならびに神経難病認知症探索治療学、国立精神・神経医療研究センター疾病研究第四部の研究室メンバー、ご指導いただいた先生方、そして共同研究を行っていただいた多くの先生方に深謝いたします。

## 文 献

1. Goate A, et al. (1991) Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349: 704-706
2. Sherrington R, et al. (1995) Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 375: 754-760
3. Latimer CS, Lucot KL, Keene CD, Cholerton B, Montine TJ (2021) Genetic insights into Alzheimer's disease. *Annu Rev Pathol* 16: 351-376
4. Polymeropoulos MH, et al. (1997) Mutation in the  $\alpha$ -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 276: 2045-2047
5. Singleton AB, et al. (2003)  $\alpha$ -synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science* 302: 841
6. Suzuki M, Sango K, Wada K, Nagai Y (2018) Pathological role of lipid interaction with  $\alpha$ -synuclein in Parkinson's disease. *Neurochem Int* 119: 97-106
7. Sreedharan J, et al. (2008) TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 319: 1668-1672
8. Kim G, Gautier O, Tassoni-Tsuchida E, Ma XR, Gitler AD (2020) ALS genetics: gains, losses, and implications for future therapies. *Neuron* 108: 822-842
9. DeJesus-Hernandez M, et al. (2011) Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of *C9ORF72* causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron* 72: 245-256
10. Renton AE, et al. (2011) A hexanucleotide repeat expansion in *C9ORF72* is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron* 72: 257-268
11. Hutton M, Lendon CL, Heutink P (1998) Association of missense and 5'-splice-site mutations in *tau* with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 393: 702-705
12. Nagai Y, Popiel HA (2008) Conformational changes and aggregation of expanded polyglutamine proteins as therapeutic targets of the polyglutamine diseases: exposed beta-sheet hypothesis. *Curr Pharm Des* 14: 3267-3279
13. Takeuchi T, Nagai Y (2017) Protein misfolding and aggregation as a therapeutic target for polyglutamine diseases. *Brain Sci* 7: 128
14. Carrell RW, Lomas DA (1997) Conformational disease. *Lancet* 350: 134-138
15. Soto C (2003) Unfolding the role of protein misfolding in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 4: 49-60
16. Ross CA, Poirier MA (2005) What is the role of protein aggregation in neurodegeneration? *Nat Rev Mol Cell Biol* 6: 891-898
17. Minakawa EN, Nagai Y (2021) Protein aggregation inhibitors as disease-modifying therapies for polyglutamine diseases. *Front Neurosci* 15: 621996
18. Nagai Y, et al. (2007) A toxic monomeric conformer of the polyglutamine protein. *Nat Struct Mol Biol* 14: 332-340
19. Nagai Y, et al. (2000) Inhibition of polyglutamine protein aggregation and cell death by novel peptides identified by phage display screening. *J Biol Chem* 275: 10437-10442
20. Nagai Y, et al. (2003) Prevention of polyglutamine oligomerization and neurodegeneration by the peptide inhibitor QBP1 in *Drosophila*. *Hum Mol Genet* 12: 1253-1259
21. Popiel HA, Nagai Y, Fujikake N, Toda T (2007) Protein transduction domain-mediated delivery of QBP1 suppresses polyglutamine-induced neurodegeneration *in vivo*. *Mol Ther* 15: 303-309
22. Popiel HA, Nagai Y, Fujikake N, Toda T (2009) Delivery of the aggregate inhibitor peptide QBP1 into the mouse brain using PTDs and its therapeutic effect on polyglutamine disease mice. *Neurosci Lett* 449: 87-92
23. Tomita K, et al. (2009) Structure-activity relationship study on polyglutamine binding peptide QBP1. *Bioorg Med Chem* 17: 1259-1263
24. Popiel HA, et al. (2013) Inhibition of protein misfolding/aggregation using polyglutamine binding peptide QBP1 as a therapy for the polyglutamine diseases. *Neurotherapeutics* 10: 440-446
25. Minakawa EN, et al. (2020) Arginine is a disease modifier for polyQ disease models that stabilizes polyQ protein conformation. *Brain* 143: 1811-1825
26. Naiki H, Nagai Y (2009) Molecular pathogenesis of protein misfolding diseases: pathological molecular environments versus quality control systems against misfolded proteins. *J Biochem* 146: 751-756
27. Nagai Y, Fujikake N, Popiel HA, Wada K (2010) Induction of molecular chaperones as a therapeutic strategy for the polyglutamine diseases. *Curr Pharm Biotechnol* 11: 188-197
28. Auluck PK, Chan HYE, Trojanowski JQ, Lee VM-Y, Bonini NM (2002) Chaperone suppression of  $\alpha$ -synuclein toxicity in a *Drosophila* model for Parkinson's disease. *Science* 295: 865-868
29. Klucken J, Shin Y, Masliah E, Hyman BT, McLean PJ (2004) Hsp70 reduces  $\alpha$ -synuclein aggregation and toxicity. *J Biol Chem* 279: 25497-25502
30. Warrick JM, et al. (1999) Suppression of polyglutamine-mediated neurodegeneration in *Drosophila* by the molecular chaperone HSP70. *Nat Genet* 23: 425-428
31. Cummings CJ, et al. (2001) Over-expression of inducible HSP70 chaperone suppresses neuropathology and improves motor function in *SCA1* mice. *Hum Mol Genet* 10: 1511-1518
32. Fujikake N, et al. (2008) Heat shock transcription factor 1-activating compounds suppress polyglutamine-induced neurodegeneration through induction of multiple molecular chaperones. *J Biol Chem* 283: 26188-26197
33. Popiel HA, et al. (2012) Hsp40 gene therapy exerts therapeutic effects on polyglutamine disease mice via a non-cell autonomous mechanism. *PLoS One* 7: e51069



34. Takeuchi T, et al. (2015) Intercellular chaperone transmission via exosomes contributes to maintenance of protein homeostasis at the organismal level. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112: E2497–2506
35. Saitoh Y, et al. (2015) p62 plays a protective role in the autophagic degradation of polyglutamine protein oligomers in polyglutamine disease model flies. *J Biol Chem* 290: 1442–1453
36. Bauer PO, et al. (2010) Harnessing chaperone-mediated autophagy for the selective degradation of mutant huntingtin protein. *Nat Biotechnol* 28: 256–263
37. Spillantini MG, et al. (1997)  $\alpha$ -synuclein in Lewy bodies. *Nature* 388: 839–840
38. Satake W, et al. (2009) Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet* 41: 1303–1307
39. Simón-Sánchez J, et al. (2009) Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet* 41: 1308–1312
40. Sidransky E, et al. (2009) Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 361: 1651–1661
41. Suzuki M, et al. (2015) Glucocerebrosidase deficiency accelerates the accumulation of proteinase K-resistant  $\alpha$ -synuclein and aggravates neurodegeneration in a *Drosophila* model of Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 24: 6675–6686
42. Livingston G, et al. (2017) Dementia prevention, intervention, and care. *Lancet* 390: 2673–2734
43. Minakawa EN, Wada K, Nagai Y (2019) Sleep disturbance as a potential modifiable risk factor for Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci* 20: 803
44. Minakawa EN, et al. (2017) Chronic sleep fragmentation exacerbates amyloid  $\beta$  deposition in Alzheimer's disease model mice. *Neurosci Lett* 653: 362–369
45. Rodriguez CM, Todd PK (2019) New pathologic mechanisms in nucleotide repeat expansion disorders. *Neurobiol Dis* 130: 104515
46. 永井義隆 (2020) リポート病研究の新展開. *実験医学* 38: 2152–2158
47. Zu T, et al. (2011) Non-ATG-initiated translation directed by microsatellite expansions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 260–265
48. Mizielinska S, et al. (2014) *C9orf72* repeat expansions cause neurodegeneration in *Drosophila* through arginine-rich proteins. *Science* 345: 1192–1194
49. Ishiguro T, et al. (2017) Regulatory role of RNA chaperone TDP-43 for RNA misfolding and repeat-associated translation in SCA31. *Neuron* 94: 108–124
50. Ishiguro T, Nagai Y, Ishikawa K (2021) Insight into spinocerebellar ataxia type 31 (SCA31) from *Drosophila* model. *Front Neurosci* (in press)