

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2008-2012

課題番号：20228006

研究課題名(和文) 認知症における微小管重合調節異常と薬剤探索

研究課題名(英文) Drug Discovery of Alzheimer Disease from Molecules- Regulating Microtubule Polymerization

研究代表者

内田隆史 (UCHIDA TAKAFUMI)

東北大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：80312239

研究分野：農学

科研費の分科・細目：境界農学・応用分子細胞生物学

キーワード：アルツハイマー病, 微小管重合, 微小管関連タンパク質, 機能調節剤, プロリン異性化酵素

1. 研究計画の概要

脳神経に特異的に存在し、微小管の重合を促進するタンパク質であるタウは、過剰なリン酸化をうけ、変性・凝集し、アルツハイマー病(AD)の原因になると考えられてきたが、我々は、ADの本質的な病因は、タウではなくて微小管重合の低下だと考えた。

本研究では、第一にこの仮説の妥当性を検討し、第二に、微小管重合制御蛋白質の同定と作用機構の解明し、第三に、この仮説に基づき、AD型認知症の予防・治療に効果のある薬剤や飲食物品を発見することである。

2. 研究の進捗状況

(1) 微小管重合制御タンパク質

① hGas7b: リン酸化タウと結合するタンパク質を探索し、hGas7bを見出した。hGas7bは、脳神経に特異的に存在し微小管重合促進能を有し(Uchida T, *J Mol Biol* '09, 391, 849)、AD脳で減少していることを見出した(Akiyama H, *J Biol Chem* '09, 284, 32695)。現在、マウスGas7bのコンディショナルKOマウスを作成している。

② Pin1: Pin1-KOマウスを用いて、Pin1が、TGF β シグナル伝達の制御(Nakano A, *J Biol Chem* '09, 284, 6109、Matsuura I, *J Biol Chem* '10, 285, 1754、パラサイロイドホルモン量の制御(Nechama M, *J Clin Invest* '10, 119, 3103、アレルギーショックの調節(Akiyama H, *PLoS One* '11, 6(2):e14656、インシュリンシグナル伝達分子IRS-1の活性化(Nakatsu Y, *J Biol Chem* '11, in press)、CREB転写因子の転写活性抑制(Nakatsu Y, *J Biol Chem* '10, 285,

33018、タウオパチーの発症抑制(Yotsumoto K, *J Biol Chem* '09, 284, 16840)に関与していることを示した。

(2) 微小管重合制御化合物

① PPIase活性調節剤の高速スクリーニング法を確立し(Mori T, *J Biomol Screen* '09, 14, 419)、阻害剤DTM(Tatara Y, *Biochem Biophys Res Commun* '09, 74, 2480)、TME-1(Mori T, *Biochem Biophys Res Commun* '11, 406, 439)を見出した。活性促進剤は発見できなかったため、Tat-Pin1を作成した。Tat-Pin1は細胞内に侵入しPin1として機能した(Ohashi T, *Biosci Biotech Biochem* '11, 74, 2067)。

② 微小管重合を促進・阻害する天然物は1万種以上検討したがヒットはなく、現在、タクソールの誘導体について検討している

3. 現在までの達成度

① 当初の計画以上に進展している。

(理由)

(1) 微小管重合制御タンパク質の研究は、当初の計画以上に進展した。

① hGas7bに関し、ナノおよび個体レベルでの機能解明を、X線構造解析およびhGas7bコンディショナルKOマウス解析でそれぞれ行う。hGas7bの結晶は作成中。マウス作成は、コンストラクト遺伝子がES細胞に入った。

② Pin1の生物機能として、生活習慣病やアレルギーショック抑制効果を新たに見出した。

(2) 微小管重合制御化合物その活性調節剤探索に関しては計画以上に進展した。

① Pin1 阻害剤の高速スクリーニング法を構築した。実際に、DTMおよびTME-1を発見した。Tat-Pin1 を作製し細胞内でのPin1 濃度をあげた。

② 微小管重合を促進または抑制するタキサン誘導体を見出した。

4. 今後の研究の推進方策

(1)① hGas7bに関し、その作用機構をX線構造解析により、また、生物機能をコンディショナルKOマウスにより明らかにする研究を推進する。

② Pin1 がADの発症を予防するかを明確にするため、Pin1-コンディショナルKOマウスの作成を推進する。

(2) ①より安全で効果の強い Tat-Pin1 の作成を推進する。

② 化合物の探索は効率が悪いので当面中止する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 22 件)

1. Akiyama H, Misawa T, Ono M, Uchida C, and Uchida T (2011) Prolyl isomerase Pin1 protects mice from endotoxin shock *PLoS One*, e14656. (査読有り)
2. Mori, T, Hidaka M, Lin Y, Yoshizawa I, Okabe T, Egashira S, Kojima H, Nagano T, Koketsu M, Takamiya, M and Uchida T (2011) A dual inhibitor against prolyl isomerase Pin1 and cyclophilin discovered by a novel real-time fluorescence detection method. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 406, 439-443. (査読有り)
3. Uchida T, Akiyama H, Sakamoto W, Koga T, Yan, K., Uchida C, Hirose K and Itoh JT (2009) Direct Optical Microscopic Observation of the Microtubule Polymerization Intermediate Sheet Structure in the Presence of Gas7. *J Mol Biol*, 391, 849-857. (査読有り)
4. Akiyama H, Gotoh A, Shin RW, Koga T, Ohashi T, Sakamoto W, Arai H, Harada A, Sawa A, Uchida C, and Uchida T (2009) hGas7b that promotes tubulin polymerization is decreased in Alzheimer's disease brain. *J Biol Chem*, 284, 32695-32699. (査読有り)
5. Nechama M, Uchida T, Yosef-Levi IM, Silver J and Naveh-Many T (2009) The

peptidyl-prolyl isomerase Pin1 determines parathyroid hormone mRNA levels and stability in secondary hyperparathyroidism. *J Clin Invest*, 119, 3103- 3114. (査読有り)

[学会発表] (計105件)

1. Masafumi Hidaka, Tomoe Koga, Aina Goto, Hideo Higuchi, and Takafumi Uchida, hGas7b Enhances Microtubule Polymerization but Blocks Kinesin Movement on Microtubule, 4th Mechanobiology Workshop: Actin, The Cytoskeleton and the Nucleus, 2010年11月10日、シンガポール
2. 藤田彩子・甲賀友恵・後藤愛那・坂本渉・寺川貴裕・内田隆史、微小管重合制御因子の探索、日本農芸化学会大会, 2010年3月28日、東京
3. 吉澤いぶき・林宜瑾・坂場義正・多田羅洋太・須田義人・瀬瀬守・豊原治彦・塩見和朗・大村智・山下まり・森正・内田隆史、Pin1 阻害剤の探索系の確立、日本農芸化学会大会 2010年3月28日、東京
4. TADASHI MORI, SEIMA ITAMI, MARI TAKAMIYA, TSUTOMU KAMIYAMA, and TAKAFUMI UCHIDA、Establishment of High-Throughput Screening for Prolyl Isomerase Inhibitors with Real-time Fluorescence Monitoring System, 16th SBS annual meeting 2009年4月11日、フェニックス、米国
5. 坂本渉・林宜瑾・甲賀友恵・瀬瀬守・奥田徹・内田隆史、微小管重合を調節するタンパク質および化学物質の探索、日本農芸化学会大会 2009年3月28日、福岡

[その他] 研究室ホームページ

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/enzyme/index-j.html>