

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24390220

研究課題名(和文)細胞核内タンパク質品質管理機構の解明によるポリグルタミン病の新規病態解明

研究課題名(英文)Therapeutics for polyglutamine diseases through protein degradation pathway:
Targeting the nucleus

研究代表者

岩田 淳(Iwata, Atsushi)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：40401038

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：ポリグルタミン(pQ)病は遺伝子内のCAG繰り返しの延長により翻訳産物中のグルタミン(Q)鎖の延長が生じて発症する。Q鎖は遺伝子産物全体の構造を不安定にし、凝集させ細胞核内での毒性を発揮する。pQ病の治療戦略を考える際には細胞核内の凝集タンパク質分解経路を理解する事が重要となる。細胞核内ではオートファジーが機能せず、ユビキチンプロテアソーム(UPS)系のみが主なタンパク質分解経路となる。我々は、まず細胞核内で機能するpQ認識E3としてUHRF2を特定した。このため、このUHRF2の活性化は治療戦略の一つとなる事を示した。さらに、我々は、HDAC3が細胞核内のUPS系を制御する事を発見した。

研究成果の概要(英文)：Polyglutamine diseases are caused by cytosine-adenine-guanine (CAG) trinucleotide expansions that are translated to a polyglutamine (pQ) chain in specific genes. This pQ chains tend to destabilize the entire proteins making them aggregate. The aggregates are especially toxic in the nucleus for a variety of reasons. Thus, for treating pQ diseases, targeting the nuclear pQ aggregates for degradation seems to be a promising approach. The nuclear ubiquitin proteasome system is the only major protein degradation machinery in the nucleus since the autophagy lysosome system, cannot function in the nucleus. We found that ubiquitin ligase UHRF2 recognizes and promotes nuclear pQ degradation, thus activation of these ubiquitin ligases could be one of the therapeutic approaches. In addition, we also found that one of the histone deacetylases (HDAC), HDAC3, regulates the nuclear ubiquitin proteasome system.

研究分野：神経内科学

キーワード：polyglutamine ubiquitin proteasome HDAC3 UHRF2

1. 研究開始当初の背景

分子生物学的手法の導入により神経変性疾患の発症機構の解明が進み、中でも遺伝性神経変性疾患の原因遺伝子の特定以降知見が飛躍的に増加した。特に、ハンチントン病をはじめとしたポリグルタミン(pQ)病の研究は培養細胞、実験動物モデルの構築が比較的容易であるため神経変性疾患全体の病態解明の端緒を常に開いてきた。

神経変性疾患の根本治療には凝集タンパク質の分解、すなわちタンパク質品質管理機構の強化が有効と考えられ、様々な角度より研究が進んでいる。実際、凝集タンパク質の発現をコントロール可能なモデルマウスではその発現を停止することで凝集タンパク質が分解され、症状が改善することが報告されている。現在まで、pQ凝集タンパク質分解機構についての研究は主に細胞質での分解機構であったが、pQ病の病理学的特徴は核内での凝集タンパク質蓄積であり、また、pQ凝集タンパク質は核内でより強い毒性を有することが報告されている。それにもかかわらず、核内での分解機構すなわちタンパク質品質管理機構の解明がほとんど進んでいないという問題の一因には基礎生物学の分野でもそれらの知見がほとんどないことがあげられる上、漠然と細胞質のタンパク質分解経路が細胞核内でも機能するのではないかという一種の思い込みがあったことは否定できない。細胞内でのタンパク質品質管理機構にはユビキチン・プロテアソーム(UPS)、オートファジー・ライソソーム系、その他の細胞質タンパク分解酵素に大別され、それらの制御機構、実行機構については様々な角度から解明が進んだ結果、それぞれの機構が時には独立し、時には共同して細胞質でのタンパク質品質管理を遂行していることが判明してきた。UPSとオートファジーの神経変性疾患における役割の解明は一つのブレイクスルーであり、その発症機構について非常に重要な知見を提示するに至ったが、その中で応募者はオートファジーによる核内凝集タンパク質の分解能力の欠如をみだしている。分裂細胞では、細胞分裂時に核内タンパク質は細胞質へと再分布する可能性があるが、分裂を停止した神経細胞では一旦核内に移行したタンパク質が能動的に細胞質へと再分布する可能性はない。すなわち、核内の凝集タンパク質の分解機構にはオートファジーは一切関与しないと結論したのである。

そのため、pQ病の治療に向けた新たな方向性を示すためには、核内でのタンパク質品質管理機構の詳細な解析が必須である。核内にはUPSの要素はすべて存在しており、細胞質のタンパク質蛋白質品質管理機構と連携しながら核内での独立した分解系を構成していることが想像されてきたが、核内タンパク質品質管理機構については未知の点が多く、出芽酵母におけるわずかな検討があるのみで生理機能はおろか病態機構との関連を

論じた研究はほとんどなかった。

2. 研究の目的

ポリグルタミン(pQ)病のモデル動物では、細胞質よりも細胞核内での異常タンパク質の凝集阻止により神経細胞機能障害を効率よく抑制できるが、核内では細胞質特有の異常タンパク質分解機構は機能しないため、凝集タンパク質の存在する細胞内分画の違いによる分解機構の理解が病態解明に重要である。細胞質ではプロテアソーム及びライソソーム系その役割を担うが、核内ではプロテアソームのみが機能している。しかしながら、細胞核内でのプロテアソームの働きについてはほとんど知見がない。本研究では細胞死を生じないpQ病細胞モデルを利用し、核内でタンパク質品質管理機構を担うユビキチンリガーゼ、機能的小分子、ユビキチン様タンパクを探索、その機能解析を行うことによって、凝集タンパク質の細胞内の分画別分布による、細胞死を介さない新規病態機構を明らかにする。

3. 研究の方法

1) 核内ユビキチンリガーゼ機能解析
2) 核内凝集タンパク質の分解調節機構の解析
を、培養細胞を用いた *in vitro* の実験系を使用して明らかにする。

4. 研究成果

まず、細胞核内タンパク質品質管理機構を担う核内E3のUHRF-2を同定した。UHRF-2には核内でpQタンパク質の凝集抑制効果を有することが示された。さらに、ユビキチン相同タンパク質FAT10が細胞核内においてもユビキチンと同様の機構でポリグルタミン凝集タンパク質の分解促進を行っていることを見いだした(Nagashima, 2011)。

一方で、細胞核内におけるヒストンデアセチレーズの機能にも注目した。そのうちHDAC3は細胞核内のpQタンパク質に特異的に結合死、可溶化を促進していることが示された。この働きはHDAC3の特異的阻害剤によってブロックされたことより、HDAC3の活性そのものがpQタンパク質の可溶化に深く関与している事が示された(Mano 2013)。さらに細胞核内においてDNAのメチル化が変化することにより、凝集尊信タンパク質の発現増加を来していることを見いだした(Iwata, 2014)。

5. 主な発表論文等

(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16件)

1. Jun Mitsui, Takashi Matsukawa, Ichiro Yabe, Hidenao Sasaki, Hiroyuki Soma, Hiroshi Takashima, Akio Kikuchi, Masashi Aoki, Hiroyuki

- Ishiura, Tsutomu Yasuda, Hidetoshi Date, Budrul Ahsan, Atsushi Iwata, Jun Goto, Yaeko Ichikawa, Yasuo Nakahara, Yoshio Momose, Yuji Takahashi, Kenju Hara, Akiyoshi Kakita, Mitsunori Yamada, Hitoshi Takahashi, Osamu Onodera, Masatoyo Nishizawa, Hirohisa Watanabe, Mizuki Ito, Gen Sobue, Kinya Ishikawa, Hidehiro Mizusawa, Kazuaki Kanai, Takamichi Hattori, Satoshi Kuwabara, Kimihito Arai, Shigeru Koyano, Yoshiyuki Kuroiwa, Kazuko Hasegawa, Tatsuhiko Yuasa, Kenichi Yasui, Kenji Nakashima, Hijiri Ito, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji, Takeo Kato, Susumu Kusunoki, Yasushi Osaki, Masahiro Horiuchi, Tomoyoshi Kondo, Shigeo Murayama, Nobutaka Hattori, Mitsutoshi Yamamoto, Miho Murata, Wataru Satake, Tatsushi Toda, Alexandra Durr, Alexis Brice, Alessandro Filla, Thomas Klockgether, Ullrich Wullner, Garth Nicholson, Sid Gilman, Caroline M. Tanner, Walter A. Kukull, Virginia M.-Y. Lee, Eliezer Masliah, Phillip A. Low, Paola Sandroni, John Q. Trojanowski, Laurie Ozelius, Tatiana Foroud, Shoji Tsuji. Mutations associated with Gaucher disease in multiple system atrophy. *Annals of Clinical and Translational Neurology*,2(4),417-426,2015,査読有
2. Tatsuo Mano, Takayoshi Suzuki, Shoji Tsuji, Atsushi Iwata. Differential effect of HDAC3 inhibitor on nuclear and cytoplasmic polyglutamine aggregates. *PLOS One*,9(11), e111277,2014,査読有
 3. 岩田 淳, 神経変性疾患とエピジェネティクス, 生体の科学, 65(6), 591-594, 2014,査読無
 4. 岩田 淳, エピゲノム異常と神経変性疾患, *Brain Medical*, 26(3), 243-249, 2014, 査読無
 5. Atsushi Iwata, Kenichi Nagata, Hiroyuki Hatsuta, Hiroshi Takuma, Miki Bundo, Kazuya Iwamoto, Akira Tamaoka, Shigeo Murayama, Takaomi Saido, Shoji Tsuji. Altered CpG methylation in Alzheimer's disease is associated with APP and MAPT dysregulation. *Human Molecular Genetics*,23(3),648-656,2014,査読有
 6. Hiroya Naruse, Atsushi Iwata, Yuji Takahashi, Kazuaki Ichihara, Satoshi Kamei, Masato Yamatoku, Toshikazu Hirayama, Naoki Suzuki, Masashi Aoki, Toji Miyagawa, Jun Shimizu, Shoji Tsuji, Jun Goto. Familial amyotrophic lateral sclerosis with novel A4D SOD1 mutation with late age at onset and rapid progressive course. *Neurology and Clinical Neuroscience*,1(1),45-47,2013,査読有
 7. 岩田 淳, 神経変性疾患におけるエピジェネティクスの関与. *医学のあゆみ*, 247(5), 457-462, 2013,査読無
 8. 岩田 淳, ポリグルタミン凝集タンパク質の細胞内蓄積の意義とその新規分解機構の解明. *臨床神経学*, 58(1), 1-8, 2013, 査読無
 9. 岩田 淳, 神経変性疾患とオートファジー. *脳* 21, 16(1), 58-64, 2013,査読無
 10. 岩田 淳, 神経変性疾患とエピジェネティクス. *日本神経精神薬理学雑誌*, 32(5/6), 269-273, 2012, 査読無
 11. Yu Nagashima, Hisatomo Kowa, Shoji Tsuji, Atsushi Iwata. FAT10 binds to polyglutamine proteins and modulates their solubility. *Journal of Biological Chemistry*,286(34), 29594-29600,2011, 査読有
 12. 岩田 淳, ハンチントン病の新規治療ターゲットの解明. *ブレインサイエンス・レビュー*. 2011, 225-240, 2011,査読無
 13. Jun Mitsui, Takashi Matsukawa, Hiroyuki Ishiura, Yoko Fukuda, Yaeko Ichikawa, Hidetoshi Date, Budrul Ahsan, Yasuo Nakahara, Yoshio Momose, Yuji Takahashi, Atsushi Iwata, Jun Goto, Yorihiro Yamamoto, Makiko Komata, Katsuhiko Shirahige, Kenju Hara, Akiyoshi Kakita, Mitsunori Yamada, Hitoshi Takahashi, Osamu Onodera, Masatoyo Nishizawa, Hiroshi Takashima, Ryoza Kuwano, Hirohisa Watanabe, Mizuki Ito, Gen Sobue, Hiroyuki Soma, Ichiro Yabe, Hidenao Sasaki, Masashi Aoki, Kinya Ishikawa, Hidehiro Mizusawa, Kazuaki Kanai, Takamichi Hattori, Satoshi Kuwabara, Kimihito Arai, Shigeru Koyano, Yoshiyuki Kuroiwa, Kazuko Hasegawa, Tatsuhiko Yuasa, Kenichi Yasui, Kenji Nakashima, Hijiri Ito, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji, Takeo Kato, Susumu Kusunoki, Yasushi Osaki, Masahiro Horiuchi, Tomoyoshi Kondo, Shigeo Murayama, Nobutaka Hattori, Mitsutoshi Yamamoto, Miho Murata, Wataru Satake, Tatsushi Toda, Alexandra Durr, Alexis Brice, Alessandro Filla, Thomas Klockgether, Ullrich Wullner, Garth Nicholson, M.B B.S Sid Gilman, F.R.C.P Clifford W. Shults, , Caroline M. Tanner, Walter A. Kukull, Virginia M.-Y. Lee, Eliezer Masliah, Phillip A. Low, Paola Sandroni, John Q. Trojanowski, Laurie Ozelius, Tatiana Foroud, and Shoji

- Tsuji. Mutations of COQ2 in Familial and Sporadic Multiple System Atrophy. *New Eng J Med*,369,233-244,2013,査読有
14. Atsushi Iwata, Kenji Ishihara, Shoji Tsuji. Adult-onset Huntington's disease that presented without chorea. *Internal Medicine*,52(18),2121-2,2013, 査読有
 15. Jun Mitsui, Takashi Matsukawa, Hiroyuki Ishiura, Koichiro Higasa, Jun Yoshimura, Taro L. Saito, Budrul Ahsan, Yuji Takahashi, Jun Goto, Atsushi Iwata, Mari Yoshida, Shinichi Morishita, Shoji Tsuji. CSF1R mutations identified in three families with autosomal dominantly inherited leukoencephalopathy. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 159B(8), 951-957, 2012,査読有
 16. Hiroyuki Ishiura, Wataru Sako, Mari Yoshida, Toshitaka Kawarai, Osamu Tanabe, Jun Goto, Yuji Takahashi, Hidetoshi Date, Jun Mitsui, Budrul Ahsan, Yaeko Ichikawa, Atsushi Iwata, Hiide Yoshino, Yuishin Izumi, Koji Fujita, Kouji Maeda, Satoshi Goto, Hidetaka Koizumi, Ryoma Morigaki, Masako Ikemura, Naoko Yamauchi, Shigeo Murayama, Garth A Nicholson, Hidefumi Ito, Gen Sobue, Masanori Nakagawa, Ryuji Kaji, Shoji Tsuji. The TRK-fused gene is mutated in hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominant involvement (HMSN-P). *American Journal of Human Genetics*,91(2),320-329,2012,査読有

〔図書〕(計 1 件)

Atsushi Iwata. Therapeutics for polyglutamine diseases through protein degradation pathway: Targeting the nucleus Aging Mechanisms: Longevity, Metabolism, and Brain Aging, Nozomu Nori, Inhee Mook-Jung Springer Book. 2015

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

http://plaza.umin.ac.jp/~neurology_lab01/index.html

6 . 研究組織

(1)研究代表者

岩田 淳 (IWATA, Atsushi)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号 : 40401038