

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：83903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10304

研究課題名(和文) エクソサイトのメカニズムの解明とそのアルツハイマー病治療への応用

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of exosite and its application to the treatment of Alzheimer's disease

研究代表者

福森 亮雄 (Fukumori, Akio)

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・認知症先進医療開発センター・室長

研究者番号：00788185

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病のA $\beta$ の前駆体であるC99とはアミノ酸長が異なるだけのC83も、セクレターゼのエクソサイトと相互作用するが、その相互作用するアミノ酸残基が異なることを発見した。また、セクレターゼ切断を強く阻害するC99の細胞外領域の変異体を探り、そのエクソサイトへの結合変化を観察した。さらにアルツハイマー病治療法開発の可能性を示唆する予備的データを得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

認知症、特に患者数の多いADの対策が急務である。新オレンジプラン/認知症大綱が発表され、社会全体で医療、介護やケアにも注力されつつある一方で、治療薬を開発し、病気を根本的に治療することも人々の生活の改善につながり、有効な対策となる。本研究をさらに発展させることで、これまで開発されてきたセクレターゼ阻害剤の問題点を克服した新規AD治療薬の開発につながり、ADを根本的に治療できる可能性がある。そのことを通じて、認知症患者さんのクオリティーオブライフを改善できる可能性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：It was discovered that C83, which only differs in amino acid length from C99, which is a precursor of A $\beta$  in Alzheimer's disease, also interacts with the exosite of  $\gamma$ -secretase, but the interacting amino acid residues are different. In addition, we searched for a mutant of the extracellular region of C99 that strongly inhibits  $\gamma$ -secretase cleavage, and observed its binding change to exosite. We also obtained preliminary data suggesting the possibility of developing treatments for Alzheimer's disease.

研究分野：アルツハイマー病

キーワード：ガンマセクレターゼ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

認知症、その中でも特に患者数の多いアルツハイマー病(AD)の対策が急務である。その病態として、アミロイド免疫療法 Phase I b での成功が Nature 2016 に報告されており、アミロイド仮説に注目し研究を進める。アルツハイマー病脳に蓄積するアミロイドベータ(A $\beta$ )はその前駆体蛋白(APP)から2段階の蛋白分解により切り出される。このアミロイド産生酵素の中でも、2段階目の切断を担うセクレターゼの生化学研究を申請者らは一貫して行ってきた。

セクレターゼは APP からアミロイドを切り出すだけでなく、発生や成体で重要な役割を果たす NOTCH 基質の切断も担っている。そのため、以前開発されたセクレターゼ阻害剤は NOTCH 基質の切断も阻害してしまい副作用を起こした。これは一般的な蛋白分解酵素阻害薬と同様に、酵素触媒部位を標的としており、アミロイド産生を選択的に阻害できないからである。

最近、申請者らはケミカルバイオロジーの技術を駆使し、酵素触媒部位より上流に基質結合部位(エクソサイト)を発見した。さらに、予備的な検討から、このエクソサイトには様々な基質が結合するものの、その結合は酵素触媒部位とは違って可逆的な結合であることから、APP を選択的にエクソサイトに結合させない APP 特異的にエクソサイトへの結合を解除する因子を見つけることが、アミロイド選択的阻害薬の開発につながると考える。そこで、本研究では、エクソサイトでの基質認識を様々な異なる基質で調べ、アミノ酸レベルでの基質認識メカニズムを明らかにすることを目標とする。本研究課題の達成によって得られるエクソサイトでのメカニズムモデルは効率的なアミロイド選択的阻害剤開発に向けての基盤となることが期待できる。

## 2. 研究の目的

本研究はアミロイド産生酵素の基質結合部位(エクソサイト)のメカニズムを解明し、アルツハイマー病の副作用の少ないアミロイド産生阻害薬の開発への応用を目指すことである。アルツハイマー病の根本治療薬の一つにセクレターゼ阻害薬があるが、NOTCH の切断阻害による副作用が起こり開発は難航している。また、アミロイド選択的阻害薬が期待されていたが、従来の酵素触媒部位を阻害標的とすることでは、その達成は難しい。申請者らはセクレターゼのエクソサイトと呼ばれる基質結合部位を発見し(Fukumori et al. EMBO J. 2016)、この部位ではアミロイド選択的阻害が可能だと考えている。そこでまず、本研究では、基質認識の様式や特徴を解明し、エクソサイトでの基質認識メカニズムを解明することを目標とする。

## 3. 研究の方法

代表的な基質の結合様式の解析を進める。セクレターゼは様々な基質を切断することが分かっているが、エクソサイトと結合する細胞外領域のアミノ酸配列は異なる。従って、長さの異なる代表的な基質 C83 に絞り解析する。その蛋白の細胞外領域(推定認識部位)のアミノ酸部位のすべてを対象とし、エクソサイトへの結合をマッピングする。その解析から得られる異なる基質のエクソサイトによる認識様式をもとに、エクソサイトとの結合の共通点を追究

により、エクソサイトでの基質認識メカニズムを解明する。

#### 4．研究成果

アルツハイマー病の A の前駆体である C99 とはアミノ酸長が異なるだけの C83 も セクレターゼのエクソサイトと相互作用するが、その相互作用するアミノ酸残基が異なることを発見した。また、 セクレターゼ切断を強く阻害する C99 の細胞外領域の変異体を探り、そのエクソサイトへの結合変化を観察した。さらにアルツハイマー病治療法開発の可能性を示唆する予備的データを得た。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shinohara M, Tashiro Y, Suzuki K, Fukumori A, Bu G, Sato N.	4. 巻 12
2. 論文標題 Interaction Between APOE Genotype and Diabetes in Cognitive Decline	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Alzheimers Dement (Amst) .	6. 最初と最後の頁 e12006
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.semcd.2020.03.006.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shinohara M, Tashiro Y, Shinohara M, Hirokawa J, Suzuki K, Onishi-Takeya M, Mukouzo M, Takeda S, Saito T, Fukumori A, Saido TC, Morishita R, Sato N.	4. 巻 34
2. 論文標題 Increased Levels of A 42 Decrease the Lifespan of Ob/Ob Mice With Dysregulation of Microglia and Astrocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FASEB J.	6. 最初と最後の頁 2425-2435.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/dad.12006. eCollection 2020	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Trambauer J, Rodriguez Sarmiento RM, Fukumori A, Feederle R, Baumann K, Steiner H.	4. 巻 21
2. 論文標題 A 43-producing PS1 FAD mutants cause altered substrate interactions and respond to - secretase modulation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EMBO Rep.	6. 最初と最後の頁 e47996.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.201947996.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mentrup Torben, Theodorou Kosta, Cabrera-Cabrera Florencia, Helbig Andreas O., Happ Kathrin, Gijbels Marion, Gradtke Ann-Christine, Rabe Bjoern, Fukumori Akio, Steiner Harald, Tholey Andreas, Fluhrer Regina, Donners Marjo, Schroeder Bernd	4. 巻 216
2. 論文標題 Atherogenic LOX-1 signaling is controlled by SPPL2-mediated intramembrane proteolysis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 807 ~ 830
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20171438	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsunaga H, Fukumori A, Mori K, Honda T, Uema T, Tomonaga K.	4. 巻 71
2. 論文標題 Two Neuropsychiatric Cases Seropositive for Bornavirus Improved by Ribavirin.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Jpn J Infect Dis.	6. 最初と最後の頁 338-342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2017.585.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fukumori Akio, Trambauer Johannes, Feilen Lukas P., Steiner Harald	4. 巻 24
2. 論文標題 Identifizierung von Substratbindestellen in der -Sekretase	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BioSpektrum	6. 最初と最後の頁 34 ~ 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12268-018-0888-7	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Trambauer J, Fukumori A, Kretner B, Steiner H	4. 巻 584
2. 論文標題 Analyzing Amyloid- Peptide Modulation Profiles and Binding Sites of -Secretase Modulators.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Methods Enzymol.	6. 最初と最後の頁 157-183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.mie.2016.10.013.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 福森亮雄、丸山理気、舟本聡、工藤喬、Harald Steiner
2. 発表標題 -セクレターゼのエクソサイトでの基質認識はAPP C99の細胞外部位の立体構造変化に感受性がある。
3. 学会等名 第37回 日本認知症学会 学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akio Fukumori
2. 発表標題 Targeting APP substrate binding of $\gamma$ -secretase as potential therapeutic approach for Alzheimer's disease
3. 学会等名 Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry 2018. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akio Fukumori, Riki Maruyama, Naoyuki Sato, Takashi Kudo, Harald Steiner
2. 発表標題 Substrate recognition of C99 by $\gamma$ -secretase is sensitive to steric alterations in the extracellular domain
3. 学会等名 第10回NAGOYAグローバルリトリート
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福森亮雄、丸山理気、里直行、舟本聡、工藤喬、Harald Steiner
2. 発表標題 セクレターゼのエクソサイトでの基質認知期は立体構造変化に感受性がある
3. 学会等名 第36回 日本認知症学会 学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 丸山理気・工藤喬・里直行・Harald Steiner・福森亮雄
2. 発表標題 エキソサイトの立体構造の柔軟性により $\gamma$ -セクレターゼはAPP基質を認識する
3. 学会等名 第36回 日本認知症学会 学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Akio Fukumori, Riki Maruyama, Takashi Kudo, Harald Steiner
2. 発表標題 Mechanism of Substrate Recognition by the Exosites in -Secretase
3. 学会等名 International Symposium 2017 -Understanding Intramembrane Proteolysis from Substrates to Enzymes (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Riki Maruyama, Takashi Kudo, Harald Steiner, Akio Fukumori
2. 発表標題 Conformational flexibility of the exosite domain mediates recognition of APP substrates by -secretase
3. 学会等名 EMBO   EMBL Symposia Mechanisms of Neurodegeneration
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Akio Fukumori, Riki Maruyama, Takashi Kudo, Harald Steiner
2. 発表標題 Substrate recognition of C99 by -secretase is sensitive to steric alterations in the extracellular domain
3. 学会等名 EMBO   EMBL Symposia Mechanisms of Neurodegeneration
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<http://www.ncgg.go.jp/camd/department/nba/>

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	工藤 喬  (KUDO Takashi)  (10273632)	大阪大学・キャンパスライフ健康支援センター・教授       (14401)	