

認知症における微小管重合調節異常と薬剤探索

Drug Discovery of Alzheimer Disease from Molecules- Regulating Microtubule Polymerization

内田 隆史 (Takafumi Uchida)

東北大学・大学院農学研究科・教授



研究の概要

我々は、アルツハイマー病 (AD) の病因はリン酸化タウの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料品を発見することである。

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：細胞機能、発生・分化制御、タンパク質・糖鎖工学

1. 研究開始当初の背景

長寿大国であるわが国においてはアルツハイマー病 (AD) の治療や予防は国民的課題である。我々は、*Pin1*-KO マウスを作成し、*Pin1* が AD の発症を抑制している可能性を示した。*Pin1* は微小管重合を制御していることから、微小管重合を制御できれば AD の発症も抑制できるのではないかと予測した。

2. 研究の目的

第一に、微小管重合制御蛋白質の同定と作用機構の解明すること、第二に、微小管重合と AD の関係を明確にすること、第三に、AD 型認知症の予防・治療に効果のある薬剤や飲食料品を発見することである。

3. 研究の方法

プロテオームによる微小管結合分子探索や *Pin1* のホモログ探索により、微小管重合制御分子を発見し、AD との関連について明らかにする。また、微小管重合を制御する低分子量分子を探索する。天然物およびパクリタクセル誘導体を調べる。また、*Pin1* が重合を制御していることから、*Pin1* の阻害剤も検討する。

4. これまでの成果

(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、 $TGF\beta$ 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。

5. 今後の計画

(1) 微小管重合制御タンパク質

① hGas7bに関し、そのタンパク質レベルでの作用機構を、X線構造解析や電子顕微鏡観察により明らかにする。細胞・個体レベルでの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) 微小管重合制御化合物

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。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む) [雑誌論文] (計 22 件)

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. Akiyama H, Misawa T, Ono M, Uchida C, and Uchida T (2011) Prolyl isomerase Pin1 protects mice from endotoxin shock *PLoS One*, e14656.
5. 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.

[学会発表] (計105件)

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

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

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

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

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

ホームページ等

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