

「精神・神経疾患の分子病態理解に基づく診断・治療へ向けた  
新技術の創出」

平成21年度採択研究代表者

H25 年度 実績報告
----------------

貫名 信行

(独)理化学研究所視床発生研究チーム 客員主管研究員／  
順天堂大学大学院医学研究科 客員教授

ポリグルタミン病の包括的治療法の開発

## § 1. 研究実施体制

### (1) 貫名グループ

① 研究代表者: 貫名 信行 (独立行政法人理化学研究所視床発生研究チーム、客員主幹研究員／順天堂大学大学院医学研究科神経変性疾患病態治療探索講座、客員教授)

#### ② 研究項目

異常蛋白質分解制御による治療法開発

- ・オートファジーを用いた異常蛋白質分解促進治療法開発
- ・分解系以外の分子標的の解析と治療法開発

### (2) 永井グループ

① 主たる共同研究者: 永井 義隆 (国立精神・神経医療研究センター神経研究所、室長)

#### ② 研究項目

ポリグルタミン凝集を標的とした治療法開発

- ・ポリグルタミン鎖結合ペプチド QBP1 由来化合物アナログの設計
- ・ポリグルタミン凝集阻害化合物のスクリーニング
- ・分子シャペロンを応用したポリグルタミン病モデルの治療

### (3) 岡澤グループ

① 主たる共同研究者: 岡澤 均 (東京医科歯科大学難治疾患研究所、教授)

#### ② 研究項目

転写障害・DNA 損傷修復障害を標的とした治療開発

- ・レンチウイルスベクターによる DNA 損傷修復障害治療開発
- ・アデノ随伴ウイルスベクターによる DNA 損傷修復障害治療開発
- ・DNA 修復蛋白質とポリグルタミン蛋白質との結合解析と結合阻害低分子化合物の探索

### (4) 勝野グループ

① 主たる共同研究者: 勝野 雅央 (名古屋大学大学院医学系研究科神経内科、准教授)

## ② 研究項目

### ポリグルタミン病の病態因子を標的とした治療開発とその臨床応用

- ・ポリグルタミン病に共通する病態因子の探索・同定
- ・ポリグルタミン病に対するトランスレーショナルリサーチ

## § 2. 研究実施の概要

ポリグルタミン病は遺伝性の神経疾患であり、その病因遺伝子の CAG リピートの繰り返しが異常な伸長を引き起こしている。この遺伝子変異はタンパク質をコードする領域にあるため、CAG の繰り返しから翻訳される、ポリグルタミン鎖が異常に伸長した病因タンパク質が産生され、病態に深く関わるため、ポリグルタミン病と呼ばれる。ポリグルタミン病にはハンチントン病や球脊髄性筋萎縮症、遺伝性脊髄小脳失調症など、その病因遺伝子の違いによって、病変が異なり、症状も異なる疾患が含まれるが、これらの疾患に共通するのがポリグルタミン鎖を含む核内封入体である。

本研究では本質的な治療法のないポリグルタミン病について、異常タンパク質凝集の抑制・分解過程の制御、転写異常などの病態過程の制御の観点からの治療法の開発を目指している。

本年度は以下の主たる研究成果を発表した。

貫名グループが凝集体結合タンパク質として報告した転写因子 NF-YA(Yamanaka et al. EMBO J 2008) について、その神経系での機能を明らかにするためノックアウトマウスの解析を行った。NF-YA を大脳皮質神経細胞においてノックアウトすると、ユビキチン、p62 の集積を示すことを見出した。この集積は従来知られているタウ、シヌクレイン、TDP-43 等の集積を伴わず、アミロイド繊維の集積も認めず、ユビキチン、p62 が小胞体膜に集積するという全く新しい、病変を呈することが判明した。NF-Y が制御している遺伝子を同定したところ、ER シャペロンの Grp93、Grp78 が存在することがわかり、このうち Grp93 が小胞体局在に影響を与えていることがわかった。また核膜の異常も見出されたが、この変化はハンチントン病の核膜異常とも類似しており、NF-Y がハンチントン病の病態の一部に関連している可能性が示唆された(Yamanaka et al. Nature Commun 2014)。

岡澤グループは、ポリグルタミン病タンパク質が複数の DNA 修復蛋白質と結合して機能を阻害することを発見して来た。例えば、ハンチントン病タンパク質は神経細胞における DNA2 重鎖切断修復の上で最重要機能を持つ NHEJ の主要分子 Ku70 と結合して機能を阻害すること(Enokido et al. J Cell Biol 2010)を報告したが、本 CREST 研究においてさらに、やはり DNA2 重鎖切断修復に関わる TERA/VCP/p97 が複数のポリグルタミン病タンパク質と結合して機能阻害を受けること(Fujita et al. Nature Commun 2013)、複製を介した相同組み替えによる DNA2 重鎖切断修復(HR)に関わる分子 RpA1 がポリグルタミン病の一つである脊髄小脳変性症1型の原因タンパク質アタキシン1と結合して機能阻害を受けること、を明らかにした。

さらに永井グループによって SCA3 の新しいモデル動物作製が完成しつつある。

また勝野グループは、SBMA に対する疾患特異的な評価指標として、SBMA 運動機能スケール(SBMAFRS)を開発し、その再現性・外的妥当性を評価するとともに、経時変化を解析し、既存の評価指標との比較を行った。その結果、SBMAFRS は他の指標に比べ SBMA 患者の運動機能の

変化を鋭敏に検出することができることが明らかとなった。さらにこのスケールを英訳し、NIH において米国の SBMA 患者においても再現性や妥当性に関するバリデーションを実施し、本評価指標が国際的に使用可能であることを検証している。

各グループにおいてこれまで同定されてきた化合物、遺伝子による治療法の検討もモデル動物を用いて行われ、その成果をまとめる段階にある。

### § 3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### 論文詳細情報

1. Yamanaka, T., Tosaki, A., Kurosawa, M., Matsumoto, G., Koike, M., Uchiyama, Y., Maity, S.N., Shimogori, T., Hattori, N. & Nukina, N. NF-Y inactivation causes atypical neurodegeneration characterized by ubiquitin and p62 accumulation and endoplasmic reticulum disorganization. *Nat. Commun.* **5**, 3354 (2014). (10.1038/ncomms4354)
2. Yamanaka, T., Tosaki, A., Kurosawa, M., Akimoto, K., Hirose, T., Ohno, S., Hattori, N. & Nukina, N. Loss of aPKC $\lambda$  in Differentiated Neurons Disrupts the Polarity Complex but Does Not Induce Obvious Neuronal Loss or Disorientation in Mouse Brains. *PLoS One* **8**, e84036 (2013). (10.1371/journal.pone.0084036)
3. Togashi, K., Wakatsuki, S., Furuno, A., Tokunaga, S., Nagai, Y. & Araki, T. Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchangers induce autophagy in neurons and inhibit polyglutamine-induced aggregate formation. *PLoS One* **8**, e81313 (2013). (10.1371/journal.pone.0081313)
4. Fujita, K., Nakamura, Y., Oka, T., Ito, H., Tamura, T., Tagawa, K., Sasabe, T., Katsuta, A., Motoki, K., Shiwaku, H., Sone, M., Yoshida, C., Katsuno, M., Eishi, Y., Murata, M., Taylor, J.P., Wanker, E.E., Kono, K., Tashiro, S., Sobue, G., La Spada, A.R. & Okazawa, H. A functional deficiency of TERA/VCP/p97 contributes to impaired DNA repair in multiple polyglutamine diseases. *Nat. Commun.* **4**, 1816 (2013). (10.1038/ncomms4354)
5. Barclay, S.S., Tamura, T., Ito, H., Fujita, K., Tagawa, K., Shimamura, T., Katsuta, A., Shiwaku, H., Sone, M., Imoto, S., Miyano, S. & Okazawa, H. Systems biology analysis of *Drosophila* in vivo screen data elucidates core networks for DNA damage repair in SCA1. *Hum. Mol. Genet.* **23**, 1345-64 (2014). (10.1093/hmg/ddt524)
6. Shiwaku, H., Yagishita, S., Eishi, Y. & Okazawa, H. Bergmann glia are reduced in spinocerebellar ataxia type 1. *Neuroreport* **24**, 620-5 (2013). (10.1097/WNR.0b013 e32836347b7)
7. Ikeuchi, Y., de la Torre-Ubieta, L., Matsuda, T., Steen, H., Okazawa, H. & Bonni, A. The XLID protein PQBP1 and the GTPase Dynamin 2 define a signaling link that orchestrates ciliary morphogenesis in postmitotic neurons. *Cell Rep.* **4**, 879-89 (2013). (10.1016/j.celrep.2013.07.042)
8. Li, C., Ito, H., Fujita, K., Shiwaku, H., Qi, Y., Tagawa, K., Tamura, T. & Okazawa, H. Sox2

- transcriptionally regulates PQBP1, an intellectual disability-microcephaly causative gene, in neural stem progenitor cells. *PLoS One* **8**, e68627 (2013). (10.1371/journal.pone.0068627)
9. Suga, N., Katsuno, M., Koike, H., Banno, H., Suzuki, K., Hashizume, A., Mano, T., Iijima, M., Kawagashira, Y., Hirayama, M., Nakamura, T., Watanabe, H., Tanaka, F. & Sobue, G. Schwann cell involvement in the peripheral neuropathy of spinocerebellar ataxia type 3. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* (in press). (DOI: 10.1111/nan.12055)
  10. Mano, T., Katsuno, M., Banno, H., Suzuki, K., Suga, N., Hashizume, A., Araki, A., Watanabe, H., Tanaka, S., Yamamoto, M. & Sobue, G. Tongue pressure as a novel biomarker of spinal and bulbar muscular atrophy. *Neurology* **82**, 255-62 (2014). (10.1212/WNL.0000000000000041)
  11. Tanaka, S., Banno, H., Katsuno, M., Suzuki, K., Suga, N., Hashizume, A., Mano, T., Araki, A., Watanabe, H., Adachi, H., Tatsumi, H., Yamamoto, M. & Sobue, G. Distinct acoustic features in spinal and bulbar muscular atrophy patients with laryngospasm. *J. Neurol. Sci.* **337**, 193-200 (2014). (10.1016/j.jns.2013.12.010)

### (3-2) 知財出願

- ① 平成 25 年度特許出願件数(国内 1 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 3 件)