

News Release



令和2年7月30日

各報道機関文教担当記者 殿

パーキンソン病の原因タンパク質「 α シヌクレイン」の 同種間・異種間アミロイド凝集の直接観察に成功！

金沢大学ナノ生命科学研究所の中山隆宏准教授，紺野宏記准教授，古寺哲幸教授，安藤敏夫特任教授，理工学域自然システム学類4年（研究当時）の名和真衣佳さん，カリフォルニア大学ロサンゼルス校のデービッド・B・テプロフ教授，昭和大学医学部内科学講座脳神経内科学部門の小野賢二郎教授の国際共同研究グループは，パーキンソン病に特有なアミロイド線維を形成する原因タンパク質である α シヌクレイン（※1）が同種間・異種間アミロイド線維（※2）を形成する状況の観察に成功し，これまで不明だった神経変性疾患におけるアミロイド線維構造を決定するメカニズムの一端を解明しました。

パーキンソン病やアルツハイマー病など，原因タンパク質のアミロイド線維形成を特徴とする神経変性疾患では，近年，アミロイド線維構造の違いと症状の違いとの関連が報告されています。加えて，患者個人の中でも，アミノ酸配列の一部が異なるバリエーション（※3）が存在することも知られています。このような状況から，アミロイド線維の構造の決定・形成過程の解明が求められています。しかし，アミロイド線維の形成過程は多様な段階を含んでおり，個別の線維の形成・伸長過程を分析することは困難でした。

本研究では，高速原子間力顕微鏡（高速AFM，※4）を用いて，野生型と家族性パーキンソン病変異型 α シヌクレインアミロイド線維が同種型・異種型の単量体 α シヌクレインを取り込んで伸長する様子を個別の線維レベルで観察することに成功しました。その結果，同種型の単量体を取り込むときと比べて，異種型を取り込むときは，伸長速度が減速，停止あるいは加速するとともに，元の線維構造とは異なる構造で伸長することがあることを明らかにしました。

これらの知見は将来，パーキンソン病やレビー小体型認知症，アルツハイマー病の病態解明に寄与するとともに，他のアミロイドタンパク質のアミロイド線維多型形成のメカニズム解明に活用されることが期待されます。

本研究成果は，2020年7月17日（米国東部標準時）にアメリカ化学会誌『ACS Nano』のオンライン版に Just Accepted として掲載されました。

【研究の背景】

アミロイドタンパク質の単量体は、特定の立体構造を形成しない領域（天然変性領域）を持ち、アミロイド線維を形成する過程で、この領域の立体構造を変えることが知られています。この凝集過程は、周囲の物理化学的環境（イオン種と濃度、pH など）によって影響を受け、一種類のアミロイドタンパク質でも多様な立体構造のアミロイド線維（構造多型）が形成されます。各構造型のアミロイド線維は単量体を取り込んで自身と同じ型の立体構造に変換する自己鋳型複製能を持ち、アミロイド線維のこの性質が個別の症状の拡大・伝播に関連するとされています。

一方、体内にはさまざまな物理化学的環境があります。細胞質は中性付近であるのに対し、細胞内小胞は弱酸性です。酸化ストレスを受けると細胞内は酸性に傾きます。これらのさまざまな部位にパーキンソン病の原因タンパク質 α シヌクレインが存在し、さらに、アミノ酸配列が一部異なるバリエーションも存在します。

このような状況から、アミロイド線維の構造の形成過程の解明が求められていますが、一つ一つの線維の立体構造の形成過程を観察する高空間分解能かつ高時間分解能の解明を要するため、これまで明らかにされていませんでした。

【研究成果の概要】

本研究では、多様な物理化学環境とアミノ酸配列バリエーションのモデルとして、パーキンソン病の原因タンパク質 α シヌクレインの野生型、家族性パーキンソン病変異型のアミロイド線維を、中性および弱酸性条件で調製し、線維調製条件と同じまたは異なる単量体 α シヌクレインを取り込む様子を高速原子間力顕微鏡で観察しました。

その結果、線維調製条件と同じ単量体を取り込ませたとときと比べて、異種の単量体を取り込む線維伸長では、元の線維と同じ構造で伸長するものの、伸長速度が遅くなったり、早くなったり、あるいは全く伸長しなかったりすることが分かりました（図1）。さらに、元の線維と異なる構造で伸長することもあることも明らかになりました（図1）。

以上の結果から、個体内でさまざまな線維の元が形成され、その中の立体構造が安定して伸長速度の速い構造型が選択されていくものと考えられます。

【今後の展開】

アミロイド線維の伸長は、他のアミロイドタンパク質でも共通する特徴が多く、本研究は、パーキンソン病やレビー小体型認知症に限らず、アルツハイマー病、プリオン病、2型糖尿病など他のアミロイド形成を特徴とする疾患の分子メカニズム解明にも貢献し得るものです。また、アミロイド線維伸長に積極的に介入する新薬の開発も期待されます。

本研究は、公益財団法人ブレインサイエンス振興財団，日本学術振興会科学研究費助成事業，文部科学省世界トップレベル研究拠点プログラム（WPI），金沢大学超然プロジェクト，国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）脳科学研究戦略推進プログラム「レビー小体型認知症（DLB）の病原性蛋白質 α シヌクレインの新規診断・治療効果判定法の開発」（研究代表者：望月秀樹 大阪大学大学院医学系研究科神経内科学教授，研究開発分担者：小野賢二郎）の支援を受けて実施されました。

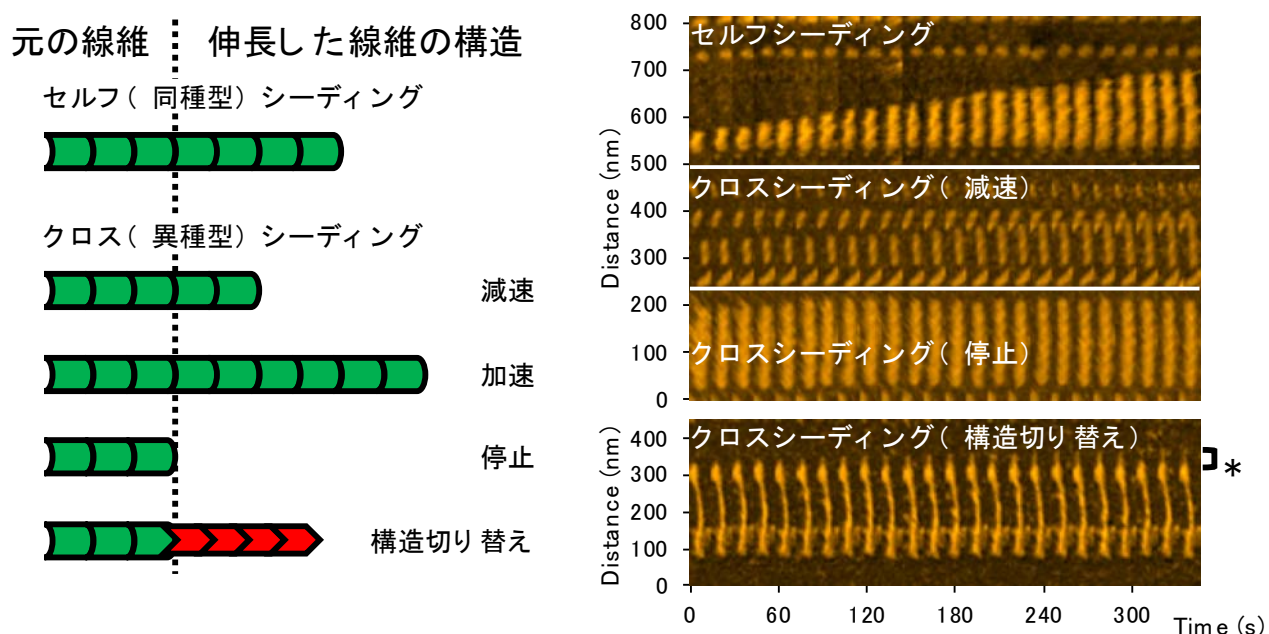


図 1. α シヌクレインがつくるアミロイド線維の伸長の構造動態

左：模式図。元の線維が形成されたときの単量体と同じ単量体を取り込むとき（セルフシーディング），単量体は線維を鋳型として構造変化して線維端に結合し，線維が伸長する。元の線維が形成されたときの単量体と異なる種類の単量体を取り込むとき（クロスシーディング），セルフシーディングと比べて，伸長速度が減速，加速したり，伸長反応が停止したりする。さらに，元の線維と異なる構造で伸長することがある。

右：高速 AFM 像のキモグラフ（色の明るさはステージからの高さに相当）。 α シヌクレインアミロイド線維は基本的には一方向に伸長した（図中の線維下端は伸長しにくく，上端が伸長）。各時間の上端を結ぶ直線の傾きが伸長速度に相当し，クロスシーディングでは伸長が減速あるいは停止した様子が分かる。さらに，元の線維とは異なる構造（図中*で示す部分）で伸長することがあることも明らかになった。

【掲載論文】

雑誌名：ACS Nano

論文名：Self- and Cross-Seeding on α -Synuclein Fibril Growth Kinetics and Structure Observed by High-Speed Atomic Force Microscopy

(α シヌクレインの異種・同種シーディング線維伸長の構造動態の高速原子間力顕微鏡観察)

著者名：Takahiro Watanabe-Nakayama, Maika Nawa, Hiroki Konno, Noriyuki Kodera, Toshio Ando, David B Teplow, and Kenjiro Ono

(中山隆宏*, 名和真衣佳, 紺野宏記, 古寺哲幸, 安藤敏夫, デービッド・B・テプロフ, 小野賢二郎*) (*共同責任著者)

掲載日時：2020年7月17日(米国東部標準時)にオンライン版に掲載

DOI：10.1021/acsnano.0c03074

【用語解説】

※1 α シヌクレイン

140のアミノ酸が連なったタンパク質で、シナプス前終末や核をはじめとする細胞内の多様な部位に存在する。神経細胞の小胞輸送やシナプス機能の調節に関わるとされているが、その機能の全容は不明のままである。パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症では、 α シヌクレインが不溶性の線維の凝集塊であるレビー小体を形成するため、これらの疾患は α シヌクレイノパチーと呼ばれる。最近では細胞外の α シヌクレインも注目され、血液や脳脊髄液中の α シヌクレイン凝集体の測定が新たなバイオマーカーにつながる可能性がある。

※2 同種間・異種間アミロイド線維

アミロイドタンパク質は凝集してアミロイド線維の元となる核を形成し、核が単量体を取り込みながら線維に伸長する。このとき、核や線維は、自身を鋳型にして単量体を自身と同じ構造型に変えて線維に伸長する。鋳型となる核や線維をシードと呼ぶ。シードが形成されたときと同じ物理化学条件にある単量体を取り込んで伸長する線維を同種間アミロイド線維(セルフシーディングによる線維形成)、異なる物理化学条件の単量体や異なるアミノ酸配列の単量体を取り込んで伸長する線維を異種間アミロイド線維(クロスシーディングによる線維形成)と呼ぶ。

※3 バリエーション

同一種のタンパク質でも、遺伝子変異、翻訳後のタンパク質切断などによって、アミノ酸配列の異なるタイプが存在する。それらの総体をバリエーションと呼ぶ。

※4 高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）

原子間力顕微鏡は、レコードプレーヤーの針がレコード盤の表面の形状をなぞるように、探針（プローブ）と試料間の相互作用を2次元に走査し、試料の起伏の画像を取得する顕微鏡。ナノメートル（10のマイナス9乗メートル）の空間分解能を持つことに加え、試料は真空中のみならず、空气中、液中と環境を選ばない。金沢大学の安藤敏夫特任教授の研究グループは、この原子間力顕微鏡の高速化に成功し、液中でのナノメートル空間分解ビデオ撮影を実現させ、蛍光などの標識無しでタンパク質などの生体分子の構造と動き（動態）を同時に観察することができるようになった。

【本件に関するお問い合わせ先】

■研究内容に関すること

金沢大学ナノ生命科学研究所 准教授

中山 隆宏（なかやま たかひろ）

TEL：076-234-4573

E-mail：tnakawata@sc.kanazawa-u.ac.jp

昭和大学医学部内科学講座脳神経内科学部門 教授

小野 賢二郎（おの けんじろう）

TEL：03-3784-8710

E-mail：onoken@med.showa-u.ac.jp

■広報担当

金沢大学総務部広報室

上沼 孝平（かみぬま たかひら）

TEL：076-264-5024

E-mail：koho@adm.kanazawa-u.ac.jp

金沢大学ナノ生命科学研究所事務室

米田 洋恵（よねだ ひろえ）

TEL：076-234-4556

E-mail：nanolsi-office@adm.kanazawa-u.ac.jp

昭和大学総務課（広報担当）

TEL：03-3784-8059

E-mail：press@ofc.showa-u.ac.jp