

公益財団法人富山第一銀行奨学財団

理事長 金岡 純二 殿

助成研究成果概要報告書

教育機関名 : 富山大学大学院	助成金額 : 950 千円
研究代表者 : 迫野昌文	所属 : 大学院理工学研究部 (工学) 職位 : 准教授
研究題目 : アルツハイマー病治療に向けた小胞体シャペロンによる細胞ストレス緩和	

研究概要

アルツハイマー病 (AD) は、高齢化社会の重大な懸案事項である。AD は対症療法的治療による症状の緩和や進行の遅延が主であり、根本治療への道筋はいまだ開けていない。小胞体 (ER) 内には、正確に糖タンパク質を作製するための糖タンパク質品質管理機構が備わっている。近年、細胞ストレス条件下において、小胞体シャペロンが細胞外に提示されるストレス応答を示していることが報告されている。したがって、AD において細胞外小胞体シャペロンが AD 原因因子と作用している可能性が推測される。小胞体関連タンパク質と AD 起因細胞ストレスの相関はいまだに研究が十分ではなく、基礎研究からのアプローチは重要な意味を持つ。ER シャペロンの多くはストレス応答型であり、細胞のストレス状況に応じてシャペロン機能を調整していることが予想される。ER シャペロンの効果は、AD 研究においてほとんど研究実施例がない。申請者は、*in vitro* 段階で ER シャペロンによる凝集化の效果的抑制効果と、創薬としての可能性を見出すことを目的とする。本基礎研究を通して、アルツハイマー病の仕組みを知る一助となるだけでなく、ER シャペロンを中核とした品質管理機構の全容を解明するためにも重要な知見となると期待できる。

成果要約

細胞小器官である小胞体において、糖質関連酵素や分子シャペロンなどの様々な糖タンパク質品質管理 (GPQC) タンパク質が協同的に働くことで、糖タンパク質産生が行われる。近年、酸化ストレス下において GPQC タンパク質が細胞膜上及び細胞外に移行することが報告された (V. R. Wiersma et al, *Front Oncol* 5 (2015) 7.)。これは、ストレスへの生体防御応答的に、小胞体タンパク質が細胞表面で機能していることを示唆する。3 種類の GPQC タンパク質 (CNX, PDI, ERp57) と A β 42 の相互作用に関する検討を行った。その結果以下の事を明らかにした。① A β 42 のアミロイド線維化は、共存する GPQC タンパク質の濃度依存的に抑制される。② いずれの GPQC タンパク質も、20 倍の物質量の A β 42 線維化を抑制することから、両者は極めて強い相互作用であることが予想される。③ GPQC タンパク質を共存した A β 42 は、ペプチドモノマーとして存在し、いかなる凝集体も形成していない。

これらの結果は、GPQC タンパク質がアミロイド形成阻害剤となり、少量でアミロイド凝集に抵抗する強力なプロテンドラッグとして機能することを示している。したがって、これらのタンパク質が細胞の膜表面に提示されることで、細胞に接着する A β ペプチドを低減することが可能になると考えられる。また、小胞体シャペロンである GRP78 も、効果的にアミロイド凝集を抑制することが明らかになった。GRP78 は Heat shock protein 70 様シャペロンであり、フォールディング補助において ATP 要求型であるのに対して、A β 42 の線維化抑制は ATP 非依存的に行われた。過去に Amylin において同様の結果が報告されており (V. Chien et al., *Biochem J*, 15(2010) 113)、通常の品質管理機構とは異なるパスが存在することを強く示唆した。

<p>研究成果 発表状況</p>	<p>【雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況】</p> <p>Kenta Kitauchi, <u>Masafumi Sakono</u>*:Glycoprotein quality control-related proteins effectively inhibit fibrillation of amyloid beta 1–42. <i>Biochemical and Biophysical Research Communications</i>, 481 (2016) 227-231.</p> <p><u>Masafumi Sakono</u>*, Akira Seko, Yoichi Takeda, Masakazu Hachisu, Akihiko Koizumi, Kohki Fujikawa, Hideharu Seto, Yukishige Ito: Influence of high-mannose glycan whose glucose moiety is substituted with 5-thioglucose on calnexin/calreticulin cycle. <i>RSC Advances</i>, 6 (2016)76879-76882.</p> <p>北内 健太, <u>迫野 昌文</u>: 小胞体内在分子シャペロン存在下におけるアミロイドベータの凝集挙動解析, 第 68 回日本生物工学会大会 (平成 28 年 9 月 28-30 日)</p>																																
<p>経費の 執行状況</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="328 887 804 922">区 分</th> <th data-bbox="817 887 1114 922">執行額 (円)</th> <th data-bbox="1120 887 1444 922">備 考</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="3" data-bbox="328 931 1444 967">【物品費】</td> </tr> <tr> <td data-bbox="328 976 804 1012">試薬類</td> <td data-bbox="817 976 1114 1012">525,000</td> <td data-bbox="1120 976 1444 1012"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="328 1021 804 1057">ガラスおよびプラスチック消耗品</td> <td data-bbox="817 1021 1114 1057">100,000</td> <td data-bbox="1120 1021 1444 1057"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="328 1066 804 1102">合成 DNA</td> <td data-bbox="817 1066 1114 1102">15,000</td> <td data-bbox="1120 1066 1444 1102"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="328 1111 804 1146">DNA シーケンス解析</td> <td data-bbox="817 1111 1114 1146">20,000</td> <td data-bbox="1120 1111 1444 1146"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="328 1155 804 1191">実験台</td> <td data-bbox="817 1155 1114 1191">150,000</td> <td data-bbox="1120 1155 1444 1191"></td> </tr> <tr> <td colspan="3" data-bbox="328 1200 1444 1236">【その他】</td> </tr> <tr> <td data-bbox="328 1245 804 1281">共同利用機器等施設利用料金</td> <td data-bbox="817 1245 1114 1281">140,000</td> <td data-bbox="1120 1245 1444 1281"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="328 1648 804 1684">合計</td> <td data-bbox="817 1648 1114 1684">950,000 円</td> <td data-bbox="1120 1648 1444 1684"></td> </tr> </tbody> </table>	区 分	執行額 (円)	備 考	【物品費】			試薬類	525,000		ガラスおよびプラスチック消耗品	100,000		合成 DNA	15,000		DNA シーケンス解析	20,000		実験台	150,000		【その他】			共同利用機器等施設利用料金	140,000		合計	950,000 円			
区 分	執行額 (円)	備 考																															
【物品費】																																	
試薬類	525,000																																
ガラスおよびプラスチック消耗品	100,000																																
合成 DNA	15,000																																
DNA シーケンス解析	20,000																																
実験台	150,000																																
【その他】																																	
共同利用機器等施設利用料金	140,000																																
合計	950,000 円																																