

都医学研
NEWS

Oct. 2022 No.047

CONTENTS

- ◆特集..... 1
・カルパインプロジェクトの研究内容紹介—カルパインからタンパク質へのメッセージ
- ◆Topics..... 4
・ヒトの前頭葉「運動前野」は複数の領域が役割分担することで目的達成のための行動を実現させている
・思春期児童における低筋力と精神病症状の関連における終末糖化産物の意義
・神経変性疾患患者脳に蓄積する異常型タウ、 α シヌクレイン及び TDP-43 の構造学的、生化学的分類
- ◆開催報告..... 7
・2022年度 第2回 都医学研都民講座
・2022年度 第3回 都医学研都民講座
- ◆編集後記..... 8

カルパインプロジェクトの研究内容紹介
—カルパインからタンパク質へのメッセージ

カルパイン
プロジェクトリーダー
小野 弥子

タンパク質に働きかけるプロテアーゼ

ヒトの身体を作り上げている数十兆の細胞の中では、常にタンパク質が作られて分解される「タンパク質代謝」という現象が起きています。これは細胞がパンクしないため、また個体レベルでの健康維持のために非常に重要です。この時、タンパク質を分解する役割を担うのはこれまたタンパク質で、これらは“プロテアーゼ”と呼ばれます。

カルパインはそのようなプロテアーゼの一種としてタンパク質に働きかける（自身も）タンパク質です（文献1）。ヒトには全体で15種類のカルパインが存在しており、プロテアーゼドメインと様々な機能調節ドメインから構成されています（図1）。多くのカルパインについて、それら

が発現する細胞や組織の種類（骨格筋、神経、皮膚など）によって様々な疾患への関与が報告されています（表1）。またカルパインの遺伝子変異が疾患の原因となることも明らかになり、疾患との関係性を中心に、カルパインが身体の中で果たしている役割が注目されて、現在まで約60年以上に渡って世界の様々な研究室でカルパイン研究が展開されてきています。

環境の変化が起きると細胞はタンパク質の働きを調節して速やかに対応します。そんな時、カルパインというタンパク質はどのように振る舞い、その結果として何が起こるのでしょうか？ 私達のプロジェクトでは、カルパインが働きかけるべき（=分解する）タンパク質を選別する仕組みと、相手型タンパク質の働きが分解によってどのように変化するか（図2）に注目しています。これらを手がかりに、カルパインから他のタンパク質（すなわち、基質タンパク質）への働きかけが健康な状態へとつながる仕組みを理解し、また、もし、そこから外れてしまった場合にはどのように対処できるのか、を解明することを目指しています。

カルパインとしてのルール

カルパインにはカルシウム (Ca^{2+}) との結合により活性化するという性質があります（図2）。そして、細胞の外側における状況変化を伝える手段の1つとして、細胞内の

カルシウム濃度が変動するという現象があります。その変化を受けて、カルパインが相手方のタンパク質に対して「今、こんな状況です」→「一緒に状況に対応しましょう！」→「まずは、ここを分解します」と働きかけるイメージが、様々な状況で想定され、実験結果とともに定着してきています。

近年、このステップにカルシウム濃度以外の要素が加わることによって、カルパインの中で様々な役割分担が存在するのではないかとということが徐々に明らかになってきました。例えば、カルパイン1と2は非常に類似の構造を持ちますが、活性化に必要なカルシウム濃度が100倍違います。この2種類のカルパインは、カルパインファミリー全体においてはサブユニットCAPNS1を共有する例外的な分子です(図1)。それぞれの機能の違いは“ジキルとハイド”と称される場合もあります(文献2)。私達は、そのメカニズムの1つとして、カルパイン1と2が微妙な基質特異性の違いを示すこと、また、それぞれが活性化した後の寿命が異なることによって機能の違いを果たしている可能性を見出しました(文献3)。

活性化したカルパインが、実際にはどのような形で機能しているのか?についても現在色々な知見が集まりつつあります。例えば、カルパイン同士が複合体を形成したり、プロテアーゼドメイン単体が切り出されたりすることによって活性を示す可能性も示唆されています(文献4,5,6)。

カルパインがきちんと働かないと困る…

様々な疾患において細胞内のカルシウム濃度が上昇することがあります。その場合、カルパインは過剰に働いてしまうため、カルパインの働きを抑える阻害剤は、細胞内全体に対して「落ち着こう!」というメッセージを送れると考えられます。この目的はカルパインに直接結合しない分子によっても実現することが可能です。近年、カルパインが直接のターゲットではないけれども抑制されている、という状況を引き起こす分子が複数同定されており、カルパインが活性化する場合全体を調節するメカニズムが注目されています(文献7)。

逆にカルパインの働きが悪かったり、機能しなかったりするために発生した疾患については、カルパインの機能を補ったり修復するアプローチが必要です。それぞれ対象となるカルパインの機能や性質を活用すべく、様々な取り組みが並行して行われています。

限定的に分解するプロテアーゼであればこそ

プロテアーゼとしてタンパク質を分解するカルパインが、どうして相手側のタンパク質に働きかけることができるのか?理由の一つは分解の仕方が「限定的」であるからだと考えられています。カルパインは細胞内のタンパク質を分解しますが、何らかのルールの下、限定的にこの位置と決めて切っているようです。そのルールは複雑で、例え

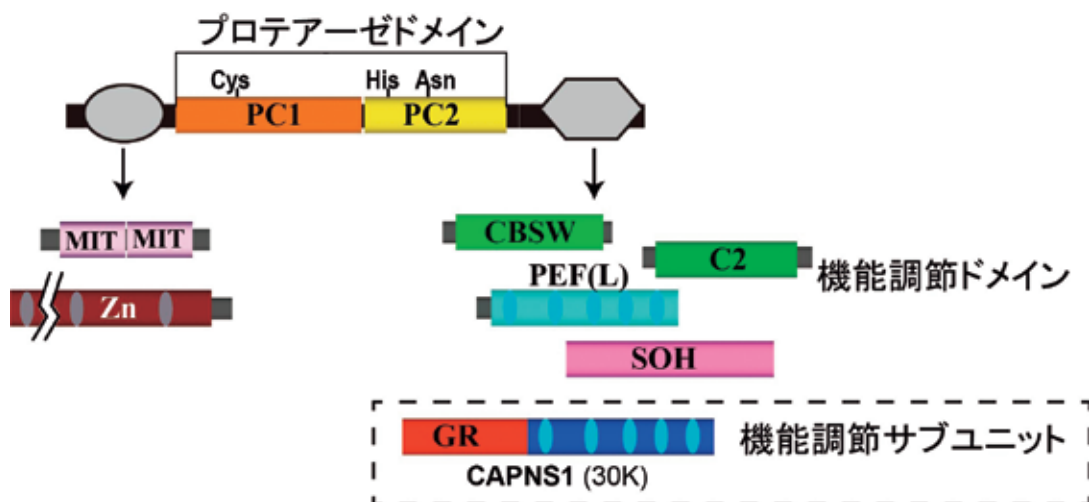


図1 カルパインは、PC1及びPC2から構成されるプロテアーゼドメインの前後に様々な機能調節ドメインを持つ。また、カルパイン1と2には機能調節サブユニットが存在する。

ばこのアミノ酸配列で切る、というようには決められていませんが、ある程度はコンピューターの力を借りて予測可能であると考えられます（文献8）。予測結果と実験結果を合わせると、カルパインが基質タンパク質の構造を変化させることで、タンパク質のもつ機能を活性化させたり、あるいは抑制したり、とタンパク質の働きを調節する役割を持っていることが示唆されます。その際、細胞内でカルパインが分解・機能修飾すべき相手方タンパク質の近くに移動するメカニズムが、さらにカルパインの限定的な振る舞いを支えていることも指摘されています。カルパインは生物の進化の過程において広く長く保存されてきました。基質となるタンパク質とカルパインの関係性、それを取り巻く細胞内の環境がどのように変遷してきたのか、ということも、今後明らかになることが期待されます。

おわりに

都医学研ではマウスや細胞のモデル系を用いてカルパインがタンパク質を分解することと細胞や個体の機能との関係に注目したカルパイン研究を実施しています。今後、カルパインの機能異常に関わる疾患に有用な知見を得ることを目指し、カルパイン研究を次の段階へと進めて行きたいと思えます。

組織	発現している 主要なカルパイン	関連する疾患
骨格筋	カルパイン1,2,3*	筋ジストロフィー
脳,神経	カルパイン1,2	神経変性疾患
皮膚	カルパイン12*	魚鱗癬
食道	カルパイン14*	好塩基性食道炎
レンズ	カルパイン1,2,5*	白内障、硝子体網膜症

表 1

ヒトのカルパインについて、様々な疾患病態への関与が報告されている。
(*カルパイン自体の遺伝子変異が関与するものをカルパインパチーと称する。)

参考文献

1. 秦勝志 他. 医学のあゆみ (2018) 267 (13) 1003-1008.
2. Buadry, M. (2019) Curr Neuropharmacol. 17 (9) 823-829. doi: 10.2174/1570159X17666190228112451
3. Shinkai-Ouchi, F. et al. (2020) Biosci Rep. 40 (11) BSR20200552. doi: 10.1042/BSR20200552
4. Hata, S. et al. (2016) J Biol Chem. 291 (53) 27313-27322. doi: 10.1074/jbc.M116.763912
5. Hata, S. et al. (2020) Biochim Biophys Acta Protein Proteom. 1868 (7) 140411. doi: 10.1016/j.bbapap.2020.140411
6. Gal, J. et al. (2022) Biochim Biophys Acta Mol Cell Res. 1869 (9) : 119298. doi: 10.1016/j.bbamcr.2022.119298
7. Weber, JJ. Et al. (2019) Biochem Pharmacol. 168 :305-318. doi: 10.1016/j.bcp.2019.07.002
8. Shinkai-Ouchi, F. Et al. (2016) Mol Cell Proteom. 15 (4) 1262-1280. doi: 10.1074/mcp.M115.053413

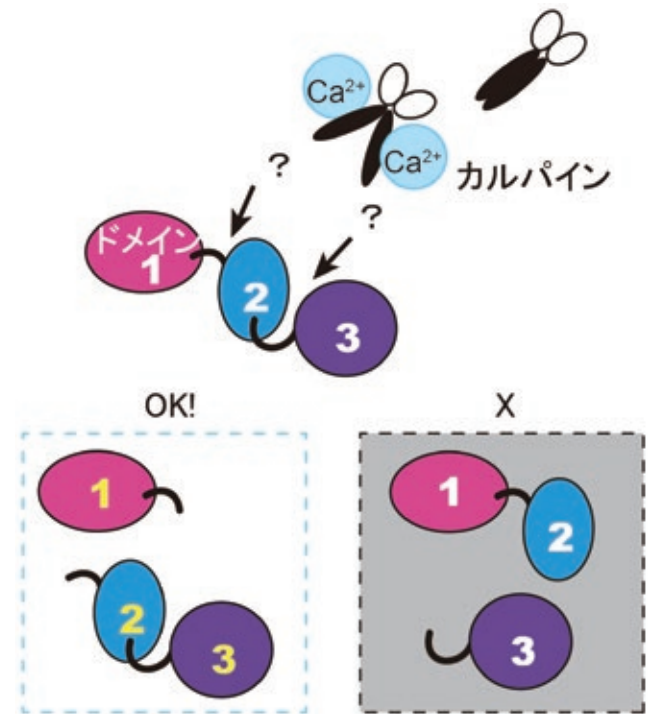


図 2

カルパインはカルシウム (Ca²⁺) との結合により活性化する。カルパインが分解すべき基質タンパク質の多くは、複数のドメイン構造を持つ。正しく認識され、正しい位置で分解されると、細胞の機能が調節される。

(ドメイン：機能に大切な構造の単位のこと。図は3つのドメインを持つ例。)

ヒトの前頭葉「運動前野」は複数の領域が役割分担することで目的達成のための行動を実現させている

脳機能再建プロジェクト 主席研究員 中山 義久

ヒトは目的を達成するために行為を選択し実行しています。例えばドアを開けるという行動の目的を達成するためには、ドアの種類やドアの状況に応じて「右に動かす」「左に動かす」「ドアノブを回す」などの行為を行う必要があります（図1 A）。前頭葉の高次運動野がこのような目的に基づいた行為を選択する行動に関わることが、これまでの臨床研究や動物実験によって示唆されています。この一連の行動を計画する過程には、目的を決め、その目的に基づいて行為を選び、その行為を準備するといった複数のステップがありますが、高次運動野がそれぞれのステップにどのように関与するかは明らかにされていませんでした。

今回私たちの研究グループでは、行動の目的と行為を切り分ける行動課題を作成し（図1 B）、目的に基づいた行為を選択する過程への高次運動野の「運動前野」の関与を、ヒトを対象に調べる研究を実施しました。目的と行為を時間的に分離することで、目的を達成する行動の準備過程の複数のステップを切り分けることができます。それぞれのステップの背景にある脳の機能的役割を明らかにするため、この行動課題を行っている被験者の脳活動を、超高磁場（7テスラ）磁気共鳴装置を利用した機能的磁気共鳴画像法（fMRI）を用いて測定する実験を行いました。

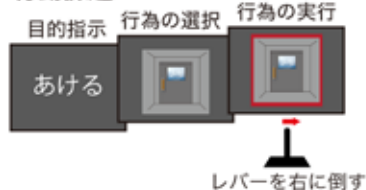
実験の結果、行動目的の決定過程、行動目的から行為へ変換する過程、行為の準備過程の各ステップにおいて、いずれも運動前野の領域が活動することがわかりました。さらに、運動前野の中において、それぞれのステップで活動する領域が異なることもわかりました。行動目的の決定には運動前野の前方の下部、行動目的から行為へ変換する過程には前方の上部が活動し、行為の準備には運動前野の後方部から運動野（一次運動野）にまたがる領域が活動していました（図2）。この結果は、行動計画の複数のステップそれぞれに対応するメカニズムが脳内に実現されており、運動前野内の異なる部位が行動の計画過程でのそれぞれ異なるステップの処理を担うことを示唆しています。

高齢ドライバーがアクセルとブレーキを踏み間違える事故がしばしば問題になりますが、この事故は行為の目的は理解しているものの、それを正しく行為として表現することができなくなる現象であると考えられます。複数の行動計画のステップが脳のレベルで分かれて表現されていることを示唆する今回の結果は、この「わかっているのにできない」現象を理解するための重要な手がかりになることが期待されます。今回の研究で見出された運動前野の役割分担の視点を発展させることで、認知症や高次脳機能障害の病態理解や新たなリハビリテーション法の開発に繋がることが期待されます。

A 行動の目的と行為の関係



B 行動課題



目的に基づく行為を実現するためのステップ



活動が見られた脳領域

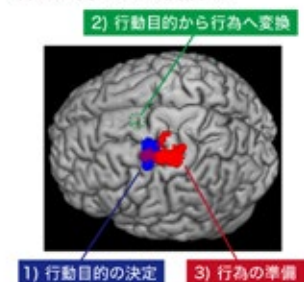


図1 行動目的に基づく行為の例と行動課題

A: 行動の目的と行為の関係。目的と行為は必ずしも一対一に対応しない。
B: 実験で用いた行動課題。行動目的に基づいて、手元のレバーを用いて行為を実行する。

図2 行動の計画過程と活動が見られた脳領域

思春期児童における低筋力と精神病症状の関連における 終末糖化産物の意義

統合失調症プロジェクト 協力研究員 鈴木 一浩
統合失調症プロジェクトリーダー 新井 誠

古くから統合失調症患者さんには、やせ型、低筋力が多いことが報告されています [1]。これまでの大規模なコホート研究でも、10代後半の低筋力がその後の精神疾患発症のリスクであることが報告されています。しかし、その背景にあるメカニズムは、はっきりとわかっていませんでした。私達はこれまでに統合失調症の病態に AGEs [2] が関与する可能性を明らかにしています。そこで今回、私たちは低筋力が AGEs の上昇を引き起こし、それが精神病症状を生じさせるのではないかと着想し研究を行いました。本研究は東京ティーンコホートの参加者 3,171 名の思春期児童のうち、12 歳と 14 歳時に尿検体を提供していただいた 1,542 名の思春期児童を対象に研究を行いました。12 歳と 14 歳時において、筋力として握力を、AGEs として早朝第一尿中のペントシジン値を測定しました。縦断的な解析の結果から、低筋力が続くことにより AGEs が上昇するということがわかりました。そこで、12 歳時の低筋力が 13 歳時の AGEs 上昇を介して、14 歳時の思考障害を引き起こすのではないかとという仮説について、256 名の思春期児童を対象としたデー

タを用いて検討を行い、この仮説によって十分に説明可能な因果関係が存在しているようだということがわかりました (図)。これまでに低筋力と統合失調症との関連について多くの報告がありますが、今回の研究により、そのメカニズムとして AGEs が関与している可能性があると考えられます。AGEs の上昇を防ぐための適切な運動や適切な栄養摂取は、予防策の一つとして重要になるのかもしれませんが。思春期はストレスが増大するライフステージであり、統合失調症の好発年齢です。出来る限り早期に気づいて適切な対処法をともに考えることが大切です。思春期から、低筋力や AGEs の値について注意深く様子を見守ることも意義があると考えられます。

- [1] クレッチマー (1888 ~ 1964) は、著書において体型と気質の関連を報告し、細長型において統合失調症になじみのある気質が多いことを報告した。これは抗精神病薬などの薬剤が開発される前の観察結果であり、この関連性は薬剤による影響を受けていないと考えられる。
- [2] タンパク質と糖が反応して産生される終末糖化産物の総称。老化や糖尿病等さまざまな疾患との関連が指摘されている。

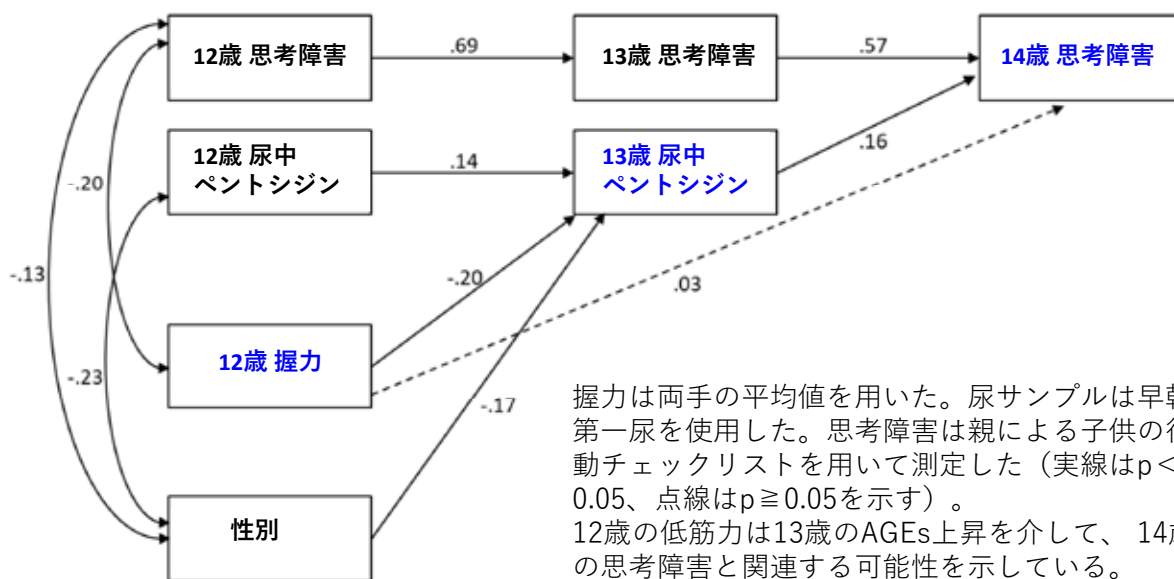


図 12 歳握力、13 歳 AGEs と 14 歳思考障害の縦断関係

神経変性疾患患者脳に蓄積する異常型タウ、 αシヌクレイン及びTDP-43の構造学的、生化学的分類

認知症プロジェクト 客員研究員 樽谷 愛理
認知症プロジェクトリーダー 長谷川 成人

異常型に構造変化したタンパク質の細胞内蓄積及びその脳内拡大は、多くの神経変性疾患の神経病理学的特徴です。アルツハイマー病やピック病ではタウ、パーキンソン病やレビー小体型認知症ではαシヌクレイン、筋萎縮性側索硬化症ではTDP-43が病理を構成するタンパク質として同定されています。また、これらのタンパク質が蓄積する疾患群は、それぞれタウオパチー、シヌクレイノパチー、TDP-43プロテインオパチーと総称され、各プロテインオパチー内では多様な病理像が観察されます。患者脳に蓄積する異常型タンパク質は、アミロイド様の線維構造をとり、リン酸化やユビキチン化等の様々な翻訳後修飾を受けています。興味深いことに、同一プロテインオパチー内における異常型タンパク質の構造学的、生化学的性質は、疾患ごとに異なりますが、同疾患群では共通です。これは、一つの病因タンパク質から異なる高次構造を呈する異常型、すなわち構造多型が形成されることを示唆します。最近では、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により、患者脳から抽出した異常型タ

ンパク質の折りたたみ構造が明らかとなり、構造情報を基にした疾患分類も示されました。そこで我々は、タウオパチー、シヌクレイノパチー及びTDP-43プロテインオパチー患者脳に蓄積する異常型タンパク質の構造学的、生化学的分類について解説しました。さらに、神経変性疾患患者脳に蓄積する異常型タンパク質は、自身を鋳型に増幅し、細胞間を伝播することが実験的に証明されています。この実験的伝播において、患者脳由来異常型タンパク質の構造学的、生化学的性質が引き継がれることは、異常型タンパク質の構造情報が病理形成だけでなく、その脳内拡大においても決定的な意味をもつことを示します。我々は、神経変性疾患における構造多型形成の意義やその形成に関与する遺伝的、環境的要因についても議論しました。本総説で示される主要な神経変性疾患の構造学的、生化学的分類は、神経変性疾患の早期治療、診断を可能にする疾患修飾薬や抗体療法、分子プローブの開発に貢献することが期待されます。

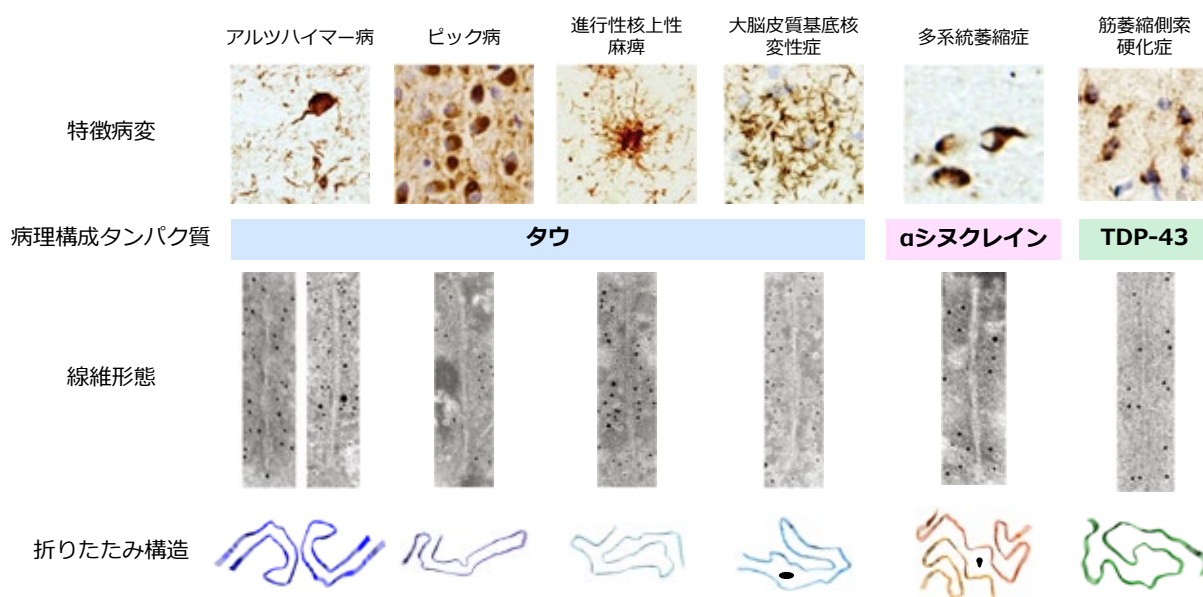


図 神経変性疾患患者脳に蓄積する異常型タンパク質の構造学的特徴

2022年度 第2回 都医学研都民講座 (2022年6月20日 開催)

「マススクリーニングが変える脊髄性筋萎縮症の未来」

こどもの脳プロジェクトリーダー 佐久間 啓

今回の都民講座では、小児の難治性神経疾患に対する新生児マススクリーニングの試みについて取り上げさせていただきました。最初に東京女子医科大学の齋藤加代子先生が、病気の概要と治療法について説明されました。脊髄性筋萎縮症は脊髄の運動神経細胞が変性して失われていくために筋力が次第に低下し、小児期に発症する重症型では呼吸筋の筋力低下により人工呼吸器を使用しなければ生存できないという大変重い病気です。かつては治療法がない不治の病でしたが、近年画期的な新薬が次々に開発され「治せる病気」になりました。具体的には核酸医薬品や遺伝子治療薬品を用いて運動神経細胞の変性の原因である遺伝子の異常を修正するのですが、筋力低下が進行してしまった場合はこれらの治療薬をもってしても改善は見込めません。そこでできるだけ早期に病気を発見して、症状が出現する前に治療を開始することを目的として、生まれたばかりの赤ちゃんの血液を検査して脊髄性筋萎縮症を診断する試み（新生児マススクリーニング）が我が国でも始まっています。治療薬がなければ重い障害を残す可能性が高かった患者さんが、発症する

前に治療を開始したことによって元気に成長していく姿がビデオで紹介され、講演の中でも最も印象的なシーンだったと思います。脊髄性筋萎縮症の診療をライフワークとされてきた齋藤先生の熱い思いが、『新生児マススクリーニングが必要です』というタイトルに表されていると感じました。

続いて東京医科歯科大学の水野朋子先生より、日本における脊髄性筋萎縮症の新生児マススクリーニングの現状についてお話がありました。マススクリーニングの実施方法から問題点に至るまでとてもわかりやすく解説していただきました。このマススクリーニングが一部の都道府県では開始されているということでしたが、全国的に統一された制度の下で行われているわけではありません。全ての患者さんが治療薬の恩恵を受けることができるように、新生児マススクリーニングの体制を整備するとともに、国民のみなさんにもその重要性を理解していただく必要があります。

参加された皆様からは医学的な内容に踏み込んだ専門的な質問も寄せられ、この問題に対する関心の高さが伺われました。



佐久間プロジェクトリーダー



東京女子医科大学 齋藤先生



2022年度 第3回 都医学研都民講座 (2022年7月22日 開催)

「ワクチン開発の過去・現在・未来」

感染制御プロジェクトリーダー 安井 文彦

7月22日(金曜日)、「ワクチン開発の過去・現在・未来」と題して、東京大学医科学研究所教授の石井健先生を講師にお迎えして2022年度第3回都医学研都民講座をハイブリッド方式で開催しました。

まず、私から、「古くて新しいワクシニアウイルスベクターワクチンの開発」と題してお話ししました。ワクシニアウイルスは、有史以来、人類を最も苦しめてきた感染症の一つである天然痘の根絶に貢献したワクチンです。天然痘の根絶後の現在では、ワクシニアウイルスが持つ利点である副作用が少なく、免疫を誘導する能力が高いといった特徴を活かし、他の感染症や腫瘍溶解性ワクチンへの応用も期待されています。およそ200年前にイギリスの医師であるエドワード・ジェンナーによってはじめられたとする天然痘に対するワクチン接種の歴史や、そのワクチンであるワクシニアウイルスの特徴とワクチン・ベクターとして他の感染症への応用について、現在研究を進めている新型コロナウイルス感染症ワクチンの開発を含めてお話ししました。

続いて、石井先生には、海外出張先であるトルコから「ワクチンのサイエンス；分子から倫理まで」と題してオンラインでお話しいただきました。新型コロナウイルスのワクチン開発で一躍注目を浴びた mRNA ワクチンを中心にこれまでに開発されてきたワクチンの種類とそれらの免疫誘導のメカニズムについて、免疫学の視点から詳細にお話し頂きました。また、ワクチン研究が、従来の経験則から、免疫学や微生物学を基にした細胞レベルでの理解、さらには分子(遺伝子)の発現変化を基に構築したデータベースとそこから見出されるバイオ・マーカーの同定といった包括的なシステムワクチン学へと発展してきたことで、科学的な知見に基づいた有効性と安全性の高いワクチンの開発が進められていることを解説して頂きました。さらに、ワクチンの開発は感染症対策にとどまらず、アルツハイマー病等の神経疾患、動脈硬化症等の循環器疾患やがんを対象としたものに展開していることもお話しいただきました。

講演後には、「mRNA ワクチンが今後の様々なワクチン開発の中心となる可能性」や「ワクシニアウイルスをベクター用いる上での安全性」に関する質問など、非常に的確な質問を多く頂き、ワクチン開発への関心の高さを実感いたしました。

講演後には、「mRNA ワクチンが今後の様々なワクチン開発の中心となる可能性」や「ワクシニアウイルスをベクター用いる上での安全性」に関する質問など、非常に的確な質問を多く頂き、ワクチン開発への関心の高さを実感いたしました。



東京大学医科学研究所 石井先生



安井プロジェクトリーダー

編集後記

盛夏に新型コロナウイルス感染症が再拡大し、熱中症のリスクにも留意しなければならぬ厳しい日々が続いていますが、本号刊行の頃には収束に向かっていることを願っております。本号の特集では、カルパインプロジェクトの小野弥子リーダーに最新のご研究内容を紹介していただきました。カルパインの生体内での役割や種々の疾患との関わりについて明快に解説され、私もたいへん勉強になりました。また TOPICS では、いずれもトップジャーナルに掲載された研究成果が各研究員によって平易に説明されており、さらなる展開が楽しみな内容です。今後も国内外へ向けての研究成果の発信と、都民の健康増進・疾病予防に向けた取り組みを都医学研 NEWS で紹介して参ります。またより良い誌面作りのため、読者の皆様からのフィードバックをお待ちしております。

都医学研 NEWS

Oct. 2022 No.047

2022年10月発行

●編集発行

公益財団法人
TMIMS 東京都医学総合研究所
Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science
〒156-8506 東京都世田谷区上北沢2-1-6
TEL: 03-5316-3100(代)
FAX: 03-5316-3150
E-mail: toiawase@igakuken.or.jp
https://www.igakuken.or.jp/

●印刷/株式会社アトミ

