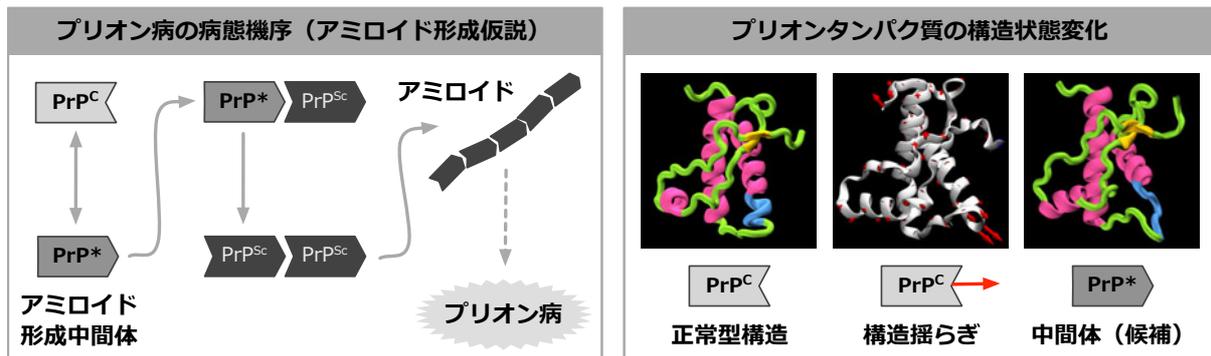


プリオンタンパク質変性状態の構造類比

(名大院・情報科学*, 岐阜大・人獣研**) ○山本 典史*, 桑田 一夫**

コンフォメーション病では、病因タンパク質の部分変性状態が、アミロイド繊維形成中間体としての重要な役割を果たす。本研究ではプリオンタンパク質変性状態の網羅的な収集・解析・分類に取り組み、アミロイド繊維形成中間体の構造及び産生機構を明らかにすることにより、コンフォメーション病の病態機序解明を目指した。



■ 背景：プリオン病を巡る研究動向

プリオン病は、脳の海綿状変性を特徴とする神経疾患であり、感染能を持つタンパク質性因子・プリオンを介して伝達する疾患である。プリオン病を含む幾つかの神経変性疾患群に共通する病態機序として、タンパク質の立体構造異常に基づいた機構が提唱されている。コンフォメーション病と総称されるこれらの疾患群では、タンパク質の構造異常化に伴うアミロイド繊維（不溶性凝集体）形成及び細胞組織への沈着が発症基盤と考えられる。近年、コンフォメーション病に対する新規治療薬候補として、病因タンパク質と特異的に結合することで立体構造変化（異常化）を効果的に制御する低分子化合物（ファーマコロジカル・シャペロン）が注目を集めている。しかし、プリオン病病態機序には不明な点が多く、真に有効な診断法・治療法は未だ確立していない。

近年桑田らは、プリオンタンパク質に結合することでプリオン病の病態進行を顕著に抑制する化合物GN8を発見している¹。我々はこれまで、GN8の抗プリオン作用の機序解明に取り組み、GN8がプリオンタンパク質に結合した場合、ヘリックス末端の構造揺らぎが抑制されることで部分構造変性（ヘリックス → ランダムコイル）が制御される機構を明らかにした²。以上の先行研究から我々は、プリオン病病態機序においては、プリオンタンパク質正常型（PrP^C）から病原性異常型（PrP^{Sc}）への構造変化を橋渡す過渡的中間状態（PrP^{*}）が存在し、病態初期の部分変性過程（PrP^C → PrP^{*}）を経て後、アミロイド繊維形成（PrP^{*} → PrP^{Sc}）に至ると推測している。

■ 目的：アミロイド繊維形成中間体の構造及び産生機構の解明

本研究では、プリオン病の病態機序で重要な役割を果たすアミロイド繊維形成中間体（PrP^{*}）の構造及び産生機構を明らかにすることを目指す。本討論会では、①：レプリカ交換分子動力学法を用いたタンパク質構造空間の網羅的探索、②：得られた膨大な構造情報のカーネル多変量解析を用いた構造類比解析について発表する。

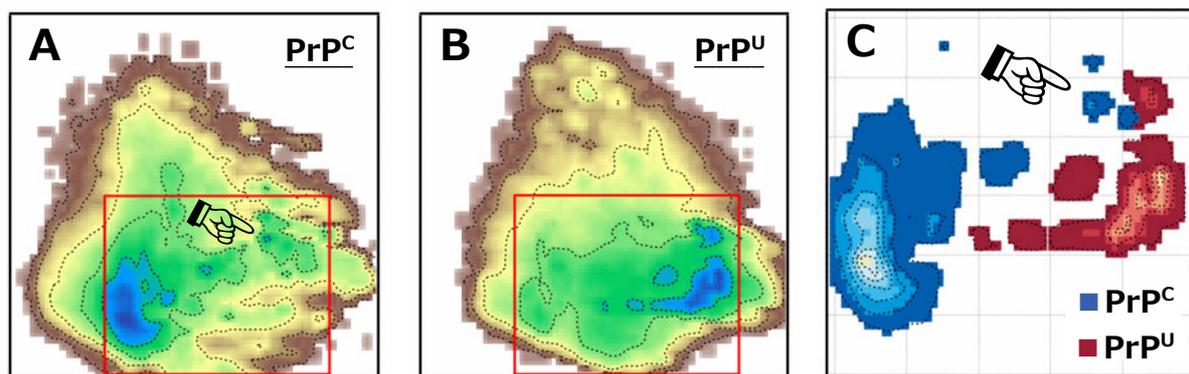
■ 方法：タンパク質構造空間の網羅的探索

本研究の第一段階は、正常型 (PrP^C) からアミロイド繊維形成中間体 (PrP^{*}) に至るタンパク質構造空間の網羅的探索である。これまでのところ、生体内で中間体 (PrP^{*}) が産生される具体的な条件は不明である。そこで本研究では、様々なタンパク質変性条件 (変性剤濃度, pH, 温度など) を走査し分子動力学計算を実行することで、タンパク質構造空間の網羅的探索に取り組んだ。さらに、異なる温度の拡張統計集団を逐次交換するレプリカ交換法を用いることで構造空間を効率的に探索した。

本研究の第二段階は、異常型 (PrP^{Sc}) への構造変化を仲介する中間体状態 (PrP^{*}) の特定である。本研究では、カーネル (=類似性を定義する関数) を用いた多変量解析の手法を用いて、タンパク質構造情報の類似解析に取り組み、「類似する構造状態は近く」「異なる構造状態は遠く」に配置することでタンパク質構造空間を地図化するコンフォメーション・マップを作成した。

■ 結果：タンパク質変性状態の構造類比解析

プリオンタンパク質のレプリカ交換分子動力学計算を実行し、構造情報に多変量解析を適用することで、二次元平面に射影した構造状態分布を得た。図Aの等高線図は、穏和な生理的条件における天然状態 (PrP^C) の自由エネルギー曲面を示す。図Bは、2 M 濃度尿素存在下の変性条件で部分的に変性した状態 (PrP^U) の自由エネルギー曲面を示す。



図Cの等高線図は、PrP^C および PrP^U の各状態分布の比較を示す。それぞれ、図A及び図Bで赤枠内に示す部分領域の状態分布に対応する。構造類比解析の結果、PrP^C 状態分布の一部が PrP^U 状態分布に近接する描像が得られた。この描像は、穏和な条件においても構造揺らぎのために、タンパク質の構造不安定な部位が過渡的に部分変性し得ることを示す。この場合、変性剤添加により誘起される PrP^U 状態の変性構造は、ヘリックス末端部位の疎水性残基 (=複合体を形成し易い) が一部分露出する構造であり、凝集体形成を仲介する中間体 PrP^{*} としての構造的特徴を有する。

以上の結果、病理学的異常な摂動の下では、生体内においても PrP^C の内在的な構造不安定性のために PrP^C → PrP^U に沿う構造変化が起こり得ると推測される。このとき、ヘリックス末端部位の部分構造変性が中間体 PrP^{*} 形成の初期過程で基軸的役割を果たすと考えられる。抗プリオン化合物 GN8 は、変性剤不安定性を示すヘリックス末端部位近傍に架橋することでプリオンタンパク質と結合することが実験的に確認されている¹。したがって、PrP^C に GN8 が結合した場合、ヘリックス末端部位が安定化されることで、アミロイド繊維形成中間体 PrP^{*} の産生が抑制されると推測される²。本研究で提案するタンパク質変性状態の構造類比は、タンパク質構造状態を制御するファーマコロジカル・シャペロン (=コンフォメーション病治療薬) の合理的設計を可能とする鍵になると考えられる。

1. Kuwata, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 11921 (2007)
2. Yamamoto and Kuwata, *J. Phys. Chem. B*, **113**, 12853 (2009)