

Title	タンパク質の「シーディング」が神経変性疾患の病態を進行させる新たなメカニズム
Sub Title	A new pathomechanism regulating neurodegenerative diseases by seeding reaction
Author	古川, 良明(Furukawa, Yoshiaki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>【目的】変異型Cu,Zn-superoxide dismutase(SOD1)は、筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病因タンパク質の一つで、不溶性凝集体として運動ニューロン内に異常蓄積することが知られているものの、その病理機序は明らかでない。SOD1は銅・亜鉛イオンを結合することで機能するが、病因性変異に伴って金属イオンとの親和性が低下し、凝集することを我々は報告してきた。本研究では、SOD1への金属イオン結合がALS病理に果たす役割を明らかにするために、アポ型SOD1を特異的に認識できる抗体の作製に挑戦した。</p> <p>【方法】SOD1の金属イオン結合部位を含んだ60残基からなるペプチドを用いてウサギを免疫し、得られた抗血清をアフィニティー精製することで、抗体画分(アポ抗体)を得た。また、精製したSOD1タンパク質を用いて、金属イオン結合型・非結合型(アポ型)、及び、凝集体を調製し、アポ抗体の認識能や認識部位をELISA法により評価した。さらに、変異型SOD1を発現したALSモデルマウスを用いて、アポ抗体による免疫組織化学的な検討を行い、SOD1のアポ化がALS病態の発現に果たす役割について議論した。</p> <p>【結果】本研究で得られたアポ抗体は、野生型や金属イオン結合型のSOD1を認識せず、アポ型の変異SOD1のみと結合する認識特異性を有することが分かった。また、ALSモデルマウスの脊髄運動ニューロンにおいて、アポ抗体による染色性が疾患早期には観察されたものの、その染色性は病態の進行とともに減少することが分かった。</p> <p>【結論】アポ型の変異SOD1のみを認識する特異的抗体の作製に成功し、変異SOD1における金属イオン結合は、ALSの早期に異常となることが考えられた。</p> <p>Dominant mutations in the gene coding Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD1) cause amyotrophic lateral sclerosis (ALS). A subset of ALS-causing mutations has been reported to disturb/retard the metallation of SOD1 proteins ; however, the pathological significance of such a metal-deficient mutant SOD1 protein in ALS remains obscure. Here, we examined transgenic ALS-model mice expressing mutant SOD1 with a novel antibody (anti-apoSOD) that can exclusively detect mutant SOD1 deficient in metal ions at its copper-binding site in vitro. The ELISA signals with anti-apoSOD were observed specifically in the spinal cords of the model mice at their early pre-symptomatic stages but disappeared as the disease progressed. At very early stages of SOD1-related ALS, mutant SOD1 devoid of metal ions at the copper-binding site is thus considered to exist in the spinal cord. Our results thus suggest that metal-deficiency in mutant SOD1 at its copper-binding site contributes to the pathogenesis in the early stages of SOD1-ALS.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000003-20170374

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	理工学部	職名	准教授	補助額	1,600 千円
	氏名	古川 良明	氏名（英語）	Yoshiaki Furukawa		
研究課題（日本語）						
タンパク質の「シーディング」が神経変性疾患の病態を進行させる新たなメカニズム						
研究課題（英訳）						
A new pathomechanism regulating neurodegenerative diseases by seeding reaction						
研究組織						
氏名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
古川 良明 (Yoshiaki Furukawa)		理工学部・化学科・准教授				
三澤 日出巳 (Hidemi Misawa)		薬学部・薬科学科・教授				
1. 研究成果実績の概要						
<p>【目的】変異型 Cu,Zn-superoxide dismutase (SOD1) は、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の病因タンパク質の一つで、不溶性凝集体として運動ニューロン内に異常蓄積することが知られているものの、その病理機序は明らかでない。SOD1 は銅・亜鉛イオンを結合することで機能するが、病因性変異に伴って金属イオンとの親和性が低下し、凝集することを我々は報告してきた。本研究では、SOD1 への金属イオン結合が ALS 病理に果たす役割を明らかにするために、アポ型 SOD1 を特異的に認識できる抗体の作製に挑戦した。</p> <p>【方法】SOD1 の金属イオン結合部位を含んだ60残基からなるペプチドを用いてウサギを免疫し、得られた抗血清をアフィニティー精製することで、抗体画分（アポ抗体）を得た。また、精製した SOD1 タンパク質を用いて、金属イオン結合型・非結合型（アポ型）、及び、凝集体を調製し、アポ抗体の認識能や認識部位を ELISA 法により評価した。さらに、変異型 SOD1 を発現した ALS モデルマウスを用いて、アポ抗体による免疫組織化学的な検討を行い、SOD1 のアポ化が ALS 病態の発現に果たす役割について議論した。</p> <p>【結果】本研究で得られたアポ抗体は、野生型や金属イオン結合型の SOD1 を認識せず、アポ型の変異 SOD1 のみと結合する認識特異性を有することが分かった。また、ALS モデルマウスの脊髄運動ニューロンにおいて、アポ抗体による染色性が疾患早期には観察されたものの、その染色性は病態の進行とともに減少することが分かった。</p> <p>【結論】アポ型の変異 SOD1 のみを認識する特異的抗体の作製に成功し、変異 SOD1 における金属イオン結合は、ALS の早期に異常となることが考えられた。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
Dominant mutations in the gene coding Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD1) cause amyotrophic lateral sclerosis (ALS). A subset of ALS-causing mutations has been reported to disturb/retard the metallation of SOD1 proteins; however, the pathological significance of such a metal-deficient mutant SOD1 protein in ALS remains obscure. Here, we examined transgenic ALS-model mice expressing mutant SOD1 with a novel antibody (anti-apoSOD) that can exclusively detect mutant SOD1 deficient in metal ions at its copper-binding site in vitro. The ELISA signals with anti-apoSOD were observed specifically in the spinal cords of the model mice at their early pre-symptomatic stages but disappeared as the disease progressed. At very early stages of SOD1-related ALS, mutant SOD1 devoid of metal ions at the copper-binding site is thus considered to exist in the spinal cord. Our results thus suggest that metal-deficiency in mutant SOD1 at its copper-binding site contributes to the pathogenesis in the early stages of SOD1-ALS.						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Eiichi Tokuda, Takao Nomura, Shinji Ohara, Seiji Watanabe, Koji Yamanaka, Yuta Morisaki, Hidemi Misawa, and *Yoshiaki Furukawa	A copper-deficient form of mutant Cu/Zn-superoxide dismutase as an early pathological species in amyotrophic lateral sclerosis	Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease	2018			
古川 良明	筋萎縮性側索硬化症に見られる銅・亜鉛結合タンパク質 SOD1 のミスフォールディングメカニズム	第5回メタロミクス研究フォーラム	2017/11/26			
古川 良明	生体内の銅イオン動態と神経変性疾患	分子研研究会「生体金属動態」	2017/8/26			
Yoshiaki Furukawa	Roles of metallochaperone in the activation of Cu/Zn-superoxide dismutase	第17回日本蛋白質科学会年会	2017/6/22			