慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

| | |
|---|---|
| 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 | 【目的】変異型Cu,Zn-superoxide dismutase(SOD1)は,<br>筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病因タンパク質の一つで,<br>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,<br>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,<br>病因性変異に伴って金属イオンとの親和性が低下し,<br>凝集することを我々は報告してきた。本研究では,<br>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,<br>アポ型SOD1を特異的に認識できる抗体の作製に挑戦した。<br>【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,<br>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,<br>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,<br>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,<br>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,<br>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。<br>【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,<br>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,<br>ALSモデルマウスの脊髄運動ニューロンにおいて,<br>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,<br>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。<br>【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,<br>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。<br>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. |
| 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.

# 2017 年度　学事振興資金（部門横断型共同研究）研究成果実績報告書

2018 年 4 月 3 日

| 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

【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。
【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。
【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。
【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。

## 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 |