

2022.8.18<計3枚>

報道関係者 各位

立命館大学広報課

**アルギニンがタンパク質の異常凝集を阻害するメカニズムを解明
～筋萎縮性側索硬化症(ALS)の治療薬開発に期待～**

立命館大学薬学部の北原亮教授と生命科学部の吉澤拓也講師の研究グループは、アルギニンが前頭側頭葉変性症 (FTLD)や家族性筋萎縮性側索硬化症(ALS)の発症に関わるRNA 結合タンパク質 Fused in Sarcoma(FUS)の異常凝集体形成を阻害するメカニズムを解明しました。本研究成果は、2022年8月17日(日本時間)にイギリス王立アカデミーの国際誌「Physical Chemistry Chemical Physics」に掲載されました。

【本件のポイント】

- FUS が形成する2つの LLPS 状態(LP-LLPS, HP-LLPS)のうち、HP-LLPS で不可逆的な異常凝集体の形成が加速されることが分かった。
- アルギニンやドパミンが、通常の LLPS 状態(LP-LLPS)への作用は小さい一方で、凝集性が高い HP-LLPS を選択的に形成阻害することが示された。
- アルギニンが神経細胞内で異常凝集体の形成を阻害することが知られていたが、その凝集阻害メカニズムを解明した。
- グアニジノ基やフェノール基を有する化合物で同様な異常凝集の形成阻害効果が期待できることから、FUS の異常凝集が原因となる家族性 ALS の医薬品開発が期待される。

【研究の背景】

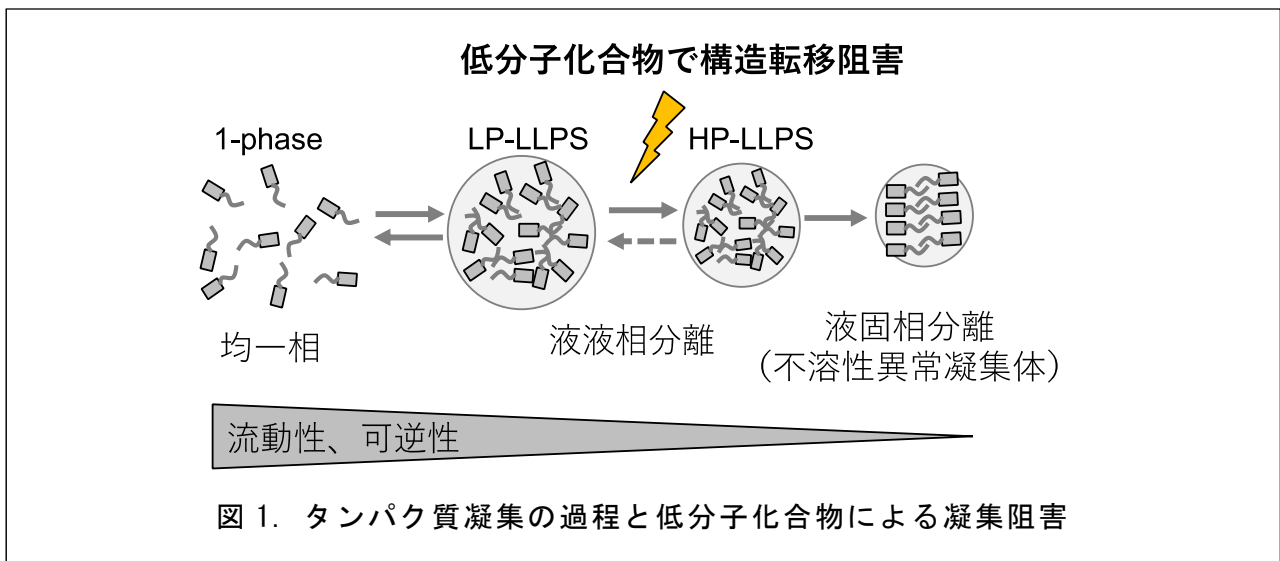
アルツハイマー病や筋萎縮性側索硬化症(ALS)など多くの神経変性疾患には効果的な治療薬がありません。神経変性疾患の多くは、タンパク質が液-液相分離(LLPS)状態を経てアミロイド線維など不可逆な異常凝集体へと成熟し細胞毒性を持つことが知られています(図 1)。ALS の患者では、RNA 結合タンパク質である TAR DNA-binding protein 43 (TDP-43)や Fused in Sarcoma (FUS)の細胞質内での異常凝集が見られ、その凝集メカニズムや疾患との因果関係について研究が進められています。一部の家族性 ALS では、細胞質内での FUS の異常凝集が発症の原因であることがわかっているため(Brain 139, 2380-2394, 2016)、異常凝集の形成メカニズムが盛んに研究されています。本研究グループは、以前に FUS の LLPS には2つのタイプ(LP-LLPS と HP-LLPS)があることを圧力紫外可視吸光度測定(UV-Vis)法により発見しました。圧力下で安定な HP-LLPS は、LP-LLPS に比べ不安定ですが常圧でも存在し、体積が小さく、タンパク質が密に集合した状態であることを示しました。また、圧力ジャンプ法による LLPS の形成と消失のリアルタイム観測により、形成している時間が短い限りは LP-LLPS や HP-LLPS は可逆的に形成と消失を繰り返すことを示しました。

【研究内容】

今回の研究では、圧力ジャンプ UV-Vis 法を用いた LLPS 形成と消失のリアルタイム観察において、LLPS 形成時間を 10 分から 120 分まで変化させました。LP-LLPS の場合は形成時間が 120 分でも完全に可逆的に形成と消失を繰り返す一方で、HP-LLPS では形成時間が 30 分を超えると消失しにくく凝集物が蓄積することが分かりました。この結果は、HP-LLPS で不可逆的な異常凝集体形成が加速されたことを意味します。

光褪色後蛍光回復(FRAP) 法により FUS が形成する液滴の流動性を観察したところ、LP-LLPS では 7 時間以内では全く流動性が変化しないのに対し、30 時間を超えると流動性が顕著に失われ異常凝集体が蓄積することが分かりました。また、加圧により HP-LLPS を形成させた試料では 7 時間以内でも流動性が顕著に低下することが分かりました。流動性の点からも、HP-LLPS 内で異常凝集体の形成が加速されることが分かりました。

低分子化合物による LLPS の形成阻害効果を調べたところ、アルギニン、ドパミン、ピロカテコールが LP-LLPS の形成を阻害しない一方で、HP-LLPS の形成を選択的に阻害することが分かりました(図 1)。また FRAP を用いた実験から、アルギニンは異常凝集体の形成も阻害することも見出しました。これらの結果から、FUS には HP-LLPS を経由した異常凝集経路があること、アルギニンは HP-LLPS の形成を阻害することで異常凝集体形成を顕著に遅延させることが分かりました。



【今後の展開と社会へのインパクト】

神経変性疾患では、疾患原因となるタンパク質が LLPS を形成し、時間と共にアミロイド線維など異常凝集体へと転移する事例が多数報告されています。異常凝集体を形成しやすい LLPS を発見し、その形成を阻害する化合物を探索することで医薬品開発の促進が期待できます。高い濃度でアルギニンを配合したサプリメントが市販されていますが、ALS の予防効果や治療効果については、細胞や動物を用いた更なる研究が必要です。

【論文情報】

題目: Mechanism underlying liquid-to-solid phase transition in fused in sarcoma liquid droplets

著者: Shujie Li^a, Takuya Yoshizawa^b, Yutaro Shiramasa^a, Mako Kanamaru^c, Fumika Ide^d, Keiji Kitamura^a, Norika Kashiwagi^c, Naoya Sasahara^d, Soichiro Kitazawa^c, Ryo Kitahara^{a,c,*}

所属: ^a立命館大学大学院薬学研究科、^b立命館大学生命科学部、^c立命館大学薬学部、
^d立命館大学大学院生命科学研究科

*: 責任著者

雑誌: Physical Chemistry Chemical Physics

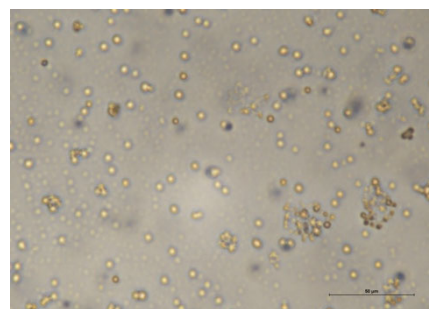
DOI: 10.1039/D2CP02171D

URL: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2022/cp/d2cp02171d>

【用語解説】

■液-液相分離 (Liquid-Liquid Phase Separation: LLPS)

液体が2成分以上で形成されるとき、成分比が異なる複数の液相が形成される場合があります。タンパク質水溶液の場合、タンパク質濃度が薄い相と濃い相に分離します。今回の実験条件では、薄い相の中に濃い相が液滴を形成するため、濁度の変化や顕微鏡により観察できました。図は FUS の液滴形成の高圧顕微鏡写真で、3-5 μm の小さな粒子が液滴です。複数の液滴がクラスター形成した様子も見られます。



【取材・内容についてのお問い合わせ先】

(内容について) 立命館大学薬学部 北原亮

TEL.077-561-5751 E-mail: ryo@ph.ritsumeai.ac.jp

(取材について) 立命館大学広報課

TEL.075-813-8300 E-mail: r-koho@st.ritsumeai.ac.jp