



活性酸素による核酸の酸化に起因する神経変性のメカニズムを解明

概要

活性酸素(※1)は様々な生体構成分子を酸化することにより神経変性を引き起こすと考えられていますが、神経細胞脱落に至る分子メカニズムは不明でした。九州大学生体防御医学研究所・ヌクレオチドプール研究センターの中別府雄作主幹教授、盛子敬助教らは、代表的な酸化塩基である8-オキソグアニン(8-oxoG)のゲノム(生物の持つ全ての遺伝情報)DNAへの蓄積を抑制する酵素(MTH1(※2)とOGG1(※3))が効率よく神経変性を抑制するのに対し、MUTYH(※4)は8-oxoGに誤って取り込まれたアデニン(DNAを構成する4つの塩基のうちのひとつ)の塩基除去修復を介して神経細胞死とミクログリオシス(※5)を誘導することを明らかにしました。これらによりMTH1、OGG1、MUTYHを標的とした新しい神経変性疾患の治療薬や疾患感受性の診断法の開発が可能となります。

本研究成果は、平成24年11月12日(月)(米国東部時間)に米国科学雑誌『Journal of Clinical Investigation』オンライン版に掲載されました。また、12月1日(土)(米国東部時間)発行の印刷版にも掲載されます。

背景

活性酸素ストレスが神経変性疾患の原因の一つとして注目されていますが、どのような分子メカニズムで神経細胞脱落を引き起こすかは明らかにされていません。パーキンソン病、アルツハイマー病、ハンチントン病など多くの神経変性疾患で神経細胞のミトコンドリアDNAにグアニン塩基の酸化体である8-オキソグアニン(8-oxoG)が多量に蓄積することが報告されており、8-oxoGは酸化ストレスによる神経変性のマーカー(指標)の1つとして注目されていましたが、神経変性の原因となるかどうかは不明でした。

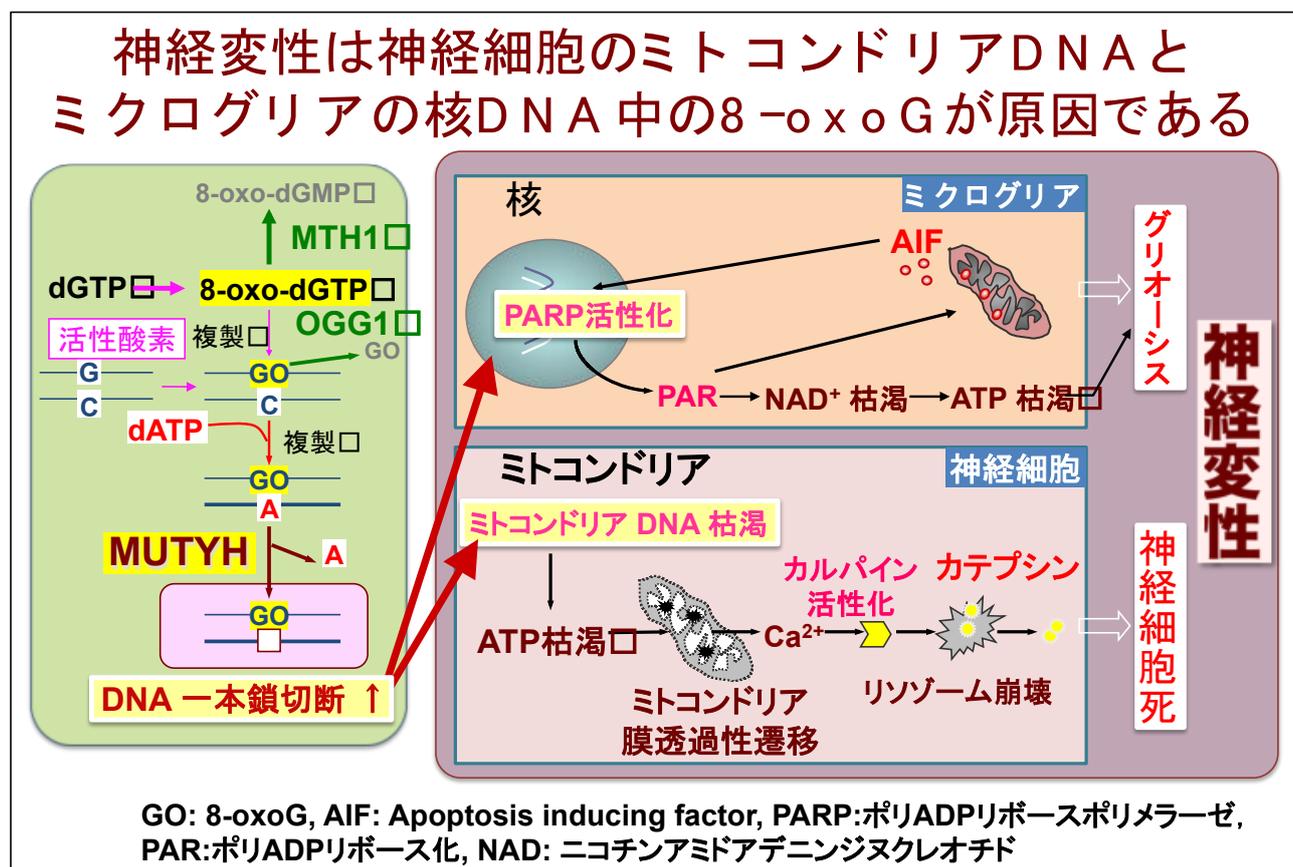
一方、研究グループは、酸化ストレスに曝された細胞内でヌクレオチドプール(※6)中のdGTP(デオキシグアノシン三リン酸:ヌクレオチドの1つ)が酸化されて8-oxo-dGTPとなり、DNA複製に際して核やミトコンドリアDNAに取り込まれて細胞死の原因となることを明らかにしていました(Oka et al., EMBOJ, 27: 421-432, 2008)。本研究では、活性酸素ストレスによって引き起こされる神経変性疾患モデルとして、サトウキビなどにつくカビが産生するミトコンドリア神経毒3-ニトロプロピオン酸(3-NP)の動物投与によって引き起こされるハンチントン病(※7)モデルを用いて、MTH1、OGG1、MUTYHの欠損の影響を解析しました。3-NPはミトコンドリアのコハク酸脱水素酵素の不可逆的阻害剤で、ミトコンドリアでの活性酸素生成を亢進させ、ヒトや猿、マウスが摂取すると線条体(※8)の変性を引き起こし、ハンチントン病様の神経機能障害を発症します。

内容

MTH1、OGG1、MUTYHの3つの遺伝子をそれぞれ単独に欠損するマウスとOGG1/MTH1二重欠損マウス、そして野生型マウスに3-NPを投与したところ、OGG1/MTH1二重欠損マウスが最も重篤な運動機能障害を呈し、線条体に高度な8-oxoGの蓄積を伴う神経細胞脱落を呈することが明らかになりました。3-NPによる8-oxoGの蓄積は線条体変性の早期に主に中型有棘神経細胞のミトコンドリアDNAに認められ、ミトコンドリア機能障害を介してカルパイン(カルシウムで活性化される細胞内タンパク質分解酵素の一種)活性化を伴う神経細胞死を引き起こしました。一方、線条体変性の後期には神経細胞脱落部に増生したミクログリアの核DNAへの8-oxoG蓄積が認められ、poly[ADP-ribose]ポリメラーゼ(PARP)(単量体のADP-riboseを結合させて重合体のpoly[ADP-ribose]を合成する酵素)の活性化とアポトーシス(プログラム細胞死)誘導因子(AIF)の核移行が認められました。3-NPによる線条体神経細胞脱落、ミクログリオシス、そして運動機能障害はいずれもカルパイン阻害剤、あるいはPARP阻害剤の投与により有意に軽減されました。

OGG1 単独欠損マウスと OGG1/MUTYH 二重欠損マウスの 3-NP 投与に対する応答を比較したところ、OGG1/MUTYH 二重欠損マウスにおいては運動機能障害が顕著に軽減し、線条体における神経細胞脱落およびミクログリオシスもほとんど認められませんでした。OGG1 欠損マウス線条体の中型有棘神経細胞のミトコンドリア DNA とミクログリアの核 DNA に認められた塩基除去修復の過程で生じる一本鎖切断の蓄積も OGG1/MUTYH 二重欠損マウスにおいては完全に抑制されました。

私たちは既に、ヒト MTH を高発現するトランスジェニックマウス (※9) が 3-NP による 8-oxoG の線条体蓄積と線条体変性に対して顕著な抵抗性を示すことを報告しています (PLoS Genet 4: e1000266, 2008)。OGG1/MTH1 二重欠損マウスが最も高いレベルの 8-oxoG をミトコンドリア DNA に蓄積し、3-NP の神経毒性に対して最も高い感受性を示す事実と合わせて考えると、ヌクレオチドプール中の dGTP の酸化で生じた 8-oxo-dGTP がミトコンドリア DNA 中に取り込まれて蓄積したと結論できます。細胞分裂しない神経細胞では核 DNA は複製されませんが、ミトコンドリアは神経細胞の機能維持に不可欠なエネルギーを供給するためにその DNA を常に複製し、新しいミトコンドリアをシナプス等に供給しています。ヌクレオチドプール中に生じた 8-oxo-dGTP が DNA 中に取り込まれるには DNA 複製が不可欠です。3-NP を投与した OGG1/MTH1 二重欠損マウスの神経細胞では複製するミトコンドリア DNA のみに 8-oxoG が高度に蓄積し、さらにその後の複製に際して DNA 中に存在する 8-oxoG に対して取り込まれたアデニンを MUTYH が除去することで開始される塩基除去修復 (※10) の中間産物である一本鎖切断の生成が過剰となり、ミトコンドリア DNA が分解枯渇したと考えられます。その結果、ミトコンドリア膜電位が維持されなくなり、細胞質に放出されたカルシウムによって活性化されたカルパインに依存した神経細胞死が誘導されることが明らかになりました。



一方、神経細胞死は炎症反応としてミクログリアの活性化と増殖を誘発しますが、活性化ミクログリアはそれ自身が NADPH oxidase (NOX) 等により活性酸素を生成するために、ミクログリアのヌクレオチドプールにも 8-oxo-dGTP が蓄積します。ミクログリアはその増殖に際して核 DNA を複製することから、ヌクレオチドプールからその核 DNA 中に 8-oxoG が取り込まれて蓄積します。核 DNA 中に多量に蓄積した 8-oxoG もその後の複製に際してアデニンと対合し、MUTYH による塩基除去修復の標的となるため、核 DNA の新生鎖に一本鎖切断が蓄積し、PARP が活性化され、その下流でミトコンドリアに局在する AIF が切断され核に移行してアポトーシスを誘導することが明らかになりました。このような状況はミクログリオシスをさらに増悪させ、線条体の変性を著しく促進すると考えられます。

以上より、酸化ストレスによりヌクレオチドプールに蓄積する 8-oxo-dGTP は神経細胞のミトコンドリア DNA とミクログリアの核 DNA に取り込まれますが、MTH1 による 8-oxo-dGTP の分解・排除と OGG1 による DNA 中の 8-oxoG の除去修復でその蓄積が低いレベルに維持されていることが明らかになりました。また、多量の 8-oxoG がミトコンドリア DNA や核 DNA に蓄積すると MUTYH によって開始される塩基除去修復に依存して2つの異なる経路が活性化され、神経細胞死とともにミクログリオシスが増悪し、重篤な神経変性を引き起こすことが明らかになりました。

■効 果・今後の展開

8-oxoGはアルツハイマー病やパーキンソン病患者の剖検脳の解析でも神経細胞のミトコンドリアに顕著に蓄積することが分かっています。このような神経変性疾患や活性酸素ストレスが関わるその他の臓器の変性疾患の発症にも今回明らかにした分子メカニズムが関与する可能性が強く示唆されます。ヒトのMTH1、OGG1、MUTYH遺伝子には様々な遺伝子多型が報告されており、その解析から神経変性感受性の診断が可能となると期待されます。また今後、MTH1とOGG1の発現誘導・機能亢進、MUTYHの発現・機能抑制を分子標的とした新たな創薬により、このような老化とともに発症頻度が激増する変性疾患の新たな治療戦略を提供することが可能となります。

【用語解説】

- ※1 活性酸素：酸化力の強い酸素（スーパーオキシド、過酸化水素、水酸基ラジカルなど）。酸素呼吸の過程で必然的に発生するほか、生体防御のために生物が能動的に産生するもの、その他様々な要因により発生する。
- ※2 MTH1：ヌクレオチドプールに溜まった 8-oxo-dGTP を分解する酵素（ヌクレオチドプール浄化酵素）
- ※3 OGG1: DNA 中に溜まった 8-oxoG を切り出す修復酵素（8-oxoG DNA グリコシラーゼ）
- ※4 MUTYH: DNA 中に溜まった 8-oxoG に対して誤って取り込まれ対合したアデニンを切り出す修復酵素（アデニン DNA グリコシラーゼ）
- ※5 ミクログリオシス：脳内で免疫防御を担っているグリア細胞の一種であるミクログリアが炎症反応の1つとして増殖すること。活性酸素の発生を伴い、組織傷害の原因となる。
- ※6 ヌクレオチドプール：DNA と RNA の前駆体、さらにシグナル伝達、エネルギー伝達、代謝制御などのメディエータとして機能する遊離ヌクレオチドの供給源
- ※7 線条体: 大脳半球の中心部にある大脳基底核の一部。運動機能への関与が最もよく知られているが、意思決定などその他の認知過程にも関わると考えられている。線条体を構成する神経細胞の大部分は、GABA 作動性の中型有棘細胞である。
- ※8 ハンチントン病：大脳半球の中心部にある線条体の神経細胞が変性・脱落することにより進行性の不随意運動（舞踏様運動）、認識力低下、情動障害等の症状が現れる常染色体優性遺伝病。
- ※9 トランスジェニックマウス：外来の遺伝子 DNA を細胞内に導入し、個体にまで育てたマウス
- ※10 塩基除去修復：損傷した塩基の部分を修復酵素（DNA グリコシラーゼ）で切り出した後、修復合成により正しいヌクレオチドを挿入し、切断端を再度結合して修復すること。

【お問い合わせ】

生体防御医学研究所 主幹教授
ヌクレオチドプール研究センター センター長 中別府雄作
電話：092-642-6800
FAX：092-642-6791
Mail：yusaku@bioreg.kyushu-u.ac.jp