

2008年5月22日
独立行政法人 理化学研究所

アルツハイマー病の原因となる酵素の活性調節機構を解明

- アミロイド前駆体を捕まえるポケットの大きさと水分子の存在が決め手 -

高齢化社会に突入したわが国では、約100万人を超す人々が認知症疾患に見舞われています。この疾患に対する対策が急務の課題となっています。認知症患者の約半分にあたる人々がアルツハイマー病とされ、依然として増加傾向にあります。このアルツハイマー病はベータ（β）セクレターゼ（BACE1）とガンマ（γ）セクレターゼと呼ぶ2つの酵素が、アミロイド前駆体タンパク質（APP）を切断し、老人斑を構成するアミロイドベータペプチド（Aβ）をつくるのが原因と考えられています。治療薬の開発もこの2つの酵素の阻害剤がターゲットとなり、世界中が挑戦しています。

理研脳科学総合研究センター構造精神病理研究チームは、この発症の原因となる酵素「ベータ（β）セクレターゼ（BACE1）」の、活性型立体構造を決定し、活性調整のメカニズムを解明しました。酵素は生体内の環境にしたがって、非活性の状態から積極的にAPP切断を行う活性型へと変化します。研究グループは、この微妙に変化するさまざまな状態のBACE1の結晶を作成し、大型放射光施設SPring-8の理研構造ゲノムビームラインなどのX線結晶解析システムを使って、結晶の立体構造を決定し、活性状態を厳密にとらえることに成功しました。

その結果、BACE1が活性状態になると、APPを取り込むためのポケットが大きく開き、ポケット内部もAPPを選択的に取り込める状態に変化することが明らかになりました。また、ポケットが大きく開いても、APPの切断反応に欠かせない水分子が著しく減少すると、切断反応が起こらないことも突き止めました。酵素の活性調節機構の解明や酵素の働きを調整する薬剤開発に新たな知見をもたらすものと期待されます。

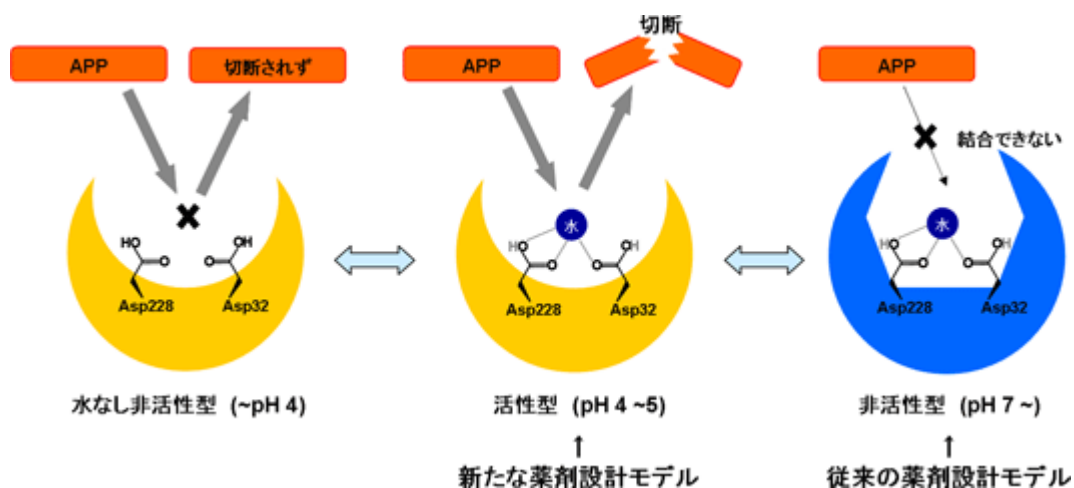


図 BACE1における活性調節機構

2008年5月22日
独立行政法人 理化学研究所

アルツハイマー病の原因となる酵素の活性調節機構を解明

- アミロイド前駆体を捕まえるポケットの大きさと水分子の存在が決め手 -

◇ポイント◇

- ・原因酵素 BACE1 の活性は大きく開いたポケット構造でアミロイド前駆体をキャッチ
- ・BACE1 の非活性型は、ポケットの内部での切断に重要な水分子を減少させる
- ・新しいアルツハイマー病薬創製へ向けた応用研究に期待

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、アルツハイマー病発症の原因となる酵素「ベータ（β）セクレターゼ（BACE1）^{*1}」の活性型立体構造を決定し、活性調節のメカニズムを解明しました。理研脳科学総合研究センター（田中啓治センター長代行）構造神経病理研究チームの貫名信行チームリーダー、清水英明研究員（現：理研生命分子システム基盤研究領域システム研究チーム研究員）による研究成果です。

アルツハイマー病は、認知症をきたすことが最も多い疾患で、高齢化社会において重要な課題となる病気の1つです。アルツハイマー病は、BACE1 という酵素がアミロイド前駆体タンパク質（APP）を切断して、アミロイドベーターペプチド（Aβ）と呼ぶペプチドを産出し、それが蓄積することで発症すると考えられています。このBACE1 の阻害剤は、アルツハイマー病の治療薬として最も期待されており、世界中でその研究開発が精力的に行われています。

BACE1 は、生体内の環境に応じて、非活性状態から積極的にAPP切断を行う活性状態へ変化します。研究グループは、BACE1 のX線結晶構造解析を行い、BACE1 の構造と活性状態の相関について詳細に解析しました。その結果、今まで不明だった活性型BACE1 の立体構造を原子レベルで解明し、その活性調整機構を明らかにすることができました。

今後、本研究で決定した活性型構造を薬剤設計などに用いると、新たな薬剤の設計や既存のBACE1 阻害剤の改良など、より高い薬理作用を持つアルツハイマー病治療薬の創製へつながると考えられます。また、活性調節機構に関する知見をもとに、生体内でのBACE1 の働きをうまく制御することが可能な薬剤の開発につながることも期待できます。

本研究成果は、米国の学術雑誌『*Molecular and Cellular Biology*』（6月1日号）に掲載されます。

1. 背景

高齢化社会を迎えた現在、認知症性疾患への対策は社会的に重要な課題です。現在、国内に約100万人以上もの認知症の高齢者がいると考えられ、その約半分がアルツハイマー病患者であるとされています。今後、その数は増加すると予測されるため、早期の治療薬の開発が求められています。アルツハイマー病は、ベータ（β）

セクレターゼ (BACE1) とガンマ (γ) セクレターゼと呼ばれる 2 つの酵素によって、アミロイド前駆体タンパク質 (APP) を切断して、老人斑を構成するアミロイドペプチド (A β) を作ることが原因と考えられています (図 1)。これら 2 つの酵素の阻害剤は、アルツハイマー病の治療薬として最も期待されており、世界中でその研究開発が精力的に行われています。現在、さまざまな種類の BACE1 阻害剤が開発中ですが、注射薬や内服薬として使用するためには、分子の小型化など多数の改良が必要です。

タンパク質と薬剤との関係は鍵と鍵穴に例えられるように、それぞれの形に大きく依存します。薬剤が作用する部分のタンパク質の形がわかると、その形状を反映した化合物をデザインすることが可能になります。また、タンパク質は、周辺環境によって形や性質が変化し、それに伴ってタンパク質の活性状態や薬剤との結合力も変化します。高活性状態のタンパク構造、もしくは薬剤が結合しやすい状態のタンパク構造などを明らかにできると、より効果的な薬剤を効率的にデザインすることが可能となります。

2. 研究手法と成果

BACE1 の活性は、周辺環境、特に pH によって大きく変化します (図 2)。実際、生体内でも酸性的な細胞内小器官^{*2}などで活性化していると考えられます。しかし、活性状態の BACE1 がどのような形をしているのか、また、周辺環境に応じてどのように活性をコントロールしているのかは、これまでわかっていませんでした。

研究チームは、大型放射光施設 SPring-8 の理研構造ゲノムビームライン BL26B1、BL26B2、理研構造生物学ビームライン BL44B2 を利用して、BACE1 の X 線結晶構造解析を行いました。X 線結晶構造解析は、結晶化したタンパク質を測定に使用しますが、今回の研究では、BACE1 の活性状態に応じた結晶調整方法を確立しました。そのため、活性状態を厳密に反映した BACE1 の微妙に変化した立体構造を解析することが可能になり、今まで不明だった活性型 BACE1 の立体構造を決定することができました。これらの解析結果を用いて、BACE1 の立体構造と活性の関係について詳細な解析を行いました。

その結果、BACE1 が活性状態になると APP を取り込むためのポケットが大きく開くとともに、ポケット内部の形状も APP を選択的に取り込めるように変化していることがわかりました (図 3A、B)。一方、非活性型の pH7 以上ではポケットは閉じているため、APP が活性部位に入り込むことができませんでした。また、非活性状態の pH4 以下では、ポケットは十分な大きさであるものの、APP の切断反応に必要なとされる水分子が著しく減少しているため、切断反応が起こらないことも明らかにしました (図 4)。

これらの複合的な構造変化によって、BACE1 は APP の取り込みや切断反応を厳密にコントロールしていると考えられます (図 5)。

3. 今後の期待

従来の BACE1 阻害剤の設計には、非活性型の立体構造がモデルとして広く使われてきました。この非活性型 BACE1 は、薬物結合を邪魔するような形状をしてい

るため、薬剤に対する結合力は低く、薬剤設計のひな型としては適していませんでした。一方、活性状態の BACE1 は、低濃度の薬剤でも十分に結合することから、薬剤を取り込みやすい形状をしていることとなります。今後、活性型 BACE1 の構造情報を用いた新たな薬剤の設計や既存の阻害剤の改良など、治療薬実用化へ向けた研究が促進することが期待できます。また、活性調節機構に関する知見をもとに、生体内で BACE1 の働きをうまく制御するような薬剤の開発への糸口ともなります。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

脳科学総合研究センター 構造神経病理研究チーム

チームリーダー 貫名 信行 (ぬきな のぶゆき)

Tel : 048-467-9702 / Fax : 048-462-4796

脳科学研究推進部 企画課

大伴 康志 (おおばん やすし)

Tel : 048-467-9596 / Fax : 048-462-4914

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

<補足説明>

※1 ベータ(β)セクレターゼ(BACE1)

501 個のアミノ酸で構成される膜貫通型のアスパラギン酸プロテアーゼ。活性中心に 2 つのアスパラギン酸があり、酸性環境下で活性を持つ。BACE1 欠損マウスが明らかな異常を示さなかったことから、BACE1 阻害剤は重篤な副作用がないことが期待され、アルツハイマー病の治療標的として有力視されている。

※2 細胞内小器官

核、小胞体、ゴルジ体、エンドソーム、リソソームなど細胞の内部で特に分化した形態や機能を持つ構造の総称。BACE1 は主に後期ゴルジ体、エンドソームなど酸性化した細胞内小器官に局在し、細胞膜との間を循環していると考えられている。

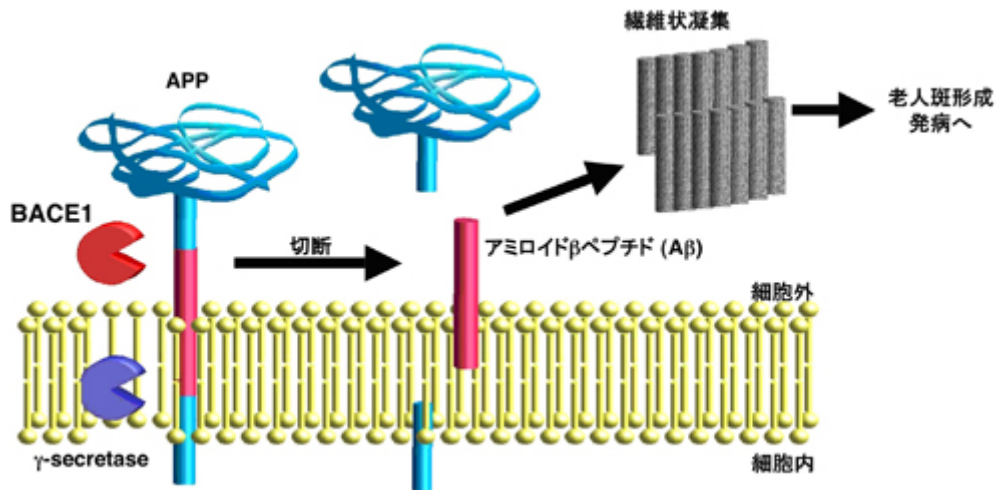


図1 BACE1 と γ -secretase による A β 産出機構

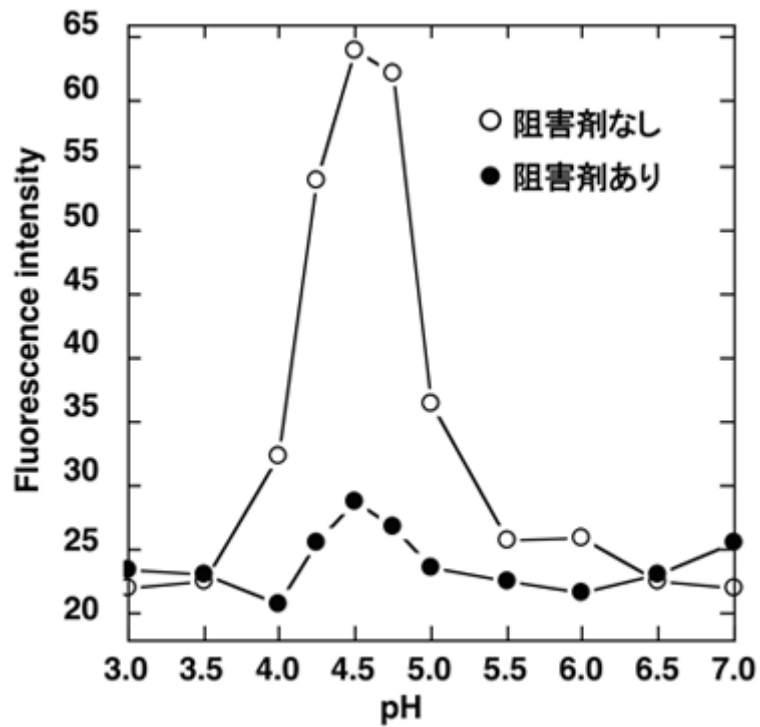


図2 BACE1 活性と pH の関係
BACE1 は pH 4.5 付近で最大活性を示す。

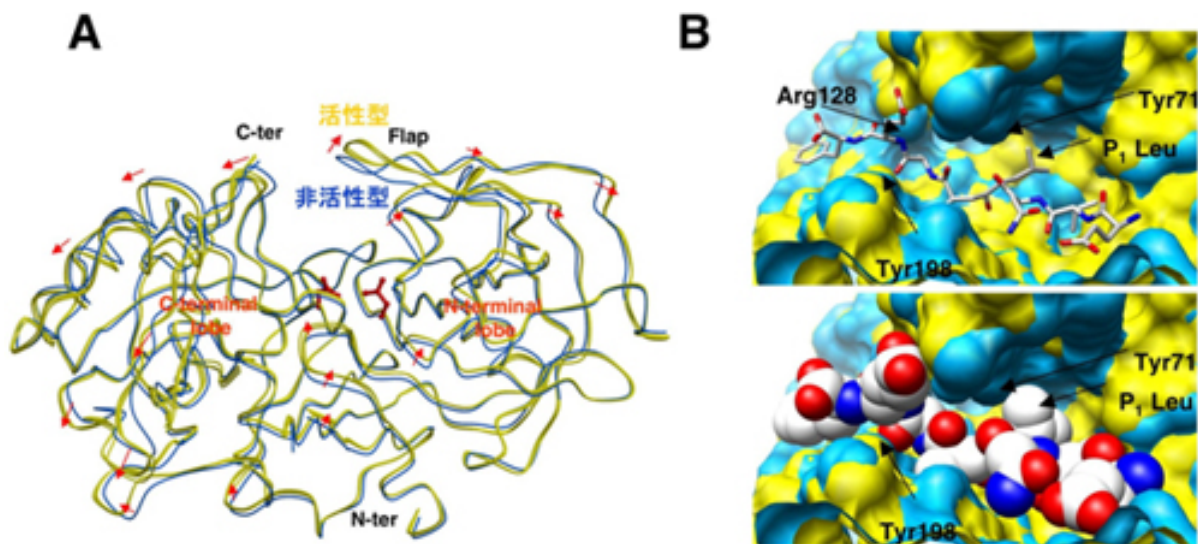


図3 活性型（黄）、非活性型 BACE1（青）の構造比較

A： BACE1 の全体構造の比較。中央上部のくぼみに APP が結合する。活性に応じてくぼみが開閉する。矢印は非活性型から活性型への変化を表している。

B： くぼみ内部の APP 結合部位表面の形状比較。APP のモデルとして OM99-2（白）を合成（上：スティックモデル、下：空間充填モデルで表示）。結合部位周辺の形状も変化している。

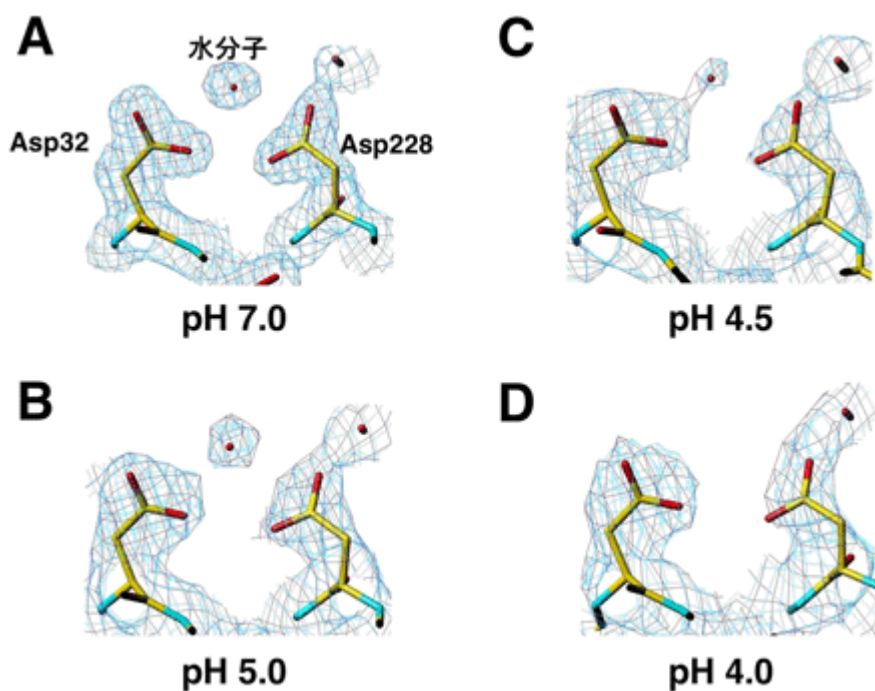


図4 活性中心の水分子の電子密度の変化

pH が下がると APP を切断するときハサミの役割をする水分子が減少している。

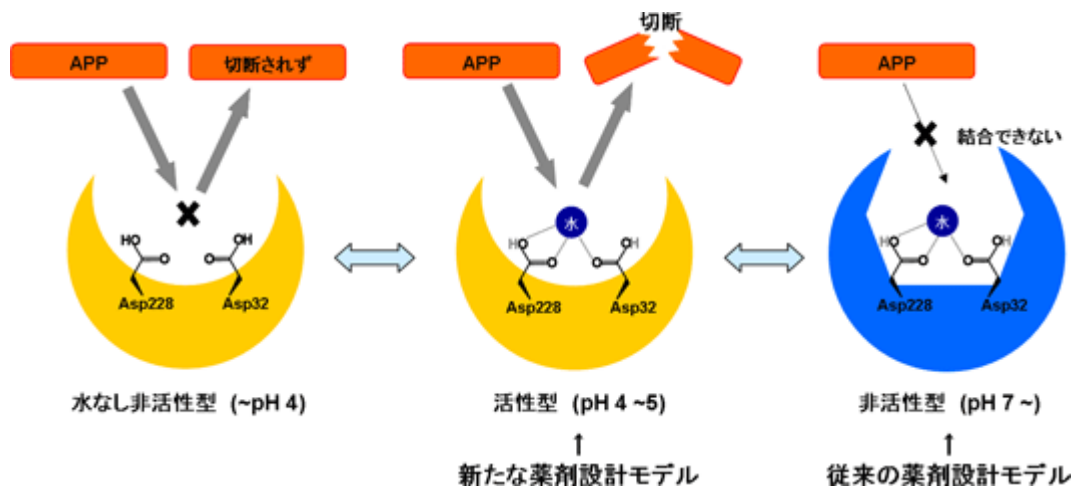


図5 BACE1における活性調節機構

pH 7.0 付近では、BACE1 は APP と結合ができない非活性型構造（青）をしている。
 pH 5.0 以下になると、BACE1 は APP と結合可能な活性型構造（黄）へシフトし、
 APP の切断が可能になる。また pH 4.0 以下では、ハサミの役割をする水分子が減少
 するため、APP が結合しても切断することができない。