

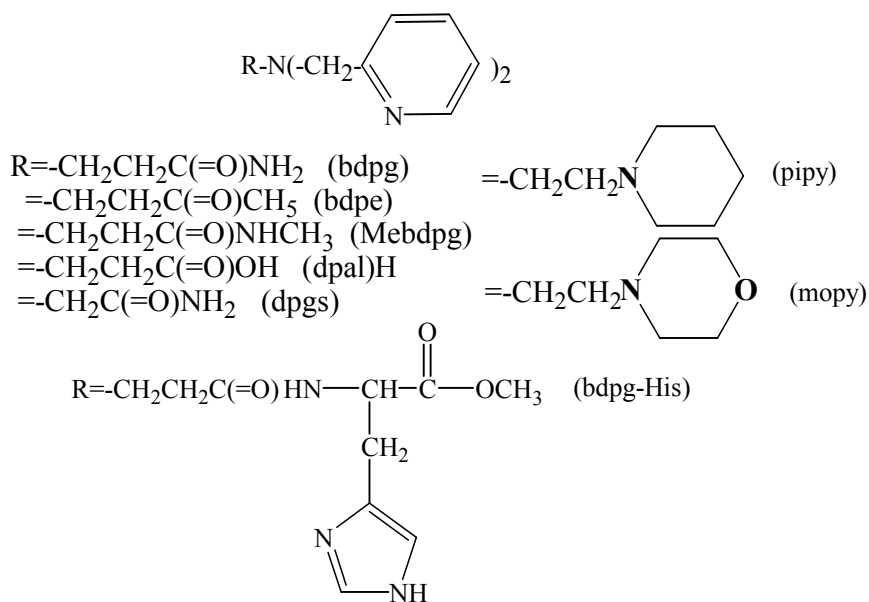
二量体 SOD の溶液中での構造変化：孤発性 ALS の 発症機構の解明に向けて

(山形大学理学部) ○西田 雄三

1. 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は上位および下位運動ニューロンが選択的かつ系統的に障害される代表的な神経性疾患である。下位運動ニューロンの変性による著明な四肢、体幹の筋萎縮、筋力低下、球麻痺症状が常に進行性に悪化し、通常 2～3 年で全身の著しい筋萎縮と呼吸困難を来たすが、現在でも有効な治療法は発見されていない。

1993 年、家族性 ALS で発見された Cu/Zn スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) の遺伝子変異が注目され、ALS 研究は大きく進歩した。しかし、その後の研究で遺伝子変異による SOD 活性の低下と発症とはあまり関係していないことなどから、より広範囲な分野からの解明が望まれている。[1] ALS 研究の現状は 1) "gain-of-function", 2) instability of mutant SOD, 3) aggregation の 3 つのキーワードで示されよう。

2. 1) "gain-of-function" については多くの研究がなされてきた。われわれは、SOD 反応の最終段階で生成する Cu(II)-OOH が、周辺基のわずかな違いで多様な反応性を示すことを、下に示した配位子の銅錯体を用いて明らかにし、"gain-of-function" の本質を科学的に解明してきた。[2]



にしだ ゆうぞう

3. 1. で述べた 3 つのキーワードを有機的・統一的に解決してこそ、ALS 解明への道になる。キーワード 2) の instability は重要であるが、これを調べる手法があまり無い。遺伝子変異が発見されてから、多くの変異 SOD (現在では 100 種を超える) の結晶構造解析が報告されたが、[3] ここで重要なのは、溶液中での SOD 酵素の構造変化を捉えることである。

われわれはすでに、蛋白の溶液中での会合状態の研究にはキャピラリー電気泳動法 (CE) が有効であることを報告してきた。[4] 図-1 (A) には、SOD (bovine, Sigma) 溶液の CE を示した。この条件下で 7 分あたりに観測されるのが SOD 酵素に由来するが、問題はそのピークの形状と強度である。この溶液に過酸化水素 (H_2O_2)/ $[\text{Cu}^{2+}] = 5$) を加えると、その強度が時間とともに減少していく様子が解る。この挙動は過酸化水素の濃度を増すと、より早くなる。この CE の変化はわれわれのこれまでの結果から言えば、二量体 SOD 酵素のモノマー SOD への解離反応が起きていることを強く示唆している。[5]

bovine SOD では、過剰の過酸化水素の添加で 1 個の銅イオンが還元される。この結果、SOD 酵素の構造が非対称になるが、それは二量体構造の不安定化を誘導する。それが CE で解離という現象で観測できたものと考えている。この解離のしやすさが、SOD 酵素の不安定さ (instability) を示し、その結果、他の蛋白質との会合反応 [6] が進行すると考えられる。この SOD の "instability" を引き起こす原因として 1) の "gain-of-function" に加えて、他の因子をも検討した。

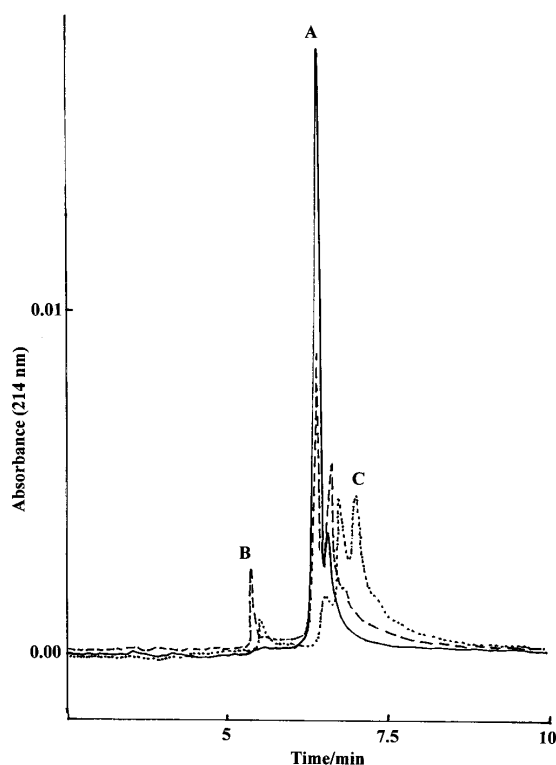


図-1. SOD 溶液の CE (A) .その溶液に過酸化水素を加え、直後に測定 (B) , 60 分後に測定 (C) .

- [1] Yamanaka and Cleveland, *Neurology*, 65(2005) 1859. [2] Nishida, *Med. Hypothesis Res.*, 1(2004), 227. [3] Hart et al. *Protein Science* 7(1998) 545. [4] Nishida, et al., *Annu. Report CIN*, **2004**, 1; *Synth. Reac. Inorg. Metal-org. Nano-Metal Chem.* 35(2005), 379. [5] Nishida et al. *Chem. Lett.*, 34(2005), 140; *Z. Naturforsch.* 61c(2006), 273. [6] O.-Matsumoto and Fridovich, *PNAS*, 99(2002) 9010.