

パーキンソン病原因因子 DJ-1 を標的とする 治療薬候補化合物の同定と解析

環境応答統御科学分野
渡邊翔太郎

【背景と目的】

癌遺伝子であると同時に家族性パーキンソン病原因遺伝子 PARK7 としても同定された DJ-1 遺伝子の産物タンパク質 DJ-1 は転写調節能やミトコンドリア制御機能、抗酸化ストレス機能を有する多機能なタンパク質である。また、その抗酸化ストレス機能は 106 位システイン残基(C106)の酸化によって調節されており、C106 が軽度に酸化されたスルフィン酸(C106-SO₂H)型は活性型、過度に酸化されたスルホン酸(C106-SO₃H)型は不活性型であると考えられる。C106 の過度の酸化による抗酸化機能消失が神経細胞死を引き起こし、パーキンソン病(PD)発症に繋がると考えられる。PD 患者には C106 を含む様々な DJ-1 遺伝子変異や、C106 過剰酸化型 DJ-1 タンパク質の蓄積が報告されている。以上のことより、DJ-1 の過剰酸化を防ぎ抗酸化ストレス機能を維持することで PD の発症を防ぐことができると考えられる。そこで、本研究では、DJ-1 の C106-SO₂H に結合し DJ-1 の機能維持に寄与する化合物を同定することにより、DJ-1 をターゲットとした PD 治療薬開発のための有望な化合物を見出すことを目的に実験を行った。

【方法】

富士通株式会社に約 250 万化合物のバーチャルスクリーニングを依頼し、DJ-1 の C106-SO₂H に結合する可能性のある化合物を 125 種類に絞り込んだ。そのうち、結合定数が上位の 17 化合物について MTT assay により神経細胞死抑制能を検討した。また、分子間相互作用定量装置 Affinix Q を用いて in vitro で化合物と DJ-1 の結合を確認した。

【結果と考察】

ヒト神経芽腫 SH-SY5Y 細胞において過酸化水素や 6-ヒドロキシドーパミンで誘導される酸化ストレスに対して細胞死を抑制する化合物 23 を発見した。ラット中脳より得たニューロン初代培養細胞においても同様の効果が見られた。また、siRNA 発現ベクターを導入し、DJ-1 をノックダウンした SH-SY5Y 細胞において、化合物 23 の神経細胞死抑制効果が低下したことから、この効果に DJ-1 が関与していることが示唆された。Affinix Q を用いた結合実験では化合物 23 と DJ-1 との結合が確認できたが、C106 をセリンに変異させた DJ-1 との結合も確認されたので、化合物 23 の DJ-1 結合能および神経細胞死抑制効果は、当初のスクリーニング着眼点とは異なり、DJ-1 の C106 以外の領域を介していることが示唆された。

中脳黒質に 6-ヒドロキシドーパミンを注入することにより、PD の起因となる中脳黒質ドーパミン神経細胞死を模した PD モデルラットを作製することができるが、化合物 23 は 6-ヒドロキシドーパミンによる神経細胞死誘導を抑制すること、ラット中脳より得たニューロン初代培養細胞においても同様の細胞死抑制効果を示すことから、PD 治療・予防薬として有望であると考えられる。化合物 23 の作用機構を、DJ-1 との相互作用を含めて詳細に検討し、PD 治療・予防薬としての実用化を図っていきたい。