

痴呆の病因の解明の糸ロ-アミロイドタンパクの酸化的沈澱反応

吉岡正則、摂南大学薬学部 573-0101 大阪府枚方市長尾峠町45-1

E-Mail; masy@pharm.setsunan.ac.jp

要旨

痴呆、プリオン病およびアミロイド症などに共通するタンパク質の沈澱は、コンゴレッドで染色される特有な性質を有する理由は不明であった。本研究者らは、モリブデン欠損症患者のアミロイドタンパクの一種であるトランスサイレチンのシステイン残基がS-スルホン化されていることを見出した。S-スルホン化体は、コンゴレッドで染色された。また、ゆっくりと沈澱、フィブリル化する共通の性質を示した。S-スルホン化が特有な性質と共通する沈澱の誘発に重要と考え、トランスサイレチンおよびシステイン残基近傍ペプチドを酸化的分解し、S-スルホン化する機構を質量分析法により明らかにした。

一方、1970年に本研究者らが患者尿から取り出したキノホルムと鉄イオンキレートが端緒となって、スモン病の原因と分かった。ところが最近になりキノホルムが痴呆に効果があると欧米の研究で明らかにになってきた。キノホルムがアミロイド沈澱に含まれている銅や鉄イオンとキレート化合物を形成して、過酸化水素の発生を抑制すると推定されている。しかし、逆にスモン病では、過剰のキレート化合物が酸化的沈澱に関与していた可能性を論じた。

アミロイド患者のトランスサイレチンのトランスサイレチン-S-スルホン酸への酸化

アミロイド蛋白の沈澱反応は、痴呆の一種のアルツハイマー病や悲惨な狂牛病を代表とするプリオン病などの共通の病因となっている。国際的な問題として幅広く研究されているにもかかわらず、蛋白のフォールディングが正常と病態では異なるという事以上には分かっていない。[1]

本研究者らは、アミロイドタンパクの一つであるトランスサイレチンの酸化的沈澱反応の基本的な機構を発見した。モリブデン欠損症患者の血液中トランスサイレチンの質量分析では、その一つのシステイン残基がS-スルホン化されていた。図1の質量スペクトルの大きなピークはS-スルホン化体である。[2]

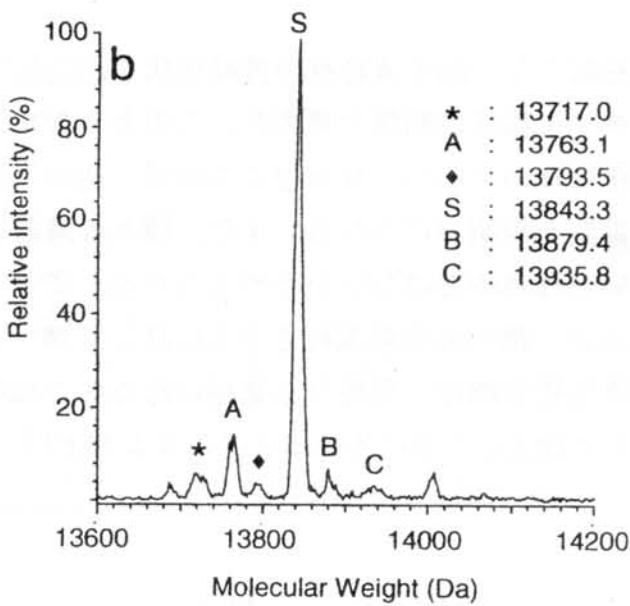


図 1 モリブデンコファクター欠損患者のトランスサイレチン-S-スルホン酸 (S) 関連物質の質量スペクトル

この S-スルホン化体は、アミロイド斑に特有なコンゴレッド染色されフィブリル化し沈澱した。どのような機構で S-スルホン化体が生成するのか調べるために、トランスサイレチンのシステインを含むモデルペプチドを緩和水溶液中で放置すると、S-チオシステインとデヒドロアラニンに分解し、S-チオシステインがシステイン-S-スルホン酸など酸化することを、各反応産物の質量分析により証明した。図 2 にはモデルペプチドの 7 日放置後の質量クロマトグラムを示す。また、トランスサイレチン自身もこのような分解物を生成することを同じように質量分析により証明した。

これらの解析から分かった化学反応の概略を図 3 に示す。デヒドロアラニンは、 α -アミノアクリル酸であるので、共存するタンパクや自身同士とポリマー形成し易いのは当然と考えられた。従って、アミロイドタンパクの沈澱反応の共通の引き金は酸化したタンパクのシステイン-S-スルホン酸であることになる。同じように、遊離アミノ酸のシステインもシステイン-S-スルホン酸やデヒドロアラニンとなり、共存タンパクを沈澱させると推定した。[3]

一般的にモリブデンコファクター欠損症患者の尿中には遊離のシステイン-S-スルホン酸が排泄されていることが報告されている。[4] つまり、モリブデンコファクターが欠損し、亜硫酸は、硫酸に酸化されず、タンパク中および遊離システインが酸化して生成するシスチンと反応してシステイン-S-スルホン酸と

なる。これらが沈澱反応を起こし、出生後特有の神経症状を起こして早世するのがモリブデンコファクター欠損症の病態と考えた。このようなタンパク中および遊離システインの酸化は極めてゆっくりと起こるので、他のアミロイド関連疾患の長期に渡る潜伏期間を説明づけられる。また、種々の臓器に特有なタンパクの存在は病態の違いとなるのではないかと考えられる。従って、システインからシステイン-S-スルホン酸への分解課程をさらに詳しく調べる必要がある。また、この反応を抑える化合物は、重要な医薬品になるのではないかと考える。このリーディング化合物として次に述べるキノホルムが上げられる。

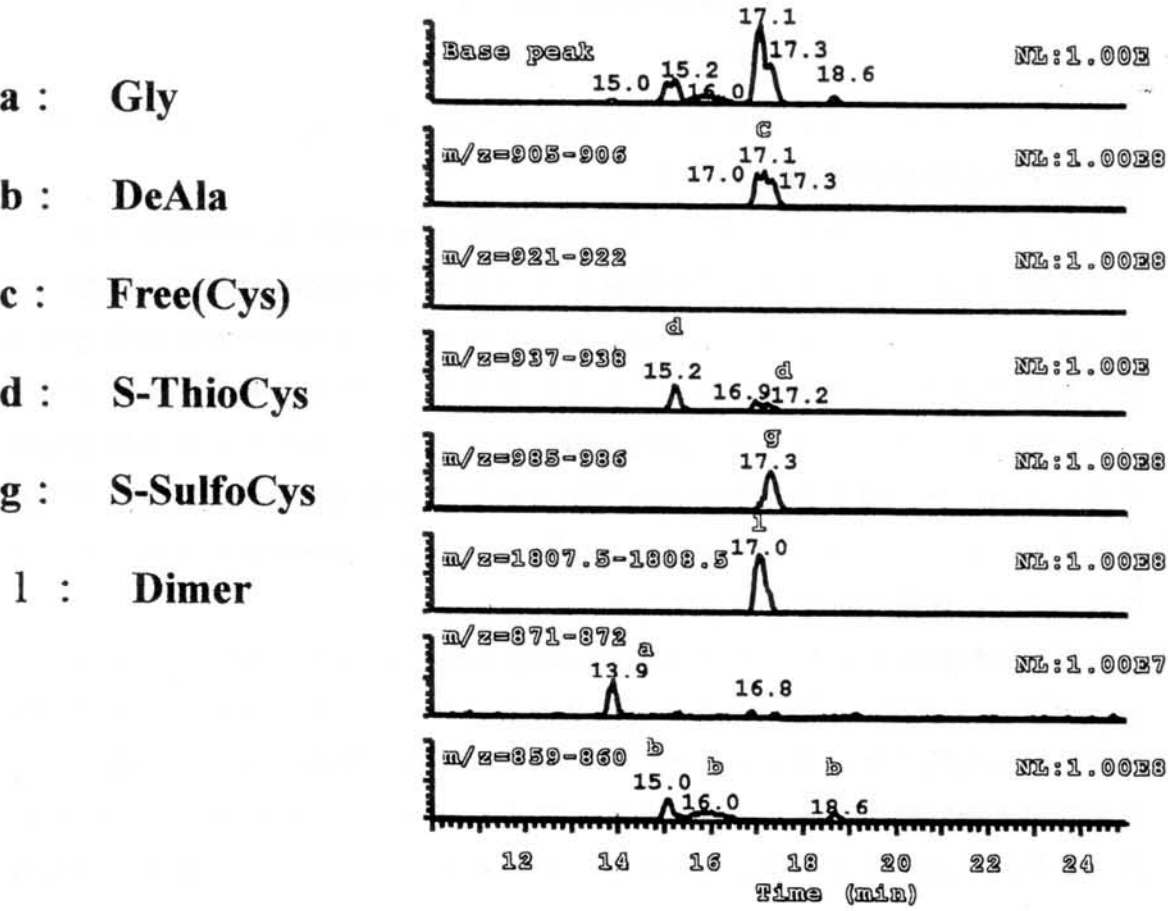


図2 モデルペプチドの7日放置後の質量クロマトグラム

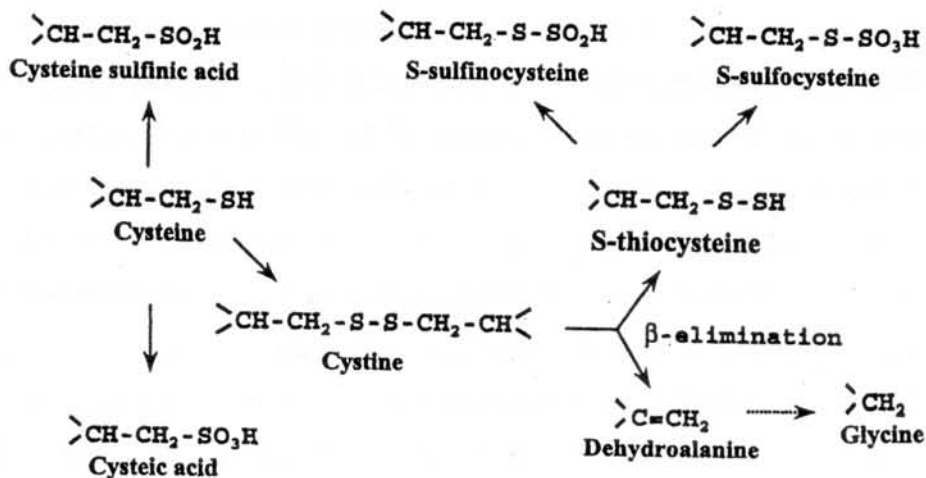


図 3 トランスサイレチンおよびそのシステイン含有モデルペプチドの酸化的分解

スモン病を引き起こしたキノホルムが痴呆に著効

数十年前にそれまで奇病として恐れられていたスモン病があった。腹部症状を起こし、次第に視力が衰え、抹消の手足が痺れる事を主訴とする病気である。後程、症状の Subacute myelo-optico-neuropathy (亜急性脊髄視神経抹消神経症) を略して SMON 病と命名された。1970 年に本研究者らはスモン病患者の緑色尿を分析して、キノホルム-鉄キレート化合物であることを発見した。これにより整腸剤として投与されていたキノホルムがスモン病の原因となっていると分り、キノホルムの迅速な使用見合わせの通達がだされた。このようにして毎年数千人の患者の発生していた未知のスモン病が解決され、薬害のはしりとなった。[5]

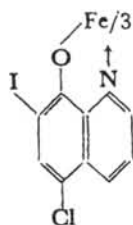


図 4 スモン患者緑色尿のキノホルム-鉄イオンキレート化合物の構造

最近になり、オーストラリア、スウェーデン、米国などの研究者が、キノホルムが痴呆に有効であるとの多数の報告をするようになった。例えば、アルツハイマー患者にキノホルムを毎日 20 または 80mg を 21 日間投与したところ、痴呆症状の改善がみられということである。スモン病の発症を懸念して、スモン患者が服用した量よりはかなり少なめに処方された。改善の理由としてはキノホルムがアミロイド斑に存在する鉄、銅や亜鉛イオンとキレート化合物を形成して、活性酸素の生成をおさえるためと推定している。[6]

本研究者はこの機構にも沈澱反応の抑制があるのではと考えている。スモン病の神経や視力障害の症状は家族性アミロイド患者の症状によく似ていた。重症の時に、患者の糞便や舌苔が緑色になった。また、緑尿中にアミロイドタンパクのような沈澱がみられたのが思い出された。患者の解剖組織にアミロイド沈澱やアルツハイマーニューロフィブリルの存在も報告されている。[7]

過剰に投与されたキノホルムの金属イオンとのキレート化合物がタンパクとの沈澱を生成しているのではないか。一般的に薬は、低濃度では良い作用に、高濃度では毒作用に働くので、日本のみでスモン病が頻発したのは、高用量のせいだったのではないか。また、もう一つの理由としては、トランスサイレチンおよびモリブデンコファクターを補酵素とする酵素タンパクなどには民族特有な変異があるといわれていることも考えられる。[8]

これらの研究は本研究者がたまたま関連した永年の研究を総合したので、完全に推定の域をでていないかもしれない。だが、手がかりのないアミロイド関連疾患の問題であるので、社会的にも急務であると考えている。

文献

[1] S. B. Prusiner. An introduction to prion biology and diseases. *Prion Biology and Diseases, 2nd Ed.* (Ed. by S. B. Prusiner). pp. 1-87, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 2004.

[2] M. Kishikawa, J. O. Sass, N. Sakura, T. Nakanishi, A. Shimizu, M. Yoshioka. The peak height ratio of S-sulfonated transthyretin and other oxidized isoforms as a marker for molybdenum cofactor deficiency, measured by electrospray ionization mass spectrometry. *Biochim. Biophys. Acta*, **1588**, 135-138, 2002.

- [3] T. Nakanishi, T. Sato, S. Sakoda, M. Yoshioka, A. Shimizu. Modification of cysteine residue in transthyretin and a synthetic peptide, analyses by electrospray ionization mass spectrometry. *Biochim. Biophys. Acta, Proteins and Proteomics*, 45-53, 2004.
- [4] F. Irreverre, S. H. Mudd, W. D. Heizer, L. Laster. Sulfite oxidase deficiency: Studies of a patient with mental retardation, dislocated ocular lenses and abnormal urinary excretion of S-sulfo-L-cysteine, sulfite and thiosulfite. *Biochem. Med.*, 1, 187-217, 1967.
- [5] 吉岡正則、田村善蔵. SMON患者の緑色色素の本態. *医学のあゆみ*, 74(7), 320-322, 1970.
- [6] B. Regland, W. Lehmann, I. Abedini, K. Blennow, M. Jonsson, I. Karlsson, M. Sogren, A. Wallin, M. Xilinas, C-G. Gottfries. Treatment of Alzheimer's disease with clioquinol. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.*, 12, 408-414, 2001.
- [7] H. Shiraki. The neuropathology of sub acute myelo-optico-neuropathy, "SMON", in the humans. With special reference to the quinoform intoxication. *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, 28, 101-157, 1975.
- [8] R. M. Garret, J. L. Johnson, T. N. Graf, A. Feigenbaum, K. V. Rajagopalan. Human sulfite oxidase R160Q: Identification of mutation in sulfite oxidase deficient patient and expression and characterization of the mutant enzyme. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 95, 6394-6398, 1998.