

よるリボヌクレアーゼAの可逆的な変性及び再生実験で示されたように、タンパク質が本来の機能を果たすためには、正しく折りたたまれ、特定の立体構造を持たなければならない。タンパク質は、構成アミノ酸の配列が持つ情報に基づき折りたたまれ、特定の立体構造を形成する。タンパク質によっては、翻訳後修飾など、配列情報が複雑であり上手く折りたたまれないものもある。このようなタンパク質の折りたたみ（フォールディング）は分子シャペロンと呼ばれるタンパク質ファミリーがつかさどっており、タンパク質の正しいフォールディングを助けている。

タンパク質の立体構造は流動性（ダイナミックス）を持っており、条件に応じ、その構造は変化する。可溶性タンパク質の多くでは、親水性アミノ酸残基は立体構造の外側に、疎水性アミノ酸残基は内側に分布しており、水溶液中において安定に機能している。しかし、熱、酸化物の蓄積などのストレスにより、タンパク質の立体構造は崩壊し易く、内側の疎水性アミノ酸残基が露出され凝集してしまう。また、タンパク質の働きそのものにより、疎水性アミノ酸残基が露出される恐れがある。球脊髄性筋萎縮症（Spinal and Bulbar Muscular Atrophy）の場合、アンドロゲン受容体（AR）の遺伝子にCAGトリプレットリピートの過剰伸長(>35CAGs)が原因とされ、変異ARは伸長したグルタミン残基を持つ。ARは、非活性の時には、Hsp90というシャペロン分子が結合しており、安定な構造を取っているが、リガンド（テストステロン）と結合すると、Hsp90から離れ、構造が不安定になり凝集する。すなわち、変異ARはリガンド依存的に凝集するのである。

凝集したタンパク質を電子顕微鏡下で観察

してみると、その形態もタンパク質によってさまざまであるが、その中には規則性を持つ線維も存在する。この線維はアミロイド線維と呼ばれ、アルツハイマー病で見られる老人斑の内部構造と類似である。試験管内において、アミロイド様線維構造を形成するタンパク質は数多く、アルツハイマー病のA β ペプチド、狂牛病の変異プリオン、パーキンソン病の α -synuclein、家族性アミロイドポリニューロパチーの変異transthyretin、家族性筋萎縮性側索硬化症の変異superoxide dismutase 1 (SOD1)などが報告されている。アミロイド線維は主に β シート構造であり、Congo redやThioflavin Tのような色素と結合する性質を持つ。狂牛病の場合、正常プリオンは主に α ヘリックス構造だが、異常プリオンに感染されると β シート構造に変換（ $\alpha \rightarrow \beta$ 転移）されることが知られている。このような $\alpha \rightarrow \beta$ 転移は生物学的にも興味深い反応である。

2. タンパク質のアンフォールディングと生体内の凝集制御

試験管内でタンパク質を凝集させることは比較的容易であり、一定の条件を満たせば、後は待つのみでよい。タンパク質の多くは熱するだけでも容易に凝集物を形成することができる。生理的条件のバッファー系において、アミロイド様凝集物を作るための基本原理はタンパク質を部分的に変性（アンフォールディング）させる、何らかの条件を探ることである。コンフォメーション病の原因タンパク質は多く変異タンパク質であるため、野生型に比べ、アンフォールドしやすい。要するに、変異タンパク質は野生タンパク質より凝集しやすい立体構造を持つ。しかし、生体内にお

いて凝集物の蓄積を観察するための実験モデルを作るのは容易ではない。家族性筋萎縮性側索硬化症の原因タンパク質である、SOD1を培養細胞に発現させると、変異SOD1のタンパク質レベルは野生型に比べ低く、半減期も短い。最近の報告によると、SOD1はユビキチン・プロテアソーム系により分解されるという。それでは、どのようにして細胞は野生型と変異SOD1を見分けているのだろうか。その機序は変異SOD1の立体構造に起因する。変異SOD1は立体構造が不安定なため、細胞内でシャペロンHsc70と複合体を形成している。Hsc70のC-末端にはCHIP(carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein)と呼ばれるE3ユビキチン連結酵素が結合し、異常構造のSOD1をユビキチン化することが判明した。すなわち、CHIPはシャペロン依存的ユビキチン化のE3であり、シャペロンを介し変異SOD1の分解を助け、凝集を抑制する

と考えられる。最近の報告では、CHIPは変異tauやパーキンの気質の一つであるパエル受容体の分解にも関与することが明らかになった。

ユビキチン・プロテアソーム系に破綻をきたすことが病因として考えられる神経変性疾患の代表として、家族性パーキンソン病の一病型である常染色体劣性若年性パーキンソニズム(AR-JP)が挙げられる。AR-JPの原因遺伝子産物、パーキンはRING-finger型のユビキチン連結酵素である。この発見により、AR-JPがユビキチン・プロテアソーム系の破綻によって発症することが判明された。さらに、パーキンのN-末端に存在するユビキチンホモロジドメインが、26SプロテアソームのRpn10サブユニットと結合すること、そしてこの相互作用の破綻によってもAR-JPが発症することが報告された。これらのことから、コンフォメーション病におけるタンパク質の

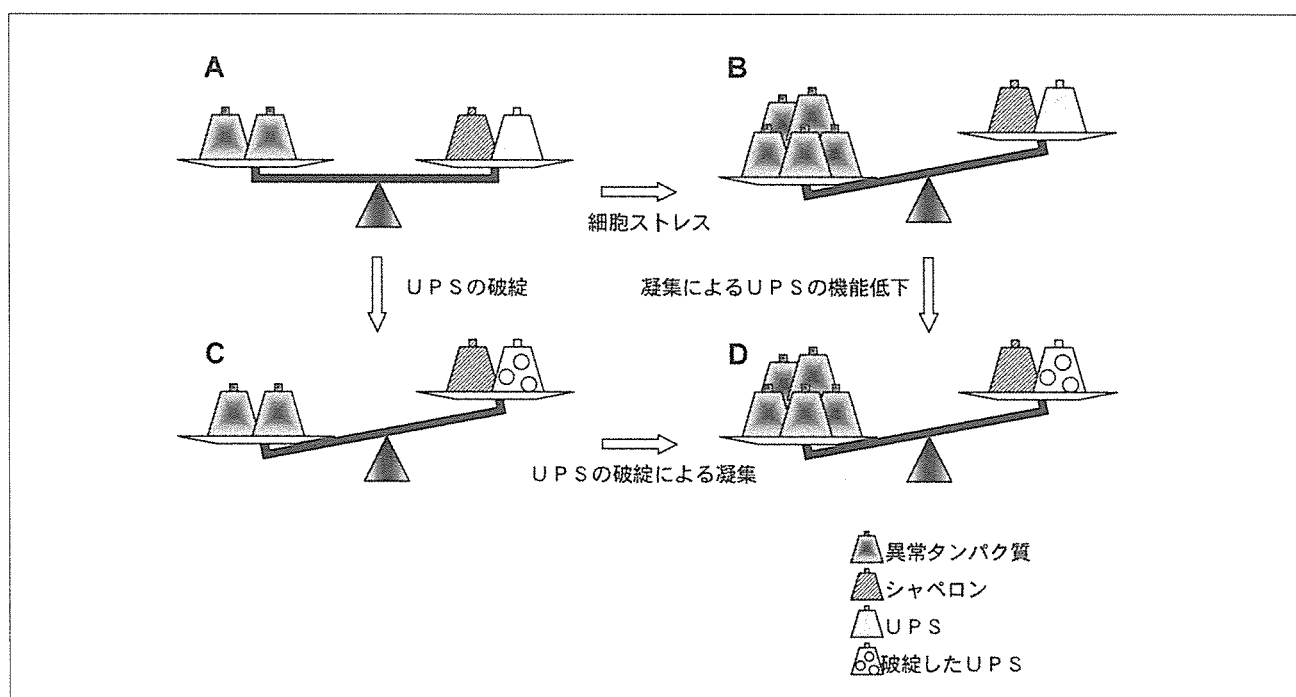


図1 異常タンパク質の凝集。細胞内の異常タンパク質のレベルはシャペロンやユビキチン・プロテアソームシステム(UPS)の働きにより均衡を保つ(A)。酸化ストレスなどの細胞ストレスにより異常タンパク質のレベルがタンパク質管理システムを上回り(B)、UPSの機能障害を引き起こす。UPSの破綻(C)により、異常タンパク質が凝集する(D)。

凝集は原因となる異常タンパク質のレベルがシャペロンやプロテアソームなどのタンパク質品質管理システムを上回る結果であることが考えられる (図1)。

一方、タンパク質の凝集に影響するもう一つの要因は酸化ストレスや小胞体ストレスなどの細胞ストレスである。孤発性のALSとパーキンソン病においても酸化ストレスの関与が従来から報告されている。培養細胞を用いた実験において、過酸化水素水の処理により、異常タンパク質が凝集し、蓄積することが報告され、酸化ストレスが変異タンパク質のアンフォールディングを促進させることが原因の一つとして考えられている。さらに、凝集タンパク質を含む細胞が酸化ストレスに対する脆弱性を持つという報告が多い。最近では、抗酸化機能を持つDJ-1の変異が若年性パーキンソン病の原因として新たに発見された。

3. 封入体とアグリソーム

コンフォメーション病の共通の病理所見である封入体は、アルツハイマー病では老人斑および神経原線維変化、パーキンソン病ではLewy body、ポリグルタミン病では核内封入体、孤発性のALSでは、Bunina小体など、さまざまである。また、SOD1に変異のある家族性ALSでは、前角運動ニューロンなどの細胞質にLewy body-like hyaline inclusionが認められ、抗SOD1抗体染色で陽性である。これらのことは原因タンパク質の凝集が封入体の核または本体を形成している可能性を示唆している。さらに、封入体はユビキチンやシャペロン、プロテアソームの抗体染色においても陽性で、凝集タンパク質がこれらの因子を巻き込んで、長い期間にわたり、成長したも

のとして考えられている。

近年、封入体形成の機構に関し、逆行性輸送のモータータンパク質であるダイニン複合体が凝集タンパク質を中心体に集積させるという新たな研究結果が報告された。プロテアソームを阻害した際に出現する、中心体に集積したタンパク質の凝集物はアグリソームと名づけられた。アグリソームは、ユビキチン、プロテアソーム、シャペロンなどの抗体染色に陽性反応を示しており、コンフォメーション病で見られる封入体と類似のものとして考えられ、病理的封入体の産生経路にダイニンモーターが関与しているのではないかと推測される。また、逆行性輸送を阻害し、アグリソームの形成を抑えると、細胞が死に至ることが見い出され、アグリソームは凝集タンパク質の毒性に対する防御機構の一つではないかと考えられるようになった。さらに、ArrasateとFinkbeinerらは、自動化した蛍光顕微鏡を用い、伸張したポリグルタミン残基を持つ蛍光タンパク質の動態を連続的に観察した。その結果、核内封入体を持っていない細胞が細胞封入体を持っている細胞に比べ細胞死を起こしやすい傾向を明らかにした。細胞間で、封入体形成の差が生じるメカニズムは不明であるが、封入体の形成が細胞防御機構の一つである可能性が示唆された。

4. 凝集タンパク質の細胞毒性

凝集タンパク質が持つ細胞毒性やタンパク質の凝集による細胞死のメカニズムに関してはaxonal transportの物理的障害、シャペロンやプロテアソームを凝集体に巻き込むことによる、タンパク品質管理システムの崩壊、カルシウム代謝やリン酸化システムのかく乱、

酸化ストレスを引き起こすことによるタンパク質のニトロ化など、膨大な論文が発表されている。これらの知見は、凝集タンパク質による細胞死が一つの経路を介して引き起こるというよりは、さまざまな細胞の代謝経路が障害され、複合的機能不全により細胞が死に至ることを支持するように思われる。

一方、2002年BucciantiniとStefaniらは顆粒状の凝集タンパク質は細胞毒性を示すが、線維状の凝集タンパク質は毒性がないという興味深い論文を発表した。この結論は顆粒状と線維状の凝集タンパク質を加えた培地を用い、細胞を培養した際引き起こる細胞死を観察した結果、得られたものである。さらに、病気と無関係な大腸菌のHypFを用いた実験でも同様の結果が示され、毒性を持つ凝集タンパク質は線維状ではなく顆粒状であるという、凝集タンパク質の毒性に共通する知見が得られた。また、A β ペプチドを用いた実験でもこれらの結果が裏付けられ、線維形成の中間体であるオリゴマーやプロトフィブリルと呼ばれるものが主な毒性を発揮することが示唆された。凝集タンパク質が持つ細胞毒性のメカニズムにはまだ解っていない部分が多いが、最新の論文によると、毒性を持つオリゴマーは脂質二重膜の膜電位を上昇させる、すなわち、二重膜を崩壊させることや、カル

シウム代謝をかく乱し細胞内カルシウム濃度を上げる働きをすることが示された。確かに、この人為的な実験系が生体内の細胞毒性をどの程度反映しているのかは疑問ではあるが、凝集タンパク質と脂質二重膜の相互作用が細胞死と密接な関連があることを示唆した。

おわりに

コンフォメーション病における異常タンパク質の凝集は、疾患の原因となる本質的な現象であるか、あるいは、単に病気の結果に過ぎないのかは長い期間議論されてきた。これは、異常タンパク質の代謝経路から凝集体の産生及び制御機構や細胞死に至るまで、病気の全容が多く謎に包まれているからであろう。しかしながら、技術や科学の輝かしい進歩により、病気の一部が明らかになりつつあり、凝集の抑制が症状を改善や、延命に繋がる多数の証拠が提出された。異常タンパク質の生化学的性質に加え、シャペロンやプロテアソームのタンパク質品質管理システム、アグリソームなど、異常タンパク質を巡るさまざまな代謝経路の研究の更なる進歩により、神経変性疾患の治療法の確立が一日でも早まることを期待する。

< BIO Information >

日本顕微鏡学会第61回学術講演会

日本顕微鏡学会は日本顕微鏡学会第61回学術講演会を下記の日程で開催いたします。

日時：平成17年6月1日（水）～3日（金）

会場：つくば国際会議場（エポカルつくば）

主催：社団法人・日本顕微鏡学会 会長：外村 彰（日立基礎研）

お問い合わせ：〒101-8449 東京都千代田区神田錦町3-24 住友商事神保町ビル

（株）ICS コンベンションデザイン内 JSM05 事務局

電話：03-3219-3541、ファックス：03-3292-1811 電子メール：jism05@ics-inc.co.jp

Neuroscience

パーキンソン病の分子生物学

高橋良輔¹⁾ Ryosuke TAKAHASHI1) 京都大学大学院医学研究科脳病態生理学講座臨床神経学
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町54

I. パーキンソン病とは

パーキンソン病は高齢者に多い神経変性疾患であり、有病率は約1,000人に1人で、65歳以上の人口の1%以上が罹患するといわれる。神経病理学的には中脳黒質のドーパミン神経の選択的変性脱落が主体である。病気が進行すると青斑核のノルアドレナリンニューロンやマイネルト基底核のアセチルコリンニューロンにも変性が及ぶ。さらに、光学顕微鏡的にはドーパミン神経にレビー小体とよばれる細胞質内封入体に変性するニューロンにみられるのが特徴である(図1)。

臨床的にはドーパミン欠乏症状が主症状であり、振戦(手足のふるえ)、無動(運動の緩慢化)、固縮(筋肉が固くなる)、姿勢反射障害(転倒しやすくなる)といった運動障害が徐々に出現、十数年にわたって進行し、末期には寝たきりになるという経過をたどる。L-ドーパによるドーパミン補充療法、ドーパミンアゴニストによる治療、さらに最近では深部脳刺激療法という機能外科的治療法が症状を改善させる効果があり、注目されている。

しかし、神経変性そのものを遅らせるようなより効果的な治療法の開発には発症メカニズムの解明が必須である。パーキンソン病は多くの場合、はっきりとした遺伝的要素は認められな

い孤発性であるが、5~10%のケースが家族性、すなわち遺伝性で発症する。この数年間に複数の家族性パーキンソン病の病因遺伝子が単離されてきた。その病因遺伝子の解析から遺伝子変異によって神経変性が起こるメカニズムの基本的な道筋が明らかになりつつある。

本稿では家族性パーキンソン病に焦点をあて、神経変性の分子メカニズムについて最新の知見を含めて概説する。

II. 家族性パーキンソン病

これまで遺伝子座が判明しているものに11疾患があり、そのうち六つの遺伝子が明らかになっている。家族性パーキンソン病の遺伝子座のシンボルとしてはPARKが使われている(表1)。遺伝子が同定され、その異常がパーキンソン病を引き起こすことが確実なPARK1, PARK2, PARK6, PARK7の病因遺伝子産物とその神経変性とのかかわりについて以下に詳しく述べる^{5, 14, 22)}。

1. PARK1, PARK4 : α -シヌクレイン

α -シヌクレインはアミノ酸140個の蛋白質で、比較的神経特異的に発現している。神経細胞のなかでもプレシナプス領域の細胞質に多いが、生理的役割は不明である。1997年、 α -シヌクレインの点変異(A53T)が常染色体優性遺伝性パーキンソン病の原因になるという報告が

なされた¹⁸⁾。α-シヌクレイン遺伝子変異は大変まれであるが、レビー小体の主成分であることが明らかになったことから、俄然パーキンソン病の鍵を握る分子として注目を集めるようになった¹⁾。

さらに、PARK4はα-シヌクレインを含む染

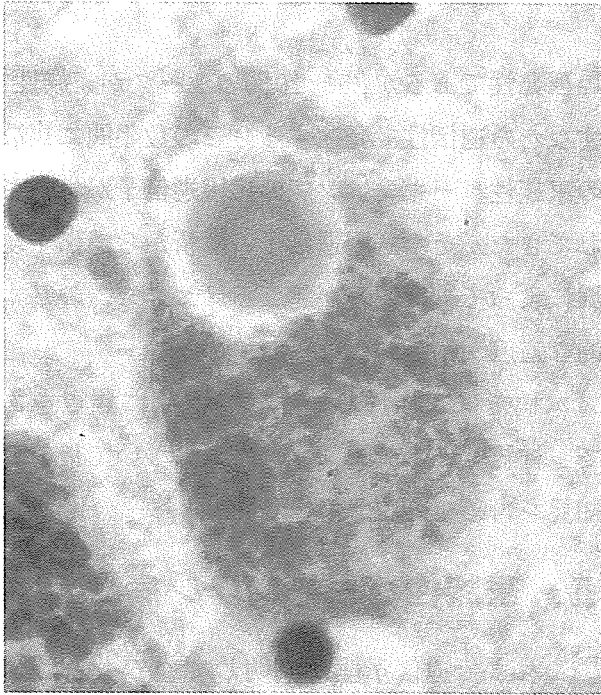


図1 レビー小体

神経細胞体にみられる異常なタンパク性の凝集物。パーキンソン病で変性する黒質や青斑核の色素含有細胞によくみられる。

色体領域の三重複によって起こることがわかった。これはα-シヌクレインが遺伝子量にして2倍になるとパーキンソン病になることを意味し、孤発性パーキンソン病がα-シヌクレインの蓄積によって起こる可能性を強力にサポートする証拠となっている。

それではα-シヌクレインはどのようにしてレビー小体を形成するようになるのか？ レビー小体のような凝集塊は封入体とよばれ、ミスフォールド蛋白質という異常蛋白質を多く含んでいる。蛋白質が本来の機能を発揮するためには正しい折れたたみ（フォールディング）が起こる必要がある。分子シャペロンは蛋白質のフォールディングを助ける役割を担うが、それでもうまく折れたたみが起こらない不良品の蛋白質、つまりミスフォールド蛋白質ができる。

通常ミスフォールド蛋白質はパーキンの項で詳しく述べるユビキチンプロテアソーム蛋白質分解系の働きで分解され、処理されるが、何らかの理由で分解が間に合わなくなるとミスフォールド蛋白質が細胞内に蓄積する。α-シヌクレインは家族性パーキンソン病では変異によってミスフォールド化するが、孤発性

表1 家族性パーキンソン病の分類

	遺伝子	遺伝形式	
PARK1	4q21-22	a-synuclein	AD
PARK2	6q25-27	Parkin	AR
PARK3	2p13	?	AD
PARK5	4p14	UCH-L1	AD (?)
PARK6	1p35-36	PINK1	AR
PARK7	1p36	DJ-1	AR
PARK8	12p11.2-q13.1	dardarin/LRRK2	AD
PARK9	1p36	?	AR
PARK10	1p32?	?	susceptibility locus
PARK11	2q36-37	?	susceptibility locus

パーキンソン病では翻訳後修飾によってミスフォールド化し、蓄積してレビー小体を形成するのではないかと考えられるようになった^{4, 6)}。レビー小体は電子顕微鏡でみると径約10ナノメートルのアミロイドフィブリルとよばれる線維構造を呈するが、組み換え α -シヌクレインも試験管内でレビー小体とよく似たアミロイドフィブリルを形成することが示されている。

ミスフォールド化した α -シヌクレインの蓄積がパーキンソン病の原因になるという考えは、 α -シヌクレインを過剰発現するモデル動物がパーキンソン病類似の病態を示すようになることから支持されている^{4, 22)}。まずマウスで神経特異的に野生型または変異型の α -シヌクレインを脳で発現させると、ドーパミン神経終末が特異的に変性し、運動機能も低下する。さらに神経細胞内にレビー小体に似た凝集物が出現する。一方、ショウジョウバエでも脳に α -シヌクレインを過剰発現させるとドーパミン神経細胞死が起こり、やはりレビー小体様封入体が形成される。

現在、関心の的になっていることは細胞毒性を発揮するのがレビー小体なのか、それ以外のミスフォールド化した α -シヌクレインの分子種かという点である。 α -シヌクレインがレビー小体のような線維構造を*in vitro*で形成する過程の研究から、アミロイドフィブリルになる前の中間体であるプロトフィブリルの存在が明らかになり、線維そのものではなく、プロトフィブリルが細胞毒性を発揮するのではないかとこの数年提唱されるようになった(図2)⁶⁾。

プロトフィブリルを重視する立場からはレビー小体のような線維性の封入体は危険なプロトフィブリルに変わることを阻害したり、封じ込めてしまったりする防御的な機能をも

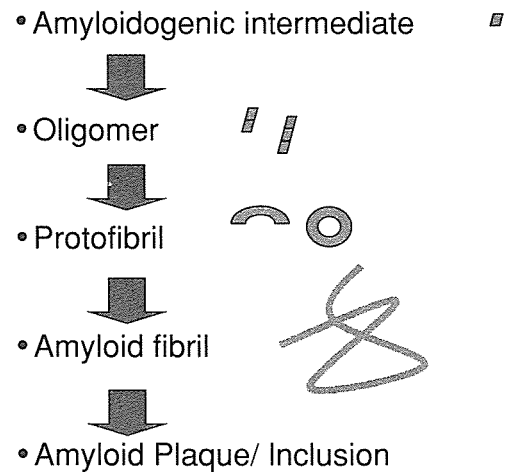


図2 α -シヌクレインの線維フィブリルの形成過程

正常な α -シヌクレインは遺伝子変異や翻訳後修飾などによってミスフォールド化し、中間体のプロトフィブリルを形成する。プロトフィブリルの形態は直鎖状、環状などさまざまであり、この一部が毒性をもつ可能性がある。プロトフィブリルは最終的にはフィブリルに転換し、レビー小体が形成される。

つことが推測されている。一方フィブリルとなったレビー小体もプロトフィブリルもプロテアソームの活性を低下させる可能性が指摘されており、どの分子種が毒性を担っているのか、今後の展開が待たれる。

2. PARK2：パーキン

AR-JPは40歳以下で発症するパーキンソン病様症状を主体とする疾患で、神経病理学的には孤発性パーキンソン病と同様、黒質・青斑核の色素含有細胞の選択的変性が特徴である。しかしレビー小体は通常みられない¹⁵⁾。

AR-JPの病因遺伝子パーキンはN末端にユビキチンホモロジー領域、C末端に二つのRINGフィンガー領域を有する蛋白質であり、ユビキチンリガーゼ(略称：E3)というユビキチンプロテアソーム蛋白分解系にかかわる酵素であることが判明している^{7, 13, 20, 28)}。ユビキチンプロテアソーム経路は短寿命の蛋白質の主な分解経路である(図3)²³⁾。

ユビキチンは76アミノ酸の小さな蛋白質であるが、活性化酵素 (E1)、結合酵素 (E2)、連結酵素あるいはリガーゼ (E3) からなる連続的な酵素反応により標的蛋白質に共有結合し、さらにこの反応を繰り返すことによって形成されたポリユビキチン鎖が標的蛋白質の分解シグナルとして作用する。

分解シグナルを認識するのは巨大な蛋白質分解酵素複合体であるプロテアソームであり、シリンダー状の形状の20Sプロテアソームの中を通過して標的蛋白質はばらばらに分解されてしまう。E3の役割は標的蛋白質を特異的に認識し、E2の助けを借りて、そのユビキチン化を促進することである。パーキンのRINGフィンガーはE2との結合、一方N末端のユビキチンホモロジー領域はプロテアソームとの結合に必要である¹⁹⁾。

以上より、AR-JPではパーキンのE3活性の低下によってパーキンが本来ユビキチン化し、その分解を促進すべき基質がドーパミン神経に蓄積し、神経変性を引き起こすと考えられる。これまでにパーキンの標的蛋白質としていくつかの蛋白質が分離同定されている。シナプス小胞に局在するGTPaseのCDC-rel1²⁸⁾、糖鎖修飾された α -シヌクレインおよび α -シヌクレインの凝集を促進する作用をもち、レビー小体の構成成分でもあるsynphilin-1^{3, 21)}、そのほかサイクリンE、 α -/ β -チューブリン、アミノアシルtRNA合成酵素複合体p38サブユニットも標的蛋白質として報告されている。これらのなかで私たちが分離同定したパエル (Pael) 受容体は小胞体ストレスとパーキンソン病を結びつけ、その蓄積が直接細胞死を誘導する分子として特に注目されている⁸⁾。

パエル受容体は、酵母2ハイブリッド法でパーキン結合蛋白質として同定されたG蛋白共役型

受容体である。パエル受容体はドーパミン神経に発現しており、蛋白質新生の段階でミスフォールド蛋白質になってしまったパエル受容体をパーキンが小胞体レベルで分解していることがわかった。

小胞体は細胞内蛋白質の約3分の1を占める膜蛋白質/分泌蛋白質の品質管理を行う細胞内小器官である¹⁶⁾。小胞体では蛋白質のフォールディングの状況によって蛋白質が選別され、うまくフォールディングされて、折れたたんた蛋白質は分泌経路にのせられるが、フォールディングに失敗したミスフォールド蛋白質は分解される。

このように分泌系蛋白質が小胞体でフォールディング状態に応じてより分けられ、分解に至る経路を小胞体関連分解 (ERAD: endoplasmic reticulum-associated degradation) とよぶ⁹⁾。ERADの基質となる蛋白質は細胞質へ逆行輸送され、細胞質のユビキチン・プロテアソーム系によって分解される (図4)。Pael受容体を過剰発現させた細胞でプロテアソーム阻害剤を投与したところ、パエル受容体の小胞体への集積が観察され、パエル受容体がERADで分解されていることがわかった。

さらにプロテアソームの阻害を持続させると、やがて細胞内で異常な凝集塊を形成し、それに伴って細胞が丸く縮んで死んでしまう。小胞体にミスフォールド蛋白質が蓄積すると細胞機能が障害されることが知られ、小胞体ストレスとよばれている。細胞は小胞体ストレスに対する究極のストレス応答として細胞死を起こす¹⁰⁾。パエル受容体は小胞体ストレス誘導性細胞死を引き起こしたと考えられる。

さらに、ヒト脳を使った検討でAR-JPの剖検脳で不溶性パエル受容体の蓄積が観察されたことから、パエル受容体の蓄積はAR-JPにみられ

る神経変性のメカニズムをうまく説明する²⁵⁾ (図5).

以上の結果より、AR-JPはミスフォールド化したパエル受容体の異常蓄積によりドーパミン神経が選択的に細胞死に陥って発症に至るのではないかと考えられる。この仮説をさらに支持する事実として、ショウジョウバエの脳にパエル受容体を大量に発現させることによってAR-JPのモデルが作製された²⁷⁾。パエル受容体をドーパミン神経特異的なプロモーターを用いて発現させると、孵化後40日で脳のある部位のドーパミン神経が半数ほどに減少する。さらにパエル受容体を神経細胞全般に発現させても、同じようにドーパミン細胞だけが変性脱落することがわかり、ドーパミン細胞が何らかの理由でパエル受容体蓄積のストレスに特別脆弱なことが想像される。

一方、マウスではパーキンの遺伝子をノックアウトしても見かけ上異常は見当たらない。これにはさまざまな説明が可能であるが、ヒトのAR-JPでも20~30歳代になるまで発症しないことから、パーキンの基質の蓄積はゆっくりした過程であると考えられ、せいぜい2年前後しか生きないマウスでは病気を発症しないのかもしれない。

3. PARK6 : PINK1

PARK6は常染色体劣性若年性パーキンソン病の臨床病型をとり、病因遺伝子としてPINK1 (PTEN-induced kinase 1) が最近単離された²⁶⁾。PINK-1は蛋白質リン酸化酵素であるという以外の機能は明らかでないが、ミトコンドリアに局在することから、ミトコンドリアの機能維持に不可欠な役割を有している可能性がある。

おもしろいことに、孤発性パーキンソン病患者剖検例の黒質ではミトコンドリア電子伝

達系の複合体Iの活性が低下している。また、同じく複合体Iを阻害するMPTP, rotenoneといった薬剤がドーパミン神経毒として作用し、実験動物でパーキンソニズムを引き起こすことから、ミトコンドリアの機能低下が孤発性パーキンソン病の発症に密接に関連していると想像されてきた¹¹⁾。PINK1の機能解析によってミトコンドリアとパーキンソン病を結びつける強力な証拠が得られることが期待される。

4. PARK7 : DJ-1

PARK7も常染色体劣性遺伝で、若年性パーキンソン病の表現型を呈する。DJ-1の変異がオランダとイタリアのPARK7の家系に見出された²⁾。DJ-1は構造上、古細菌のプロテアーゼに類似しているが、機能はよくわかっていない¹²⁾。最初はオンコジーンとして同定された¹⁷⁾、最近、過酸化水素を強力に解毒する抗酸化蛋白質すなわちアンチオキシダントであることが判明した²⁴⁾。ドーパミン神経は酸化的ストレスに曝されやすい環境におかれていることから、酸化的ストレスが孤発性パーキンソン病の病因にかかわるとの考えは以前から有力であった。DJ-1はこの考えを遺伝子の側から裏づけている。

Ⅲ. おわりに

家族性パーキンソン病の分子メカニズムに関する最近の知見を概観してきた。一番強調したいことは、家族性パーキンソン病の研究から孤発性パーキンソン病の病因への直接的な手がかりが得られたことである。PARK1の病因遺伝子 α -シヌクレインが孤発性パーキンソン病においても重要な役割を演じていることは疑いない。次にPARK1, PARK2の研究からパーキンソン病ではミスフォールド蛋白質の蓄積とそれを分解する役割を担うユビキチ

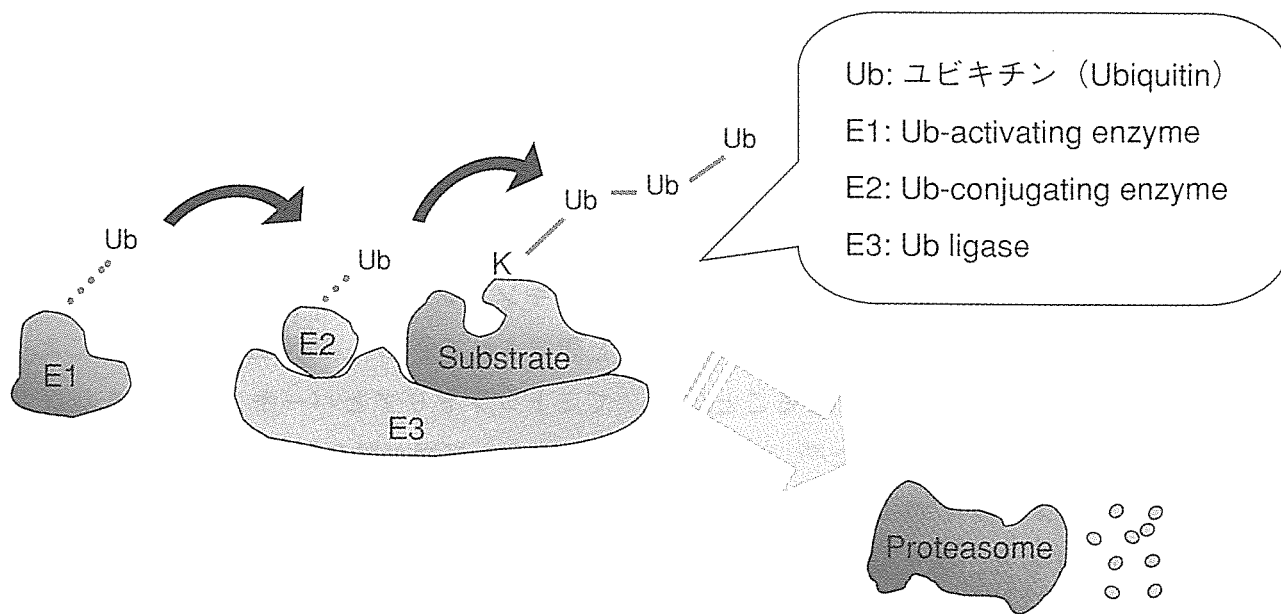


図3 ユビキチンプロテアソーム蛋白質分解系

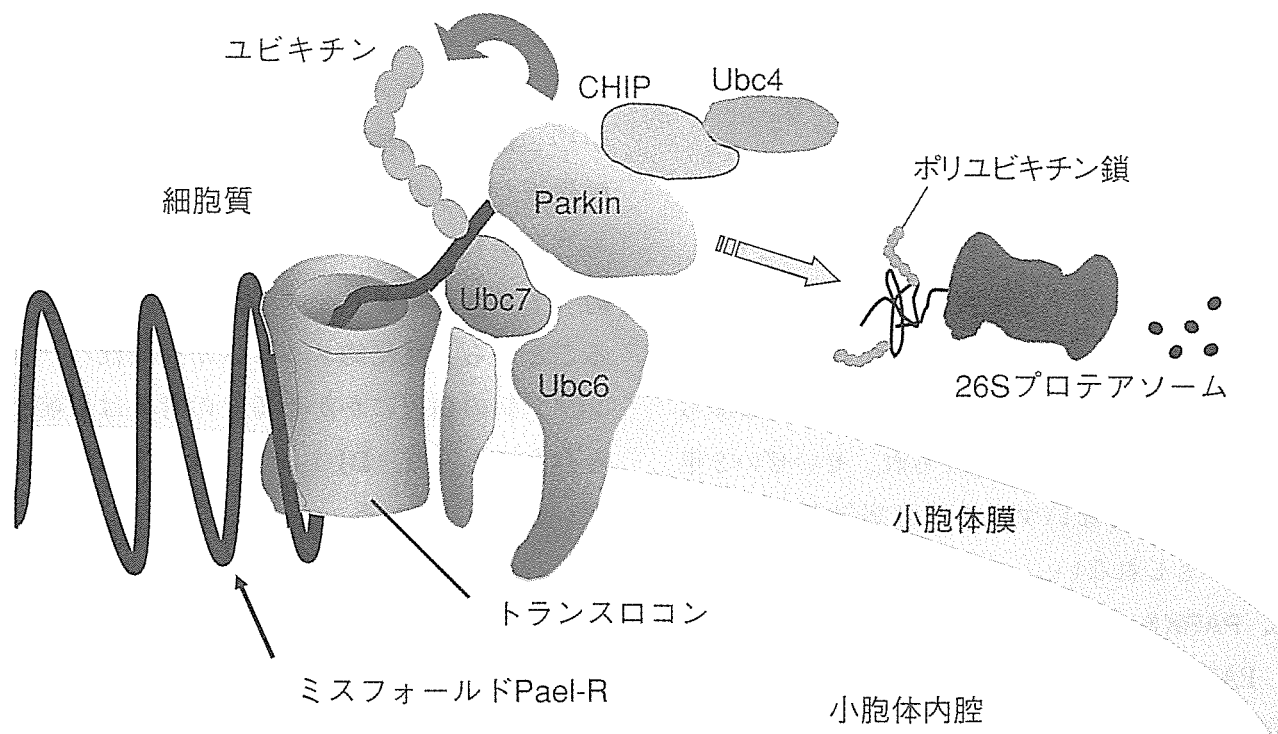


図4 小胞体関連分解 (ERAD) と Parkin の役割

Ubc6, Ubc7は小胞体膜の細胞質側にあるERADにかかわるE2である。ミスフォールド化パエル受容体 (Pael-R) はトランスロコンを通して細胞質に逆に運ばれ、ユビキチンプロテアソーム系によって分解される。

ンプロテアソーム系の破綻が神経変性を引き起こしているらしいこともわかってきた。

このような家族性パーキンソン病からの知見をもとに孤発性パーキンソン病の病因仮説をや

や単純化して図式化してみた (図6)。まず加齢に伴い複合体Iの障害が起こると酸化的ストレスが生じ、 α -シヌクレインの酸化によりミスフォールド化が促進される。ミスフォールド

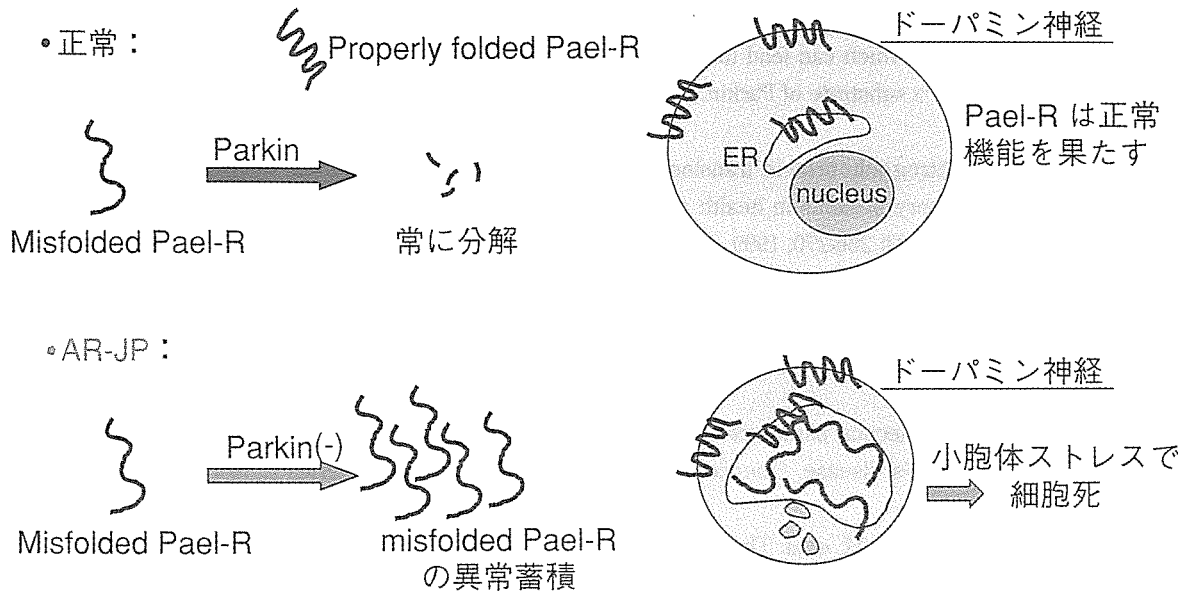


図5 AR-JP発症の分子メカニズム

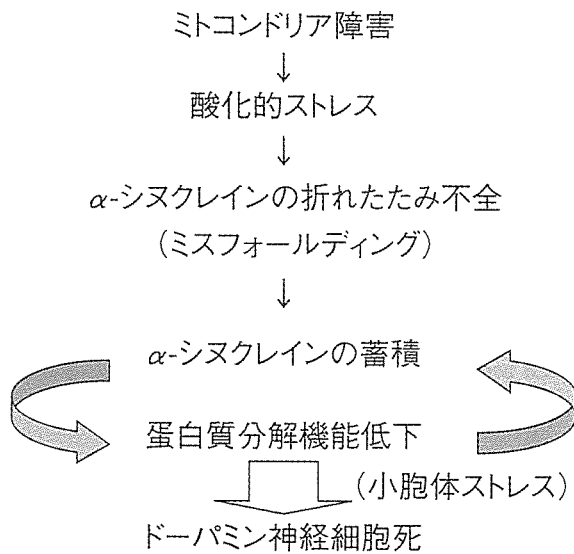


図6 家族性パーキンソン病に基づくパーキンソン病の病因仮説

化した α -シヌクレインはプロテアソームに過重な負担をかけることでプロテアソーム機能低下を引き起こし、それがERADの阻害から小胞体ストレスを誘導し、神経変性が起こるという作業仮説である。

この仮説を検証していくことによってパーキンソン病の病因が解明され、その先にある治療

法開発が実現することが期待される。

文献

- 1) Baba M, Nakajo S, Tu PH, et al: Aggregation of alpha-synuclein in Lewy bodies of sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. Am J Pathol 152: 879-884, 1998
- 2) Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ, et al: Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. Science 299: 256-259, 2003
- 3) Chung KK, Zhang Y, Lim KL, et al: Parkin ubiquitinates the alpha-synuclein-interacting protein, synphilin-1: implications for Lewy-body formation in Parkinson disease. Nat Med 7: 1144-1150, 2001
- 4) Dawson TM, Mandir AS, Lee MK: Animal models of PD: Pieces of the same puzzle? Neuron 35: 219-222, 2002
- 5) Dawson TM, Dawson VL: Rare genetic mutations shed light on the pathogenesis of Parkinson disease. J Clin Invest 111: 145-151, 2003
- 6) Goldberg MS, Lansbury PT: Is there a cause-and-effect relationship between alpha-synuclein fibrillization and Parkinson's disease? Nat Cell Biol 2: E115-119, 2000
- 7) Imai Y, Soda M, Takahashi R: Parkin suppresses unfolded protein stress-induced cell death through its E3 ubiquitin-protein ligase activity. J Biol Chem 275: 35661-35664, 2000

- 8) Imai Y, Soda M, Inoue H, et al: An unfolded putative transmembrane polypeptide, which can lead to endoplasmic reticulum stress, is a substrate of Parkin. *Cell* 105: 891-902, 2001
- 9) Plemper RK, Wolf DH: Retrograde protein translocation: ERADication of secretory proteins in health and disease. *Trends Biochem Sci* 24: 266-270, 1999
- 10) Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, et al: Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature* 403: 98-103, 2000
- 11) Dawson TM, Dawson VL: Molecular pathways of neurodegeneration in Parkinson's disease. *Science* 302: 819-822, 2003
- 12) Honbou K, Suzuki NN, Horiuchi M, et al: The crystal structure of DJ-1, a protein related to male fertility and Parkinson's disease. *J Biol Chem*, in press, 2003
- 13) Kitada T, Asakawa S, Hattori N, et al: Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 392: 605-608, 1998
- 14) Lansbury PT, Brice A: Genetics of Parkinson's disease and biochemical studies of implicated gene products. *Curr Opin Cell Biol* 14: 653-660, 2002
- 15) Mizuno Y, Hattori N, Mori H, et al: Parkin and Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol* 14: 477-482, 2001
- 16) Mori, K: Tripartite management of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell* 101: 451-454, 2000
- 17) Nagakubo D, Taira T, Kitaura H, et al: DJ-1, a novel oncogene with which transforms mouse NIH3T3 cells in cooperation with ras. *Biochem Biophys Res Commun* 231: 509-513, 1997
- 18) Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, et al: Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 276: 2045-2057, 1997
- 19) Sakata E, Yamaguchi Y, Kurimoto E, et al: Parkin binds the Rpn10 subunit of 26S proteasomes through its ubiquitin-like domain. *EMBO Rep* 4: 301-306, 2003
- 20) Shimura H, Hattori N, Kubo S, et al: Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet* 25: 302-305, 2000
- 21) Shimura H, Schlossmacher MG, Hattori N, et al: (2001) Ubiquitination of a new form of alpha-synuclein by parkin from human brain: implications for Parkinson's disease. *Science* 293: 263-269, 2001
- 22) Steece-Collier K, Maries E, Kordower JH: Etiology of Parkinson's disease: Genetics and environment revisited. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 13972-13974, 2002
- 23) 田中啓二：新手を繰り出すユビキチンの魔術。 *実験医学* 21: 330-339, 2003
- 24) Taira T, Saito Y, Niki T, et al: DJ-1 has a role in antioxidant stress to prevent cell death. *EMBO reports* 5: 213-218, 2004
- 25) 高橋良輔：パーキンの機能。 *生化学* 74: 471-476, 2002
- 26) Valente EM, Abou-Sleiman PM, Caputo V, et al: Hereditary Early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science* 304: 1158-1160, 2004
- 27) Yang Y, Nishimura I, Imai Y, et al: Parkin suppresses dopaminergic neuron-selective neurotoxicity induced by Pael-R in *Drosophila*. *Neuron* 37: 911-924, 2003
- 28) Zhang Y, Gao J, Chung KK, et al: Parkin functions as an E2-dependent ubiquitin-protein ligase and promotes the degradation of the synaptic vesicle-associated protein, CDCrel-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 13354-13359, 2000

ユビキチンプロテアソーム蛋白質分解系と神経変性疾患治療戦略*

高橋 良輔**

Key Words : protein folding, conformational disease, Parkinson's disease, ubiquitin ligase, endoplasmic reticulum

はじめに

「神経変性疾患」は原因不明の難病の代名詞であったが、分子遺伝学の著しい進歩により、この20年ほどの間に主要な遺伝性神経変性疾患の病因遺伝子があらかた同定され、その遺伝子産物である病因蛋白質の機能解析が進んだ結果、さまざまな神経変性疾患にはじつは共通の分子機構があるらしいことがかなり確かな事実として浮上してきた。「共通の分子機構」とは、すなわち構造異常を起こした蛋白質の蓄積である (Fig. 1)。蛋白質は本来の機能を果たすために正しい3次構造をとるために折りたたまれる (フォールディングという) ことが必要であるが、フォールディングに失敗した蛋白質 (ミスフォールド蛋白質と呼ばれる) は機能を失うだけでなく、細胞にとって有害な性質を獲得し、神経変性を引き起こすらしい^{1, 2)}。遺伝性疾患の場合は容易に理解されるように、遺伝子変異によってアミノ酸配列が変わるために、病因蛋白質はミスフォールド化する。ところが意外なことに蛋白質のミスフォールド化はアミノ酸配列が正常でも、健康人であっても、常に生じている。これはフォールディングという過程が100%成功するプロセスではないことよ

うに生じているが、恒常的にミスフォールド化が生じていることは確かである。このようなミスフォールド化蛋白質は、後述のユビキチンプロテアソーム蛋白質分解系の働きによって分解処理されるので、健康人では問題を起こさない。ところが、分解系が低下すると、ミスフォールド化した蛋白質は蓄積を開始し、変異蛋白質と同じように有害な性質で神経変性を引き起こす可能性がある。これは孤発性神経変性疾患の成因を合理的に説明しうる (Fig. 1)。しかも孤発性神経変性疾患は加齢が唯一かつ強力なリスクファクターであるが、加齢とともにユビキチンプロテアソーム系の活性が低下することがわかっており、観察事実からも分解系低下に孤発性疾患の成因を求める考えは当を得ているように思われる。さらに加齢とともに酸化ストレスが蓄積することもよく知られた事実であるが、酸化ストレスは蛋白質を酸化修飾して、ミスフォールド化を促進させることも容易に想定される (Fig. 1)。このようにユビキチンプロテアソーム蛋白質分解系をキーワードとして考えると、遺伝性と孤発性の神経変性疾患がともにミスフォールド蛋白質の蓄積で統一的に理解できる。このような観点から、神経変性疾患は蛋白質の構

* Ubiquitin-Proteasome System and the Strategies for the Therapeutics of Neurodegenerative Diseases.

** 京都大学大学院医学研究科臨床神経学 (神経内科) Ryosuke TAKAHASHI : Department of Neurology, Kyoto University Graduate School of Medicine

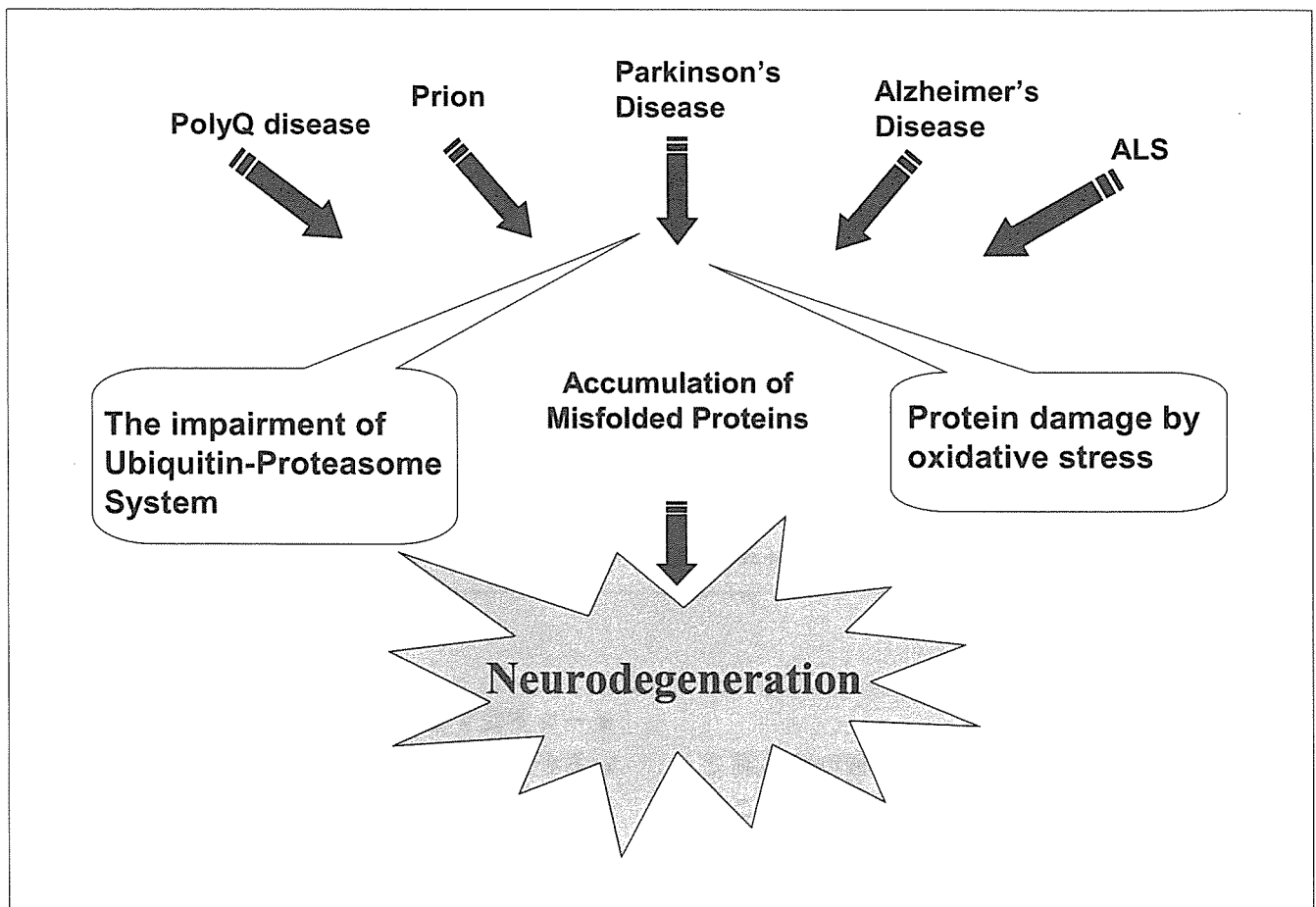


Fig. 1 Common pathogenetic mechanisms for various neurodegenerative diseases

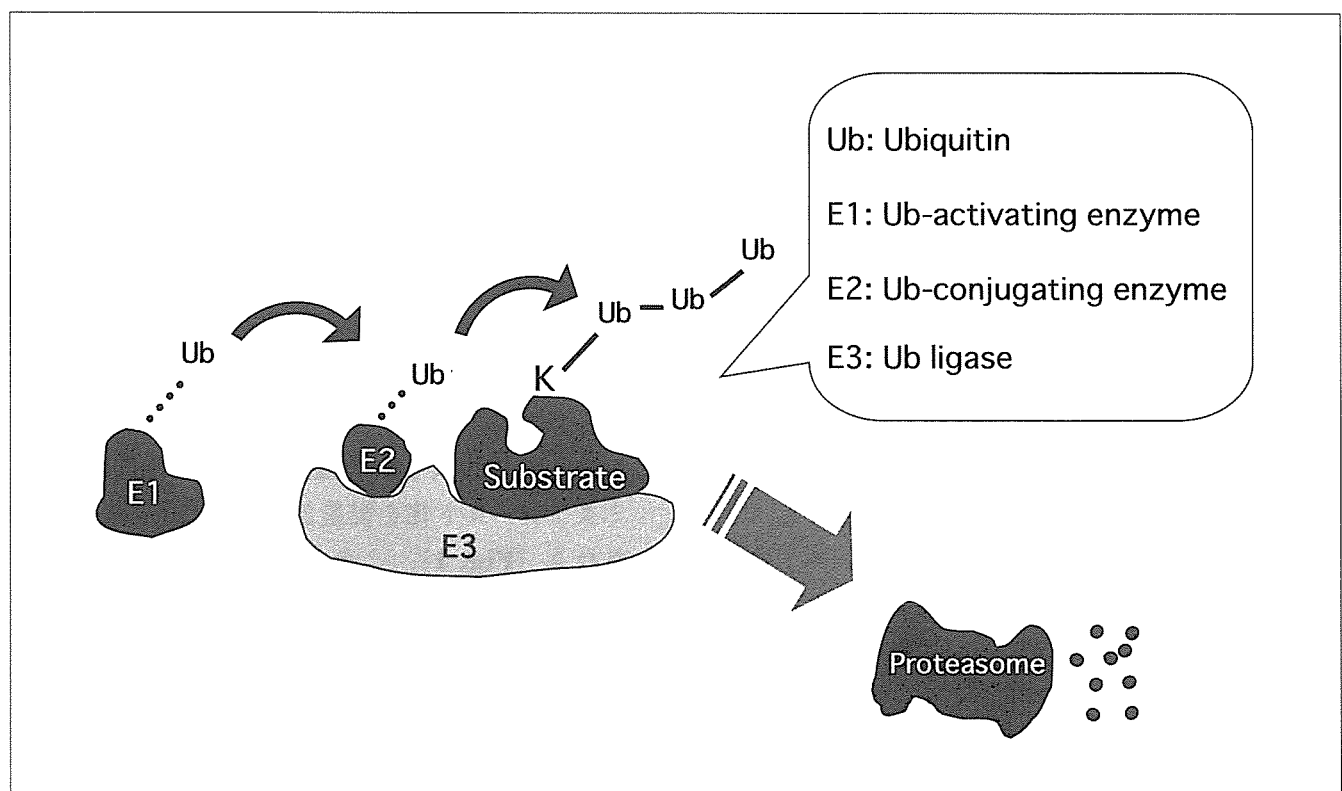


Fig. 2 Ubiquitin-proteasome system

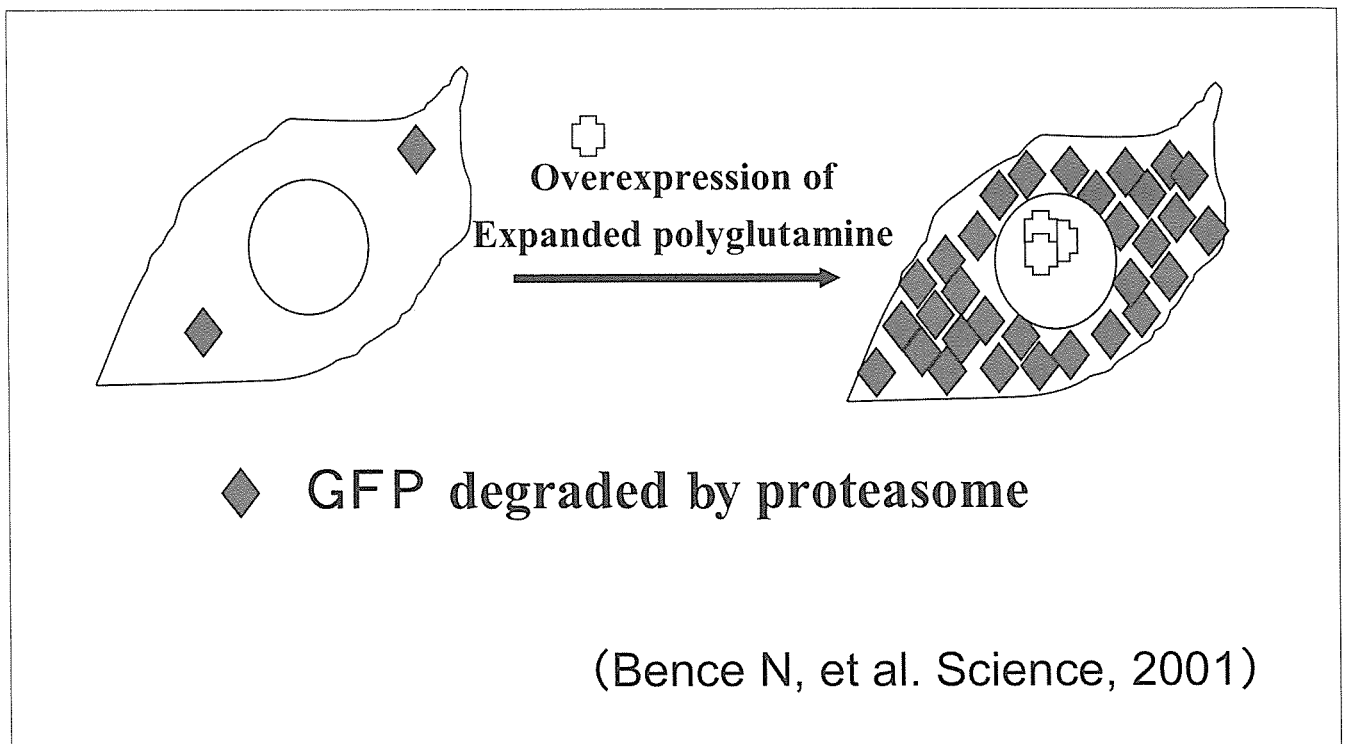


Fig. 3 Misfolded proteins inhibit proteasomal activity

造異常によって生じるという意味で、構造病（コンフォメーション病：conformational disease）の代表的な疾患と考えられるようになった^{4, 5)}。本稿ではParkinson病を中心としてユビキチンプロテアソーム系の神経変性疾患への関与について述べる。

I. ユビキチンプロテアソーム蛋白質分解系とは

ユビキチンプロテアソーム系（Ubiquitin-proteasome system：UPS）は細胞内のおおよそ半減期が10時間以下の短寿命の蛋白質の分解を担う主な分解系であり、分解にATPを消費するエネルギー依存性と分解する基質を選択する基質選択性をもつ2つの特徴を備えている⁵⁾（**Fig. 2**）。ユビキチンは76アミノ酸からなる小さな蛋白質であるが、蛋白質分解の目印としての役割を果たす。ユビキチンが4つ以上鎖状につながったポリユビキチン鎖が蛋白質に共有結合すると、プロテアソームがポリユビキチン化された基質蛋白質を認識し、分解する。すなわち、蛋白質のユビキチン化が基質の選択を決定する重要なステップとなる。ユビキチン化はE1（ユビキチン活性化酵素）、E2（ユビキチン結合酵素）、E3（ユビキチンリガーゼ）という3種類の酵素の連続的な反応によ

って行われる。このうちE1はATPを使って、高エネルギーのチオールエステル結合をユビキチンとの間に形成し、それがE2に引き渡される。E3は基質を特異的に認識する重要な役割を担うが、E3の仲立ちで、ユビキチンは基質のリジン残基に安定なペプチド結合を形成する。ユビキチン化の反応は繰り返して起こるが、2番目以降のユビキチンが直前のユビキチンに結合する結果、ポリユビキチン鎖が形成される。ポリユビキチン化蛋白質は26Sプロテアソームの19Sキャップという蓋のような部分によって認識され、ここでまたATPを使ってフォールディングを解かれ、アミノ酸のひものような形になってシリンダー状の20Sプロテアソームの内腔に送り込まれ、カタリティックサブユニットの働きで分解される。このような複雑な機構を生体が用意した理由の一部には、細胞内で絶えず産生される有害なミスフォールド蛋白質を見分け、分解処理する必要があることがあげられるであろう。

II. ミスフォールド蛋白質とUPS

ところが、ミスフォールド蛋白質はUPSの基質となると同時にUPSの機能を低下させる性質があることがわかってきた。このことを示した

Ron Kopitoたちのエレガントな実験を紹介する⁶⁾ (Fig. 3). 彼らは本来は極めて安定なGreen Fluorescent Protein (GFP) にdegronという配列を付加し、プロテアソームで速やかに分解される不安定な蛋白質GFP^uを作製した。GFP^uを過剰発現させるとプロテアソームの活性が保たれている細胞では分解されてしまうため蛍光を発しないが、プロテアソームの活性が低下すると蛋白質が蓄積する結果、蛍光を発するようになる。すなわちGFP^uはプロテアソーム活性のセンサーの役割を果たす。GFP^uを発現する細胞にミスフォールド蛋白質の代表例であるポリユビキチンを発現させると、蛍光の観察されなかった細胞で、一転して蛍光がみられるようになり、プロテアソーム活性が低下することが示された。彼らはポリグルタミンによって核内に封入体の形成された細胞で特にプロテアソーム活性が低下していることから、ポリグルタミン凝集体がプロテアソーム活性を阻害する可能性を強く考えている。しかし凝集体を形成する細胞では凝集体形成にいたるまでのミスフォールド蛋白質も増加していると思われるので、「ポリグルタミン蛋白質がプロテアソーム活性を阻害する」ことを示す証拠ととらえるのが合理的である⁷⁾。ほぼ同時期に貫名信行らのグループもポリグルタミンでプロテアソーム活性が阻害されると報告し⁸⁾、Christopher Rossらのグループは α -シヌクレイン(後述)でも同様の観察をしており⁹⁾、ミスフォールド蛋白質が一般にプロテアソーム活性を阻害する可能性が強く支持されるようになった。

ミスフォールド蛋白質がプロテアソームによって分解される一方、ミスフォールド蛋白質がプロテアソームを阻害するとすれば、ミスフォールド蛋白質の蓄積はプロテアソームの阻害を引き起こし、さらなるミスフォールド蛋白質の蓄積を招くという悪循環を経て神経変性に至るといったシナリオを描くことができる。この興味深い、やや単純化され過ぎたようにも見えるこの仮説が基本的に正しいかどうかは今後個々の疾患で確かめられる必要があるだろう。

III. 家族性Parkinson病とUPS

神経変性疾患におけるUPSの重要性に関して

は、特に家族性Parkinson病において遺伝子レベルで有力な証拠が得られている。家族性Parkinson病は現在までに11種類の異なる遺伝子座にリンクする疾患が見つかっており、そのうち7疾患に関しては病因遺伝子まで単離されている。ユビキチンプロテアソーム系との関わりが示されているのは、そのうち、脱ユビキチン酵素であるUCH-L1、ユビキチンリガーゼであるParkin、そしてミスフォールド化しやすい α -シヌクレインの3種類で、それぞれ、PARK5、PARK2、PARK1の病因遺伝子である。以下では α -シヌクレインとParkinに焦点を絞ってこれらの遺伝子変異を成因とするPARK1とPARK2のUPSとの関わりについて述べる^{10, 11)}。

IV. α -シヌクレインとUPS

α -シヌクレインは140アミノ酸の神経特異的な蛋白質で神経終末に豊富に存在するが、その生理的役割は不明である。 α -シヌクレインの点突然変異によるミスセンス変異(A53T)で常染色体優性遺伝性Parkinson病になることが1997年明らかになり、その後2種類のミスセンス変異(A30P, E46K)が同定されたが、いずれもきわめてまれな変異で、日本人ではまだ見つかっていない。ところが、 α -シヌクレインがParkinson病の病理学的特長であるLewy小体の主成分であることが判明し、Parkinson病の鍵を握る分子として一躍注目を集めるようになった。さらに α -シヌクレインを含む染色体領域の二重複、三重複(従来PARK4と呼ばれていた家系)も優性遺伝の α -シヌクレインを引き起こすことがわかり、量的に増加するだけで発症につながる事が明らかになったことから、孤発性Parkinson病では α -シヌクレインの産生亢進、または分解低下が発症に関わるという考えがにわかに説得性を帯びるようになった。事実、 α -シヌクレインのトランスジェニック動物(マウス、ショウジョウバエ)では部分的にParkinson病の症状、病理所見を再現する。また、プロテアソーム阻害剤を全身的、または線条体局所に投与することによって α -シヌクレイン陽性細胞内凝集体形成を伴う黒質ドーパミン神経の変性が起こり、UPSの活性低下がParkinson病発症に結びつくという考えを裏付け

ている。最近、 α -シヌクレインはUPSのみならずリソソーム系、またはシャペロン介在性オートファジーによって分解されるとの証拠も提出されているので、オートファジーとParkinson病の関係も今後注目される。

V. Parkin と UPS

ParkinはPARK2、または常染色体劣性若年性パーキンソニズム (AR-JP) の病因遺伝子であるが、UPSで重要な役割を果たすユビキチンリガーゼ (E3) である。E3は前述のように基質蛋白質を特異的に認識する役割を担っていることから、Parkinの変異でE3活性が失われた結果基質蛋白質が蓄積するのがAR-JPの発症メカニズムであると考えられるようになった。現在までに10種類以上のParkinの基質候補が見つかり、そのうち、蓄積による細胞死を最も明解に説明できる基質蛋白質が、われわれが同定したミスフォールド化パエル受容体 (Pael-R) である。Pael-Rはリガンド不明のG蛋白質共役型受容体である¹²⁾。Pael-Rを含めた新生膜蛋白質は小胞体でシャペロンの助けでフォールディングされる。正しい構造を取れた蛋白質は膜に送り込まれるが、フォールディングに失敗し、ミスフォールド化した、いわばごみになった蛋白質は細胞質に再輸送されて、そこでUPSによって分解される。この膜蛋白質のごみ処理分解経路のことを小胞体関連分解 (Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation; ERAD) と呼んでいるが、われわれはミスフォールド化Pael-RがERADにおいてParkinによってユビキチン化され、分解処理されることを突き止めた。ParkinのE3活性が失われると、ミスフォールド化Pael-Rは小胞体に蓄積して、小胞体ストレスを引き起こし、そのストレス応答の結果細胞死が起こるものと思われる。この考えに一致して、ショウジョウバエ、またはマウスでPael-Rを過剰発現するとドーパミンニューロンの変性脱落が観察される。ParkinノックアウトマウスではPael-Rを含めて既知の基質蛋白質の蓄積はみられず、ドーパミン神経細胞死も起こらない。この事実は基質の蓄積でAR-JPのメカニズムを説明できるかという根源的な疑問を生み出しているが、別の観点からは現在は困難

である不溶性蛋白質のわずかな量的変化を検出することが技術的に可能になれば、新しい証拠が得られる可能性がある。

おわりに

現在神経変性疾患の進行をとめたり、発症を予防するような有効な治療法は知られていないが、ここで述べてきたようなUPSとの関連で考えると、異常蛋白質の産生を抑制したり、あるいはその分解系を賦活化する治療法、あるいはミスフォールド化蛋白質がUPSを阻害する過程を抑制するような治療法が考えられる。またミスフォールド化蛋白質による神経変性誘発機構をより正確に理解することが、新しい治療法の確立に重要であろう。

文 献

- 1) Taylor JP, Hardy J, Fischbeck KH : Toxic proteins in neurodegenerative disease. *Science* 296 : 1991-1995, 2002
- 2) Kopito RR : Aggresomes, inclusion bodies and protein aggregation. *Trends Cell Biol* 10 : 524-530, 2000
- 3) Schubert U, Anton LC, Gibbs J et al : Rapid degradation of a large fraction of newly synthesized proteins by proteasomes. *Nature* 404 : 770-774, 2000
- 4) Carrell RW, Lomas DA : Conformational disease. *Lancet* 350 : 134-138, 1997
- 5) Hershko A, Ciechanover A : The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem* 67 : 425-479, 1998
- 6) Bence NF, Sampat RM, Kopito RR : Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation. *Science* 292 : 1552-1555, 2001
- 7) Bennett EJ, Bence NF, Jayakumar R et al : Global impairment of the ubiquitin-proteasome system by nuclear or cytoplasmic protein aggregates precedes inclusion body formation. *Mol Cell* 17 : 351-365, 2005
- 8) Jana NR, Zemskov EA, Wang G et al : Altered proteasomal function due to the expression of polyglutamine-expanded truncated N-terminal huntingtin induces apoptosis by caspase activation through mitochondrial cytochrome c release. *Hum Mol Genet* 10 : 1049-1059, 2001
- 9) Tanaka Y, Engelender S, Igarashi S et al : Inducible expression of mutant alpha-synuclein decreases proteasome activity and increases sensi-

- tivity to mitochondria-dependent apoptosis. *Hum Mol Genet* 10 : 919-926, 2001
- 10) Cookson MR : The biochemistry of Parkinson's disease. *Annu Rev Biochem* 74 : 29-52, 2005
- 11) Moore DJ, West AB, Dawson VL et al : Molecular pathophysiology of Parkinson's disease. *Annu Rev Neurosci* 28 : 57-87, 2005
- 12) Takahashi R, Imai Y, Hattori N et al : Parkin and endoplasmic reticulum stress. *Ann N Y Acad Sci* 991 : 101-106, 2003

Ubiquitin-Proteasome System and the Strategies for the Therapeutics of Neurodegenerative Diseases

Ryosuke TAKAHASHI

Department of Neurology, Kyoto University Graduate School of Medicine

A growing body of evidence strongly suggests that accumulation of misfolded proteins constitutes the common pathogenetic mechanisms underlying various neurodegenerative disorders. Since ubiquitin-proteasome protein degradation system (UPS) plays a principal role in the degradation of cellular misfolded proteins, the impairment of UPS associated with aging may lead to development of sporadic neurodegenerative diseases. Moreover, misfolded proteins inhibit proteasomal activity when over expressed in the cell. Based on these lines of data, accumulation of misfolded protein and proteasomal impairment form a vicious cycle, leading to a catastrophic neurodegeneration and neuronal death. Familial Parkinson's diseases (PD) provide excellent examples for the involvement of UPS in Parkinson's disease. Missense mutations and gene multiplication mutations of α -synuclein, a neuron-specific presynaptic protein, are responsible for PARK1, an autosomal dominant form of familial PD. α -synuclein turned out to be a major component of Lewy body, suggesting that accumulation of α -synuclein leads not only to familial forms

but sporadic form of PD. Systemic or local striatal inhibition of proteasome induced dopaminergic cell loss accompanied by α -synuclein-positive intracellular aggregates, providing evidence that proteasomal impairment may be causative in sporadic PD. Parkin is the gene responsible for autosomal recessive familial parkinsonism (AR-JP), or PARK2. Parkin turned out to be a ubiquitin ligase, which specifically recognizes substrate protein (s), ubiquitinate them to promote their degradation. Among 10 different Parkin substrates, misfolded Pael-R is one of the best characterized one. Misfolded Pael-R is ubiquitinated with the help of Parkin in the endoplasmic reticulum (ER)-associated degradation (ERAD) pathway. When Parkin is mutated, misfolded Pael-R accumulates in the ER, leading to ER stress-induced apoptosis. Pael-R induced dopaminergic cell death is recapitulated in transgenic *Drosophila* and mice. Based on these findings, future therapeutics against intractable neurodegenerative diseases should include downregulation of the causative misfolded proteins and/or enhancement of UPS.

アポトーシス研究の現状と今後の展望*

高橋良輔¹

はじめに

アポトーシスは英国の病理学者 Wylie, Kerr らによって形態学的に細胞が縮み、クロマチンが濃縮する特異な形態をとる細胞死として記載、命名された。機能的にはアポトーシスは細胞の自爆に例えられるように、シグナル伝達により積極的に引き起こされる細胞死である。多細胞生物では発生過程において、多くの細胞がアポトーシスを起こして正しい形態形成が行われることが知られており、プログラム細胞死と同義で使われることもある。一方、アポトーシスは発生過程だけでなく、成体となってからも DNA 損傷を起こした細胞、不要になった炎症細胞などの除去に使われており、その阻害は癌や自己免疫疾患につながると考えられる。また、逆にアポトーシスが死ぬべきでない正常な細胞に起こると、AIDS や神経変性疾患の発症に結びつくと考えられる。

このような観点から、アポトーシスの分子レベルでの理解は様々なヒトの疾患の発症メカニズムの解明と治療法開発に非常に重要である¹⁾。これまでの研究により、アポトーシスはカスパーゼというシステインプロテアーゼの活性化によって起こることが明らかになってきた。

本稿では、これまでにその概略が明らかにされたアポトーシスのシグナル伝達経路の基本骨格をカスパーゼの役割を中心に述べ、ついでカスパー

ゼ非依存的細胞死について紹介し、さらにアポトーシスと呼吸器疾患との関連についても言及する。

アポトーシスのシグナル伝達経路(1)：
内因性経路 (intrinsic pathway)

この10年のアポトーシス研究で明らかになった最も重要なことのの一つは、ミトコンドリアがアポトーシスのセンサーとして重要な役割を果たしている事実である²⁾。細胞に様々なアポトーシス誘発刺激(栄養因子除去, 酸化的ストレス, DNA 障害)が加わると、ミトコンドリアの外膜の透過性上昇 (mitochondrial outer membrane permeabilization: MOMP) が起こり、膜間スペースに存在する蛋白質の一部が細胞質に漏出することによって細胞死の引き金が引かれる。MOMP の分子基盤となっているのは Bcl-2 ファミリーに属する Bax と Bak という多ドメイン蛋白質である。BAX と BAK は BH 3-only protein と呼ばれるアポトーシス誘発性 Bcl-2 ファミリー分子の働きによって凝集(オリゴマー化)し、その結果 MOMP が生じる。MOMP が一旦起こると、ミトコンドリアの膜間スペースからシトクロム c が細胞質に放出され、アポトーシスプロテアーゼ活性化因子 (APAF-1) のオリゴマー化を惹起して、アポトソーム (apoptosome) と呼ばれる蛋白質複合体が形成される。アポトソーム複合体はプ

* Apoptosis Research: The current status and future prospects

¹ 京都大学医学部神経内科(〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町54) Ryosuke Takahashi: Department of Neurology, Kyoto University Graduate School of Medicine

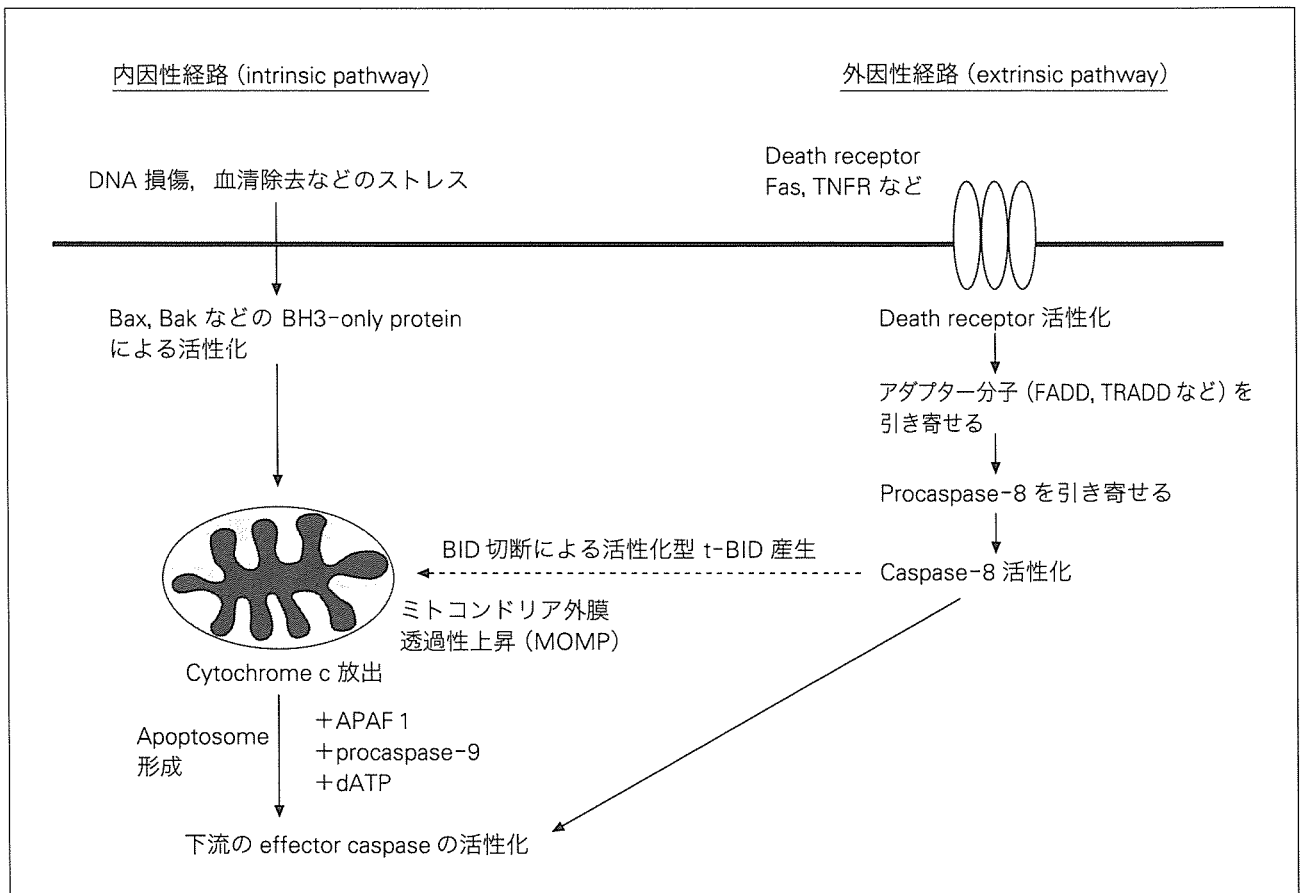


図1 アポトーシスの内因性経路と外因性経路

ロカスパーゼ9を引き寄せて活性化型のカスパーゼ-9に変換し、カスパーゼ-9は下流の実行型カスパーゼ(executioner caspase)であるカスパーゼ-3,-7などを限定分解することによって活性化し、アポトーシスが誘導される。ミトコンドリアを介するこのような経路は内因性経路(intrinsic pathway)と呼ばれており、様々な種類のアポトーシスの基本シグナルとなっている(図1)³⁾。

アポトーシスのシグナル伝達経路(2)： 外因性経路(extrinsic pathway)

一方、細胞膜に局在する受容体のリガンドによる刺激でアポトーシスが誘発されることも明らかになっており、これを外因性経路(extrinsic pathway)と呼ぶ(図1)。例えば、腫瘍壊死因子(TNF)がその受容体であるI型TNF受容体(TNFR1)に結合すると、TNF-associated death domain(TRADD)やFAS-associated death domain(FADD)が引き寄せられ、プロカスパーゼ-

8の結合と活性化をもたらす。この場合の活性化のメカニズムは近接誘導モデル(induced proximity model)で説明されている⁴⁾。すなわち、不活性の前駆体であるプロカスパーゼ-8数分子がTRADDまたはFADDのようなアダプター分子の仲介によって引き寄せられ、近接化してオリゴマー形成をすることによって活性化が起こる。このようにして活性化されたカスパーゼ-8が内因性経路のカスパーゼ-9と同様の役割を果たし、実行型カスパーゼを活性化してアポトーシスを引き起こす。しかし、ある種の細胞では外因性経路に反応するだけでなく、カスパーゼ-8を介する別経路によるシグナルの増幅が必要な場合がある。これは細胞質に存在するBH3-interacting domain death agonist(BID)というBH3-only proteinがカスパーゼ-8によって限定分解されてt-BIDという活性化型を生み出す経路である。t-BIDはBaxやBakの構造変化を引き起こして、MOMPを誘導する。このt-BIDが働く細胞では