

<特集「神経変性疾患のトピックス」>

神経変性疾患とオートファジー

渡 邊 義 久*

京都府立医科大学大学院医学研究科基礎老化学

Neurodegenerative Diseases and Autophagy

Yoshihisa Watanabe

Department of Basic Geriatrics,

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

抄 録

オートファジーは細胞内のタンパク質や細胞小器官などを分解し細胞の恒常性維持を行っている。近年の研究から、オートファジーは飢餓状態での栄養のリサイクリングだけでなく異常タンパク質や障害ミトコンドリアの選択的クリアランスも行っており、この機能の低下はアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患を引き起こすことが明らかになってきた。そして、オートファジーを標的とした神経変性疾患治療のアプローチも行われており、将来有望な治療法となる可能性がある。本総説ではこれらの基礎研究の概要と治療へむけた取り組みを紹介する。

キーワード：オートファジー，神経変性疾患，基礎研究。

Abstract

Autophagy plays important roles in homeostatic mechanisms such as degradation of proteins and organelles. Recent studies have revealed that autophagy contributes not only to nutrient recycling under starvation conditions but also to selective clearance of abnormal proteins and damaged organelles. Dysfunction of autophagy is one of the main causes of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease and Parkinson's disease. Thus, autophagy has attracted great interest as a potential drug target for various neurodegenerative diseases. This article provides an overview of basic studies of autophagy and therapeutic approaches for neurodegenerative diseases.

Key Words: Autophagy, Neurodegenerative Diseases, Basic Researches.

令和4年1月4日受付 令和4年1月11日受理

*連絡先 渡邊義久 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上路梶井町465番地

y-watana@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.131.02.115

オートファジー

ユビキチン・プロテアソーム系やオートファジー・リソソーム系などの細胞内分解システムは様々な生理機能において重要な役割を担っている。オートファジー（自食作用）は飢餓状態で栄養素をリサイクルするシステムとして1963年に発見された¹⁾。その後、酵母を用いた遺伝学的解析から大隅良典博士らはオートファジー関連遺伝群を同定した²⁾³⁾。オートファジー関連遺伝子の多くは哺乳類や植物でも保存されており、基本的な制御メカニズムは高等生物でも共通である。飢餓などでオートファジーシグナルが誘導されると、ULK1タンパク質リン酸化酵素複合体が活性化される（図1）。ULK1複合体により足場が形成されるとAtg9小胞が集まりオートファゴソーム形成の核として機能する。哺乳類ではこれらの分子は小胞体上に召集され、さらにホスファチジルイノシトール3-キナーゼ複合体（PI3K複合体）もリクルートされてホスファチジル・イノシトール3リン酸（PI3P）が産生される（図1）。さらに、PI3P結合タンパク質WIPIなども集合し隔離膜形成の起点となる。そしてオートファゴソームの形成には2つのユビキチン様タンパク質（Atg12とLC3）が必要であ

る。Atg12はAtg5と共有結合してLC3のホスファチジルエタノールアミン（PE）修飾や隔離膜の伸長に参与する。LC3はPEが結合すると活性化され隔離膜の伸長や閉鎖に参与する。LC3はオートファゴソーム膜に結合したまま残るため、オートファゴソームのマーカーとして利用されている。

ユビキチン・プロテアソーム系はユビキチン化されたタンパク質を標的として選択的分解を行うが、オートファジーは非選択（バルク分解）および選択的分解の両者を行うことが明らかになった⁴⁾。そして、オートファジーはタンパク質だけでなくミトコンドリアや小胞体などの細胞内小器官、そして病原性微生物も選択的に分解できる。選択的分解にはオートファジーレセプターが関与している。オートファジーレセプターはオートファゴソームタンパク質LC3やGABARAPとの結合モチーフを持っており、ユビキチン化された標的と結合してオートファゴソーム内に選択的に隔離される。哺乳類のオートファジーレセプターは現在までに少なくとも30種類以上明らかになっている⁵⁾。オートファジーレセプターが標的とする基質には選択性があり、タンパク質凝集体（Aggrephagy）にはp62, NBR1, ALFYなどのオートファジーレセ

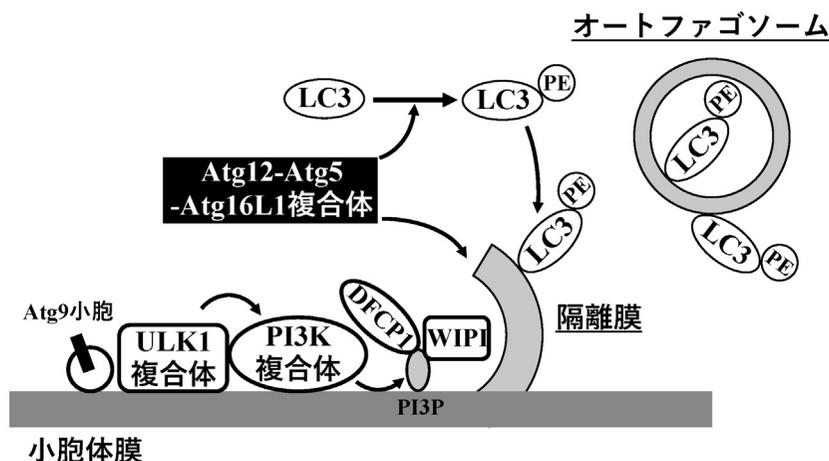


図1 オートファジー過程
詳細は本文中にて説明。

プターが関与する (表1)。また障害ミトコンドリア (Mitophagy) には p62, NDP52, OPTN, TAX1BP1 などが、脂肪滴 (Lipophagy) には ATGL などが選択的オートファジーレセプターとして寄与していることが明らかになった (表1)。

このように標的を取り込んだオートファゴソームはリソソームと融合し、リソソーム内の種々の加水分解酵素によって内容物を分解する。分解され生成したアミノ酸, 糖, 脂質は細胞で再利用される。

哺乳類における オートファジーの生理機能

2000年以降哺乳類でもオートファジー関連遺伝子群が同定され⁶⁾, 様々な遺伝子改変マウスが作製されその生理機能の解析が行われてきた。Atg5 遺伝子のノックアウト (KO) マウスの解析では, 全身でKOした場合ほぼ正常に生まれても生後1日目には栄養不良状態になり死亡した⁷⁾。生後3-12時間は非常にオートファジー活性が高く, それにより生後の栄養飢餓状態を乗り越えていることが明らかになった。さらに神経細胞特異的な Atg5 ノックアウトマウスでは, 海馬, 大脳皮質や小脳などを含む脳全体においてユビキチン陽性の封入体の蓄積が認められ, アポトーシスによる細胞死が頻繁に起きていた⁸⁾。その結果, 運動機能に重篤な障害が発生していた⁸⁾。一方, 肝臓特異的な Atg7 ノックアウトマウスでは7ヵ月齢くらいから肝臓に腫瘍が現れ, 加齢とともに腫瘍は増大する⁹⁾。同様の現象は Atg5 をモザイク状に欠損したマウスでも認められ, 肝臓

以外では腫瘍の形成は起きていなかった¹⁰⁾。これらのマウスの肝臓では p62 およびユビキチン陽性の封入体の蓄積が観察され, この封入体には酸化ストレス応答の抑制制御因子 Keap1 も含まれており, 恒常的に酸化ストレス応答が亢進していることが病因であることが明らかになった⁹⁾。

また, 細胞内の鉄や脂肪滴の代謝にも関与している。フェリチン多量体のオートファジー分解による鉄の放出や肝細胞で脂質代謝の制御を行っていることが明らかになった¹¹⁾¹²⁾。これらの機能の低下は代謝異常を生じ神経や肝疾患を引き起こす可能性が示唆された。最近では, このような代謝調節以外にも神経においてシナプスの神経伝達や可塑性の制御も行っていることが明らかになりつつある。例えば, オートファジーによるシナプス後部足場タンパク質 PSD-95 の分解を介してシナプスの可塑性を調節することや, シナプス前終末で小胞体の分解を行うことで小胞体からの Ca²⁺ 放出を介した神経伝達の調節を行っている¹³⁾¹⁴⁾。このように, オートファジーは細胞内に蓄積した不要なタンパク質や細胞内小器官の分解だけではなく, 様々な生理機能で重要な働きをしている。

オートファジーと神経変性疾患

オートファジーはユビキチン・プロテアソームと並ぶ細胞内の主要な分解機構で, 上述のようにその機能が不全になると細胞内に異常なタンパク質凝集体が蓄積し細胞死を引き起こす。アルツハイマー病 (AD) やパーキンソン病

表1 選択的オートファジーとオートファジーレセプターの種類

選択的オートファジー	分解標的	オートファジーレセプター
Aggrephagy	タンパク質凝集体	p62 NBR1 NDP52 OPTN ALFY など
Mitophagy	ミトコンドリア	p62 NBR1 NDP52 OPTN TAX1BP1 など
ER-phagy	小胞体	ATL3 CCPG1 FAM134B RTN3 など
Pexophagy	ペルオキシソーム	NBR1 p62
Lipophagy	脂肪滴	ATGL HSL
Xenophagy	病原性微生物	p62 NBR1 NDP52 OPTN TRIMs など

文献 5 を改変。

(PD) など多くの神経変性疾患における病理学的特徴の1つに異常タンパク質の凝集体が脳内に出現する。ADではアミロイド β やタウ, PDでは α -シヌクレイン, 筋萎縮性側索硬化症(ALS)/前頭側頭型認知症(FTD)ではTDP-43やFUSなどが凝集体の構成成分であることが知られている¹⁵⁾。ハンチントン病の原因であるハンチンチン(Htt)やPDの α -シヌクレインなど多くの凝集体はリソソームやオートファゴソームに取り込まれることが明らかとなった¹⁵⁾¹⁶⁾。このことから, 異常なタンパク質凝集体をオートファジーによりクリアランスすることで脳内の環境は健康に保てるが, このクリアランスの低下は様々な神経変性疾患の発症を引き起こすことが予想される。遺伝性神経変性疾患の解析から, これらの遺伝子の変異がタンパク質の異常な構造変化を引き起こし, 易凝集性となり毒性を持つことが明らかにされてきた。例えば, 前述の α -シヌクレインのミスセンス変異や遺伝子重複は家族性PD, SOD1, TDP43, FUSのミスセンス変異はALS/FTD, そしてHTTのCAGリピートの異常伸長はハンチントン病を発症する

(図2)。

これらとは異なり, オートファジー機能を調節する因子の変異も神経変性疾患の発症原因になる(図2)。オートファジーレセプターp62やOPTNの変異はALS/FTDの発症原因として報告されている¹⁷⁾¹⁸⁾。p62の変異は骨パジェット病も引き起こすが, 骨パジェット病変異はp62 C末端のユビキチン結合ドメインに偏っているが, ALS/FTD変異は様々なドメイン全体に存在する。そして, これらオートファジーレセプターの活性調節はTBK1によるリン酸化が関与している¹⁹⁾。最近では, TBK1はLC3CやGABARAP-L2のリン酸化によるオートファゴソーム形成プロセスの調節に関与することも明らかになっている²⁰⁾。TBK1の変異もまたALS/FTDの原因となることが報告された²⁰⁾。変異によるTBK1の機能不全はp62やOPTNのリン酸化を抑制し, これらオートファジーアダプターとカーゴ(タンパク質凝集体や障害ミトコンドリア)との親和性を減少させ, これらのクリアランスの低下を引き起こすことが発症原因になっていると考えられている¹⁹⁾。

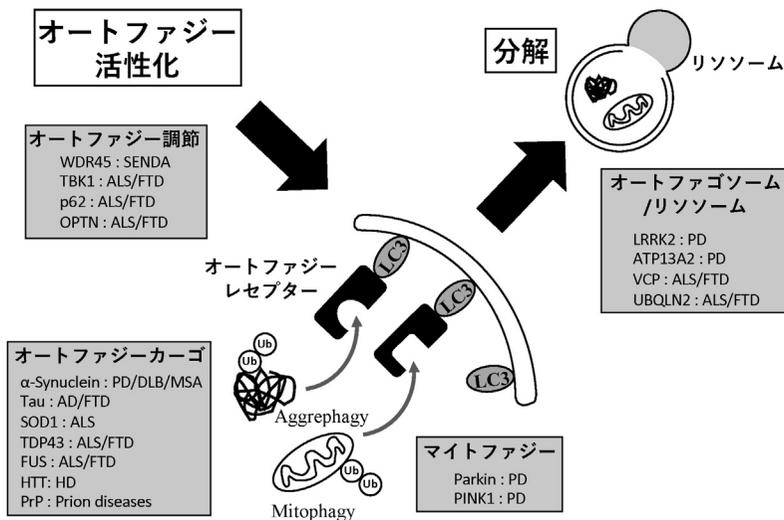


図2 オートファジーと神経変性疾患

家族性神経変性疾患遺伝子とそれらのオートファジーにおける関連性を示した。詳細は本文中にて説明。SENDA (脳内鉄沈着神経変性症), ALS (筋萎縮性側索硬化症), FTD (前頭側頭型認知症), PD (パーキンソン病), DLB (レビー小体型認知症), MSA (多系統萎縮症), HD (ハンチントン病)。

異常凝集タンパク質の蓄積以外に障害ミトコンドリアの蓄積も神経変性疾患の発症原因となっていることが知られている。このような障害ミトコンドリアの蓄積は細胞死を引き起こすため、健康な細胞では即座にオートファジーにより選択的に分解される（マイトファジー）。この選択的分解にParkinとPINK1は関与しており、ミトコンドリア外膜タンパク質PINK1はミトコンドリアが障害を起こすと蓄積し、Parkinを細胞質からミトコンドリア上にリクルートする。リクルートされたParkinはミトコンドリア外膜のタンパク質をユビキチン化し、それが目印となってオートファジーレセプターが結合、選択的にオートファゴソームに取り込まれる。PD変異のあるParkinやPINK1はこの機能を欠損しており、細胞内の障害ミトコンドリアの除去ができない。従って、マイトファジー機能の低下もPD発症原因の1つであると考えられている（図2）。

そして、リソソーム機能の低下も多くの神経変性疾患の発症原因となる。ATP13A2はリソソームに存在するカチオン輸送ポンプで、この変異はPD発症の原因となる²¹⁾。最近では、リソソーム内のポリアミンの排出にも関与することが明らかになり、リソソームの恒常性維持において重要な役割を担っている²²⁾。LRRK2は家族

性PD変異で最も報告が多く、プロテインキナーゼやGTP結合ドメインを持つ2527アミノ酸からなるタンパク質である²³⁾。LRRK2はゴルジ体、ミトコンドリアや微小管などのタンパク質と相互作用することが報告されており、多彩な生理機能を担っていると予想される²³⁾。そして最近ではオートファジー・リソソーム機能の調節に関与することも報告されている。例えば、mTORC1を介したオートファゴソーム形成の調節やリソソームのV型H⁺ ATPaseプロトンポンプを介したリソソーム活性調節などにもLRRK2が機能していることが明らかになってきている²⁴⁾。

以上のように、遺伝子の変異、加齢、生活習慣によるオートファジーの低下や凝集性タンパク質の過剰発現が様々な神経変性疾患の発症原因の1つになっている。

お わ り

神経変性疾患の治療へむけてオートファジーを標的にした治療法の開発が行われてきている。様々なタイプのオートファジー活性促進剤が報告されており、免疫抑制剤ラパマイシンはmTORC1を阻害することでオートファジーを活性化できるし、糖尿病治療薬のメトフォルミンや骨髄性白血病治療薬ニロチニブはAMPKを活

別表 タンパク質名一覧

略名	正式名
ULK1	Unc-51 like autophagy activating kinase 1
WIPI	WD-repeat protein interacting with phosphoinositides
NBR1	Neighbor of BRCA1 gene 1
ALFY	Autophagy-linked FYVE protein
NDP52	Nuclear dot protein 52
OPTN	Optineurin
TAX1BP1	Tax1 binding protein 1
Keap1	Kelch-like ECH-associated protein 1
TBK1	TANK-binding kinase 1
GABARAP	Gamma aminobutyric acid A receptor associated protein
mTORC1	Mammalian target of rapamycin complex 1
AMPK	AMP-activated protein kinase

性化することでオートファジーを促進する²⁵⁾。これらの薬剤の治療効果は神経変性疾患のモデルマウスや培養細胞で検証されており、ラパマイシンはADモデルマウスであるP301S tauトランスジェニックマウスやPDAPPマウスでタウやアミロイドβの蓄積を抑制し認知機能の改善を示した²⁵⁾。またPDモデルでもα-シヌクレイン凝集体の蓄積を抑制できた¹⁶⁾²⁵⁾。メトフォルミンやニコチンもまたアミロイドβの沈着やα-シ

ヌクレイン凝集体の蓄積を防ぐことが示され、ADやPD患者を対象にした臨床試験が実施されている²⁵⁾。さらに、恒常的なオートファジーの活性化は神経変性疾患の発症予防だけでなく寿命の延長にも寄与することが明らかになり²⁶⁾²⁷⁾、今後このような疾患予防や健康寿命を延ばす薬剤やサプリメントなどオートファジーを標的として開発することが望まれる。

文 献

- 1) Focusing on autophagy. *Nat Cell Biol*, 12: 813, 2010.
- 2) Takeshige K, Baba M, Tsuboi S, Noda T, Ohsumi Y. Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *J Cell Biol*, 119: 301-311, 1992.
- 3) Tsukada M, Ohsumi Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett*, 333: 169-174, 1993.
- 4) Kirkin V, McEwan DG, Novak I, Dikic I. A role for ubiquitin in selective autophagy. *Mol Cell*, 34: 259-269, 2009.
- 5) Kirkin V, Rogov VV. A Diversity of Selective Autophagy Receptors Determines the Specificity of the Autophagy Pathway. *Mol Cell*, 76: 268-285, 2019.
- 6) Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, Yamamoto A, Kirisako T, Noda T, Kominami E, Ohsumi Y, Yoshimori T. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosomal membranes after processing. *Embo j*, 19: 5720-5728, 2000.
- 7) Kuma A, Hatano M, Matsui M, Yamamoto A, Nakaya H, Yoshimori T, Ohsumi Y, Tokuhisa T, Mizushima N. The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature*, 432: 1032-1036, 2004.
- 8) Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Suzuki-Migishima R, Yokoyama M, Mishima K, Saito I, Okano H, Mizushima N. Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature*, 441: 885-889, 2006.
- 9) Inami Y, Waguri S, Sakamoto A, Kouno T, Nakada K, Hino O, Watanabe S, Ando J, Iwadate M, Yamamoto M, Lee MS, Tanaka K, Komatsu M. Persistent activation of Nrf2 through p62 in hepatocellular carcinoma cells. *J Cell Biol*, 193: 275-284, 2011.
- 10) Takamura A, Komatsu M, Hara T, Sakamoto A, Kishi C, Waguri S, Eishi Y, Hino O, Tanaka K, Mizushima N. Autophagy-deficient mice develop multiple liver tumors. *Genes Dev*, 25: 795-800, 2011.
- 11) Mancias JD, Wang X, Gygi SP, Harper JW, Kimmelman AC. Quantitative proteomics identifies NCOA4 as the cargo receptor mediating ferritinophagy. *Nature*, 509: 105-109, 2014.
- 12) Yang L, Li P, Fu S, Calay ES, Hotamisligil GS. Defective hepatic autophagy in obesity promotes ER stress and causes insulin resistance. *Cell Metab*, 11: 467-478, 2010.
- 13) Kuijpers M, Kochlamazashvili G, Stumpf A, Puchkov D, Swaminathan A, Lucht MT, Krause E, Maritzen T, Schmitz D, Haucke V. Neuronal Autophagy Regulates Presynaptic Neurotransmission by Controlling the Axonal Endoplasmic Reticulum. *Neuron*, 109: 299-313.e299, 2021.
- 14) Compans B, Camus C, Kallergi E, Sposini S, Martineau M, Butler C, Kechkar A, Klaassen RV, Retailleau N, Sejnowski TJ, Smit AB, Sibarita JB, Bartol TM, Jr., Perrais D, Nikolettou V, Choquet D, Hossy E. NMDAR-dependent long-term depression is associated with increased short term plasticity through autophagy mediated loss of PSD-95. *Nat Commun*, 12: 2849, 2021.
- 15) Kovacs GG. Molecular pathology of neurodegenerative diseases: principles and practice. *J Clin Pathol*, 72: 725-735, 2019.
- 16) Watanabe Y, Tatebe H, Taguchi K, Endo Y, Tokuda T, Mizuno T, Nakagawa M, Tanaka M. p62/SQSTM1-dependent autophagy of Lewy body-like α-synuclein inclusions. *PLoS One*, 7: e52868, 2012.
- 17) Fecto F, Yan J, Vemula SP, Liu E, Yang Y, Chen W,

- Zheng JG, Shi Y, Siddique N, Arrat H, Donkervoort S, Ajroud-Driss S, Sufit RL, Heller SL, Deng HX, Siddique T. SQSTM1 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol*, 68: 1440-1446, 2011.
- 18) Maruyama H, Morino H, Ito H, Izumi Y, Kato H, Watanabe Y, Kinoshita Y, Kamada M, Nodera H, Suzuki H, Komure O, Matsuura S, Kobatake K, Morimoto N, Abe K, Suzuki N, Aoki M, Kawata A, Hirai T, Kato T, Ogasawara K, Hirano A, Takumi T, Kusaka H, Hagiwara K, Kaji R, Kawakami H. Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*, 465: 223-226, 2010.
- 19) Oakes JA, Davies MC, Collins MO. TBK1: a new player in ALS linking autophagy and neuroinflammation. *Mol Brain*, 10: 5, 2017.
- 20) Herhaus L, Bhaskara RM, Lystad AH, Gestal-Mato U, Covarrubias-Pinto A, Bonn F, Simonsen A, Hummer G, Dikic I. TBK1-mediated phosphorylation of LC3C and GABARAP-L2 controls autophagosome shedding by ATG4 protease. *EMBO Rep*, 21: e48317, 2020.
- 21) Ramirez A, Heimbach A, Gründemann J, Stiller B, Hampshire D, Cid LP, Goebel I, Mubaidin AF, Wriekat AL, Roeper J, Al-Din A, Hillmer AM, Karsak M, Liss B, Woods CG, Behrens MI, Kubisch C. Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nat Genet*, 38: 1184-1191, 2006.
- 22) van Veen S, Martin S, Van den Haute C, Benoy V, Lyons J, Vanhoutte R, Kahler JP, Decuyper JP, Gelders G, Lambie E, Zielich J, Swinnen JV, Annaert W, Agostinis P, Ghesquière B, Verhelst S, Baekelandt V, Eggermont J, Vangheluwe P. ATP13A2 deficiency disrupts lysosomal polyamine export. *Nature*, 578: 419-424, 2020.
- 23) Usmani A, Shavarebi F, Hiniker A. The Cell Biology of LRRK2 in Parkinson's Disease. *Mol Cell Biol*, 41, 2021.
- 24) Albanese F, Novello S, Morari M. Autophagy and LRRK2 in the Aging Brain. *Front Neurosci*, 13: 1352, 2019.
- 25) Djajadikerta A, Keshri S, Pavel M, Prestil R, Ryan L, Rubinsztein DC. Autophagy Induction as a Therapeutic Strategy for Neurodegenerative Diseases. *J Mol Biol*, 432: 2799-2821, 2020.
- 26) Nakamura S, Oba M, Suzuki M, Takahashi A, Yamamuro T, Fujiwara M, Ikenaka K, Minami S, Tabata N, Yamamoto K, Kubo S, Tokumura A, Akamatsu K, Miyazaki Y, Kawabata T, Hamasaki M, Fukui K, Sango K, Watanabe Y, Takabatake Y, Kitajima TS, Okada Y, Mochizuki H, Isaka Y, Antebi A, Yoshimori T. Suppression of autophagic activity by Rubicon is a signature of aging. *Nat Commun*, 10: 847, 2019.
- 27) Fernández Á F, Sebti S, Wei Y, Zou Z, Shi M, McMillan KL, He C, Ting T, Liu Y, Chiang WC, Marciano DK, Schiattarella GG, Bhagat G, Moe OW, Hu MC, Levine B. Disruption of the beclin 1-BCL2 autophagy regulatory complex promotes longevity in mice. *Nature*, 558: 136-140, 2018.

著者プロフィール



渡邊 義久 Watanabe Yoshihisa

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科基礎老化学・講師

略 歴：2003年 3月 京都府立医科大学大学院 修了

2003年 4月 京都府立医科大学附属脳・血管系老化研究センター 助手

2007年 4月 京都府立医科大学大学院医学研究科基礎老化学 助教

2013年 4月 京都府立医科大学大学院医学研究科基礎老化学 講師

専門分野：神経科学，生化学，分子生物学

- 主な業績：1. Watanabe Y, Taguchi K, Tanaka M. Ubiquitin, Autophagy and Neurodegenerative Diseases. *Cells*, **9**: 2022, 2020.
2. Watanabe Y, Tsujimura A, Taguchi K, Tanaka M. HSF1 stress response pathway regulates autophagy receptor SQSTM1/p62-associated proteostasis. *Autophagy*, **13**: 133-148, 2017.
3. Watanabe Y, Yoshimoto K, Tatebe H, Kita M, Nishikura K, Kimura M, Tanaka M. Enhancement of alcohol drinking in mice depends on alterations in RNA editing of serotonin 2C receptors. *Int J Neuropsychopharmacol*, **17**: 739-751, 2014.