

Membrane Trafficking Illuminates a Path to Parkinson's Disease

Takafumi Hasegawa, Naoto Sugeno, Akio Kikuchi, Toru Baba and Masashi Aoki

Tohoku Journal of Experimental Medicine, 2017, 242, 63-7

doi: 10.1620/tjem.242.63.

メンブレントラフィックが照らし出すパーキンソン病態解明への道

長谷川隆文ほか

(H28 年度東北大学医学部奨学賞金賞受賞 : invited review)

KEY WORDS: 膜輸送 (membrane trafficking)、パーキンソン病 (Parkinson's disease)、 α シヌクレイン (α -synuclein)、プリオン仮説 (prion hypothesis)、エンドソーム (endosome)

SUMMARY

消化酵素や神経伝達物質の分泌、細胞膜上の各種受容体やトランスポーターの発現調節等々、膜輸送 (membrane trafficking : メンブレントラフィック) の例は枚挙に遑がない。2013 年のノーベル医学・生理学賞は、細胞内輸送のメカニズム解明に多大な功績を残した Randy Schekman、James Rothman および Thomas Südhof の 3 名の研究者に授与されたことから判るとおり、近年医学・生命科学分野において同領域への関心が高まっている。神経疾患の分野でも、パーキンソン病を含めた様々な神経変性疾患において、膜輸送障害が神経変性を引き起こす根幹病態の一角であることを示す証拠が相次いで呈示されている。さらに、細胞内輸送は神経変性疾患における異常タンパク伝播現象 (いわゆるプリオン仮説) においても重要な役割を演じていることが明らかとなっている。本レビューでは、最近明らかとなってきたパーキンソン病病態と細胞内輸送の関わりについて概説した。

I. 膜輸送 (メンブレントラフィック) とは?

現代社会は、多様な需要に対して物資の調達、生産、販売、物流等の供給活動を適切に同期化させる産業ロジスティックスの下に成立している。これと同様に、生体を構成する個々の細胞は高度に専門化された物流システムであるメンブレントラフィックを機能させることで、生命活動を支えている。細胞内に存在する種々のオルガネラー小胞体、ゴルジ体、分泌小胞、エンドソーム、リソソームほか¹⁾は相互にあるいは細胞膜と膜および内容物の交換を繰り返しながら、種々の積荷分子を選別し必要に応じて決められた場所に輸送する。

細胞内におけるこれらの一連の動的ネットワークは細胞内輸送あるいは膜輸送、小胞輸送とよばれている。メンブレントラフィックの主要ルートとしては、(i) 小胞体からゴルジ体を経由に細胞膜に至る分泌経路、(ii) 小胞体からゴルジ体を経てエンドソームへ向かう生合成経路、(iii) 細胞膜からエンドソームを経てリソソームもしくは細胞膜に至るエンドサイトーシス経路、および (iv) 細胞質からオートファゴソームを経てリソソームに至るオートファジー経路の4つが知られている (図 1)。

II. パーキンソン病病態における細胞内輸送の役割

【 α シヌクレイン細胞間伝播と細胞内輸送】

孤発性パーキンソン病 (PD) 発症において最も重要な分子と考えられているのが、レビ一小体の主要構成成分である α シヌクレイン (α S) である。 α S 遺伝子 (*SNCA*) は家族性パーキンソン病 (*PARK1*) の原因として最初に報告された遺伝子でもある。Native な状態の α S は α ラせん構造をとり膜に結合するか、あるいは不定の構造をとって細胞質に存在している。 α S は点変異、酸化的ストレスなどにより凝集化を生じ、細胞毒性を発揮する。興味深いことに、 α S 遺伝子は点変異のみならず遺伝子重複 (*PARK4*) でも PD を発症させることが知られており、神経細胞内の α S 量増加が変性の起点となる可能性を示唆している。一方、細胞内 α S 量を規定しているのは遺伝子発現量のみではない。リソソーム・オートファジー経路といった分解経路、さらに近年話題になっている細胞間伝播によっても影響を受ける。ここでは、 α S の吸収・分泌・分解を司る細胞内輸送機構について、これまでの研究で判ってきた事実を紹介する。

a. α シヌクレイン吸収機構について

神経細胞培地に α S オリゴマー・フィブリルを添加すると、数分以内に細胞内への移行が確認され、 α S 陽性の封入体形成が確認される。 α S 吸収機構に関しては、低温下での培養やエンドサイトーシス制御分子である dynamin I の機能抑制により取込みが減少することから、エンドサイトーシス機構の重要性が指摘されている。筆者らは dynamin GTPase 阻害活性をもつ selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) が細胞内への線維化 α S 吸収を抑制することを確認している。このプロセスにおいて、細胞表面に発現する LAG3 あるいは TLR2 などが線維化 α S の受容体として働く可能性が指摘されている。 α S 吸収経路については、モノマー・オリゴマーといった構造による違いが指摘されており、 α S モノマーは非

エンドサイトーシス機構で吸収される可能性が指摘されている。我々は細胞内に侵入した α S モノマーが Nedd4 により K63 ポリユビキチン化され、後期エンドソームへ輸送され分解されることを確認している。(図 2)

b. □ α シヌクレイン分泌機構について

正常およびスクレイピー型プリオンは、後期エンドソームを経て形成される多胞体 (multivesicular body; MVB) の腔内小胞に高濃度に存在する。MVB 外膜は細胞膜と癒合し、腔内小胞を細胞外へエクソソームという形で放出する。プリオンの例に習い、 α S の分泌もエクソソーム依存性であると考えられる研究者が多いが、これに異を唱える報告も散見される。PD および正常対照者検体を用いた我々の検討では、髄液エクソソーム中に含まれる α S はプリオンに比し極めて少量であった。また、エクソソーム形成を阻害した細胞においても、 α S の細胞外分泌量は減少することはなかった。興味深いことに、エクソソームによる α S 分泌はリソソーム阻害剤や複合体 I 阻害剤下で増加するとの報告もあり、 α S 分泌経路は細胞のストレス状況によっても左右される可能性がある。筆者らの検討では、Rab11a が制御するリサイクリングエンドソームが α S 分泌に関与している証拠が得られている。このほか、Rab27 が制御するエキソファジー経路による分泌なども推定されている。(図 3)

c. α シヌクレイン分解におけるリソソーム機能の重要性

一般にエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれた物質は、まず初期エンドソームに集められ、リサイクリング経路で再分泌されるか、あるいは後期エンドソーム、リソソームへと運搬され分解される。実際、 α S 曝露後にみられる α S 陽性封入体は、エンドソームあるいはリソソームマーカーと共局在する。野生型 α S はシャペロン介在性オートファジーターゲット配列類似の配列を有しており、オートファジー/リソソーム経路により分解される可能性が指摘されている。 α S 曝露前に細胞をリソソーム阻害剤 bafilomycin A1 で前処理すると SDS 不溶性 α S オリゴマーの増加が観察されることや、カテプシン D 欠損下や、オートファジー機能不全状態では異常凝集した α S 蓄積がみられること、などからも、細胞内 α S 分解にはオートファジー/リソソーム経路が重要な役割を担っていることが示唆される。

【細胞内輸送における α シヌクレインの役割】

α S は細胞内輸送で運ばれる積荷分子であると同時に、自らが細胞内輸送の制御因子とな

る可能性が指摘されている。酵母においてヒト α S を過剰発現すると細胞毒性がみられ、細胞内輸送関連分子である Rab GTPase とともに凝集した α S 蓄積と空胞形成が生じる。エンドソームとリソソームの癒合やシナプス小胞癒合には SNARE 複合体が重要な役割をもつが、 α S は SNARE 複合体の synaptobrevin-2/VAMP2 と結合し、シナプスにおける SNARE 複合体形成に寄与しているとの報告もある。

III. 遺伝性パーキンソン病と細胞内輸送障害

これまでに 20 を超える家族性 PD 遺伝子およびリスク遺伝子が同定されているが、驚くべき事にその多くが細胞内輸送に関与した分子をコードしている (表 1)。*PARK8* 遺伝子である *LRRK2* は、シナプス小胞のエンドサイトーシス調節因子として働いている可能性が指摘されている(1)。*PARK9* 遺伝子 *ATP13A2* はリソソーム ATPase をコードしており、本酵素のハプロ不全がリソソーム機能障害を介して PD 発症に関わることが推察されている。PD 発症のリスク遺伝子である *GBA* にコードされるグルコセレブロシダーゼ (GCCase) もまたリソソーム酵素である。GCCase の基質であるグルコシルセラミドの蓄積が α S オリゴマーの細胞毒性を増幅し、さらに α S が *GBA* 活性を抑制するという負の連鎖機構が推察されている。また、*PARK19* 遺伝子の *DNAJC6* はエンドサイトーシス制御に関与しており、シナプス膜におけるドパミン受容体エンドサイトーシスに関わっている可能性が示唆されている。さらに近年、エンドソームからトランスゴルジへの積荷タンパクの逆行輸送を司るレトロマー複合体の機能を制御し、オートファジー・リソソーム系でのタンパク分解に寄与している 2 つ家族性 PD 遺伝子 *VPS35* (*PARK17*) および *DNAJC13* (*PARK21*) が報告された。興味深いことに、培養細胞やショウジョウバエモデルを用いた研究において、変異 *LRRK2* の細胞毒性は PD リスク遺伝子である *Rab7L* あるいは *VPS35* 発現でレスキューされることから、*LRRK2*、*VPS35*、*Rab7L* の各遺伝子は common cellular pathway を形成している可能性が示唆されている。(図 4)

IV. まとめ

PD の病態機序における細胞内輸送の役割について、プリオン仮説や遺伝性 PD 病態を中心に概説した。前述の通り、これまでに同定された家族性 PD 遺伝子の多くは細胞内輸送に関与する分子をコードしていることが判明している。言い換えれば、脳内の交通渋滞・障害が PD を含めた神経変性疾患の発症を招く契機となると行っても過言ではないかも知れない。さらに細胞内輸送・ α S 細胞間伝播阻止に焦点を当てた治療介入の可能性も期待され

る。

(文責：長谷川隆文)

【図説明】

図 1：細胞内輸送の主要ルート

細胞内輸送の主要ルートとしては、(i) 小胞体からゴルジ体を経由に細胞膜に至る分泌経路、(ii) 小胞体からゴルジ体を経てエンドソームへ向かう生合成経路、(iii) 細胞膜からエンドソームを経てリソソームもしくは細胞膜に至るエンドサイトーシス経路、および (iv) 細胞質からオートファゴソームを経てリソソームに至るオートファジー経路の 4 つが存在する。

図 2： α シヌクレイン吸収を制御する細胞内輸送

細胞外の線維化 α S は主に dynamin 依存性エンドサイトーシスにて細胞内へ取り込まれ、同過程は dynamin の GTP hydrolysis 活性阻害作用のある sertraline にて抑制される。このプロセスにおいて、細胞表面に発現する LAG3 あるいは TLR2 などが線維化 α S の受容体として働く可能性が指摘されている。一方、 α S モノマーは細胞膜を容易に通過し、E3 リガーゼ Nedd4 による K63 ユビキチン化を受け、後期エンドソームに輸送される。他に細胞間ナノチューブを介した伝播ルートの存在も指摘されている。

図 3： α シヌクレイン分泌を制御する細胞内輸送

α S 分泌ルートとしては、形質膜の直接貫通、Rab11a が制御するリサイクリング経路、エクソソームを介する分泌、あるいは Rab27 が制御するエキソファジー経路などの関与が推定されている。

図 4：細胞内輸送に関連する家族性パーキンソン病遺伝子

これまでに 20 を超える家族性 PD 遺伝子・リスク遺伝子が同定されており、その多くが細胞内輸送やシナプス機能に関連した分子をコードしている。

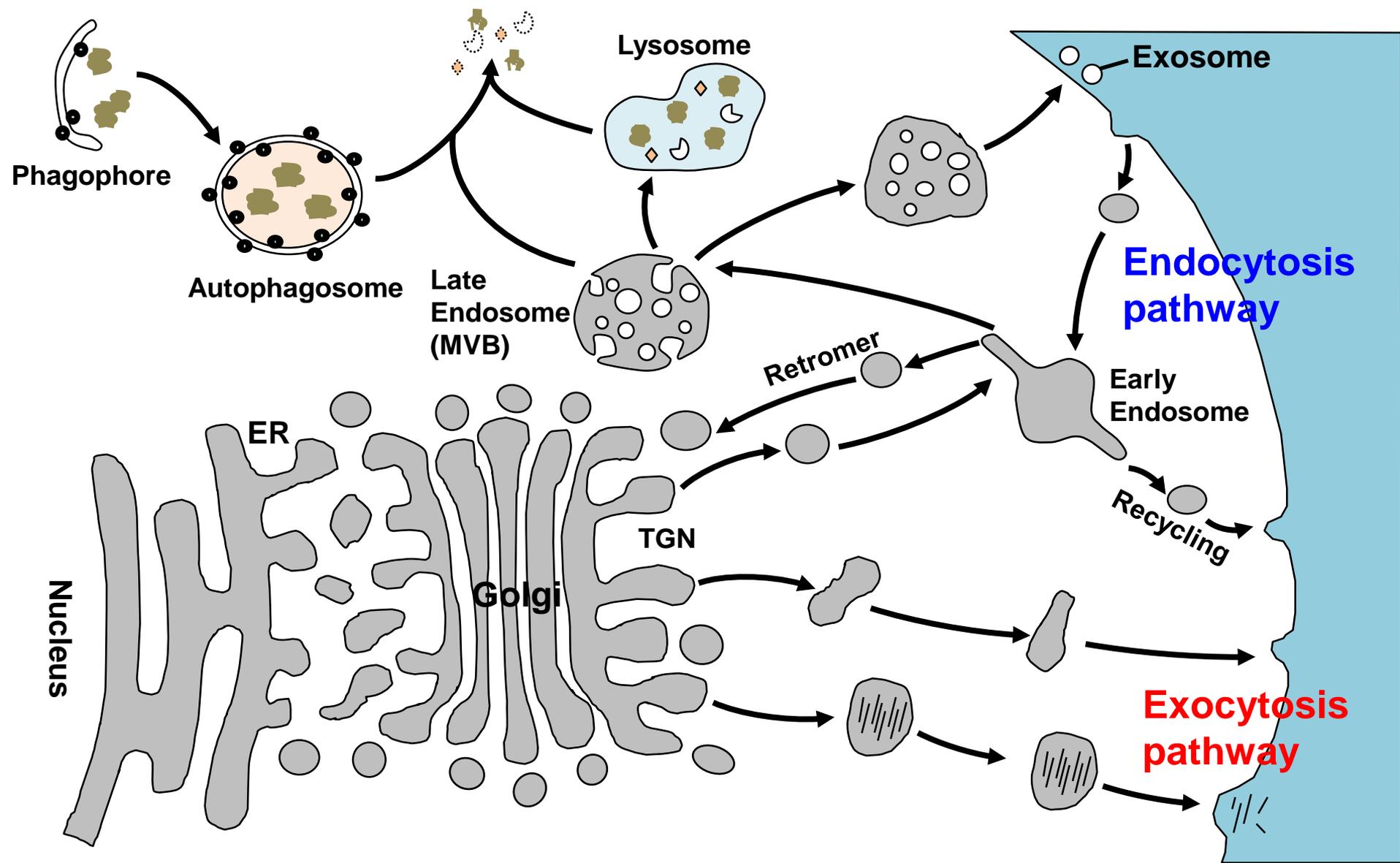
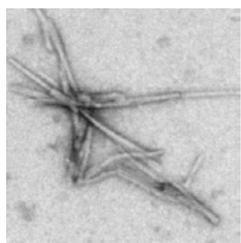
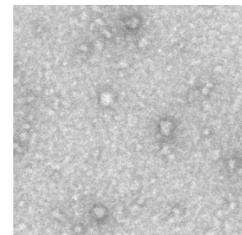


图1.



Oligomer/fibrillar α -synuclein

Monomer α -synuclein



α -synuclein in exosome

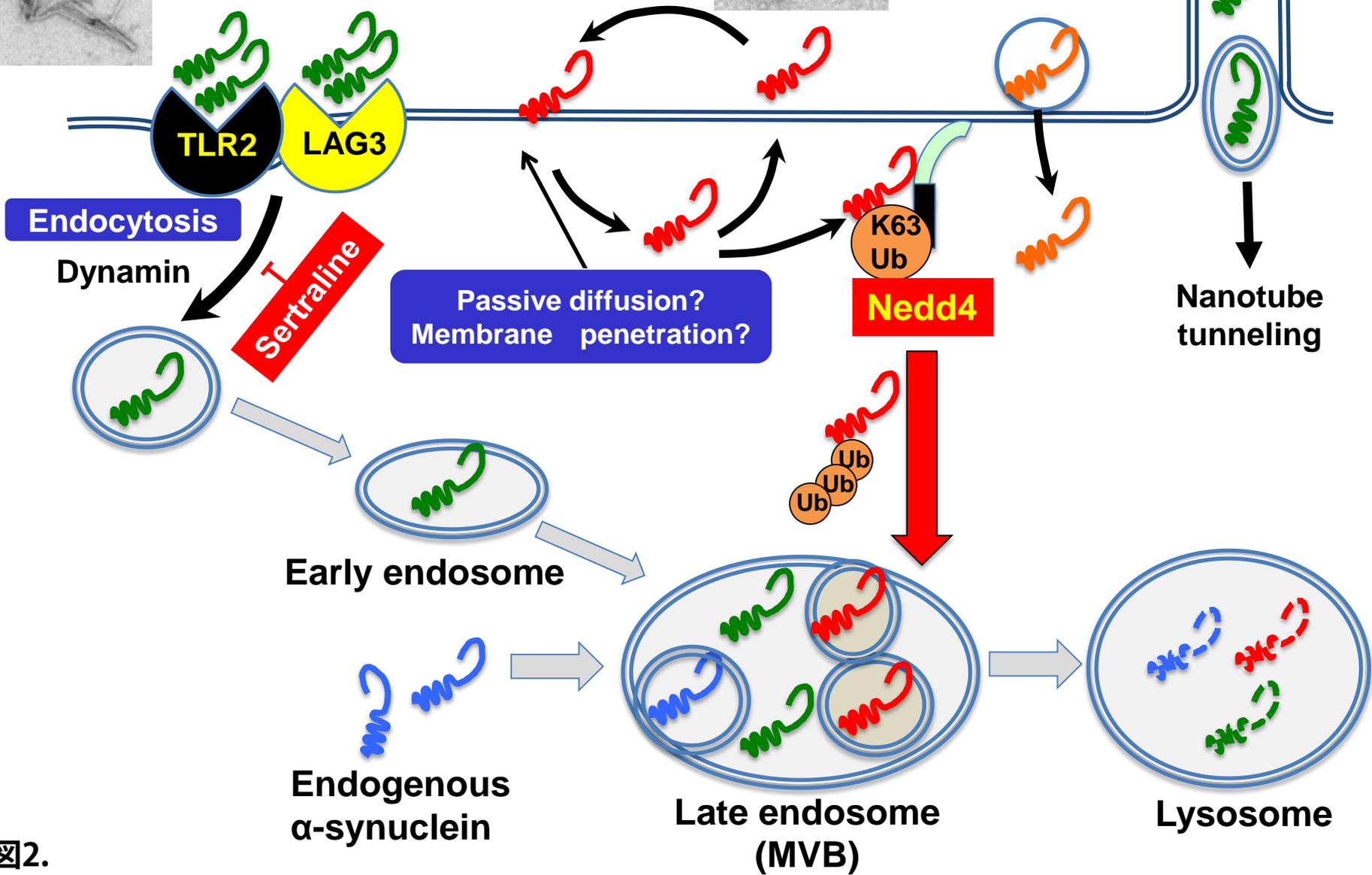


图2.

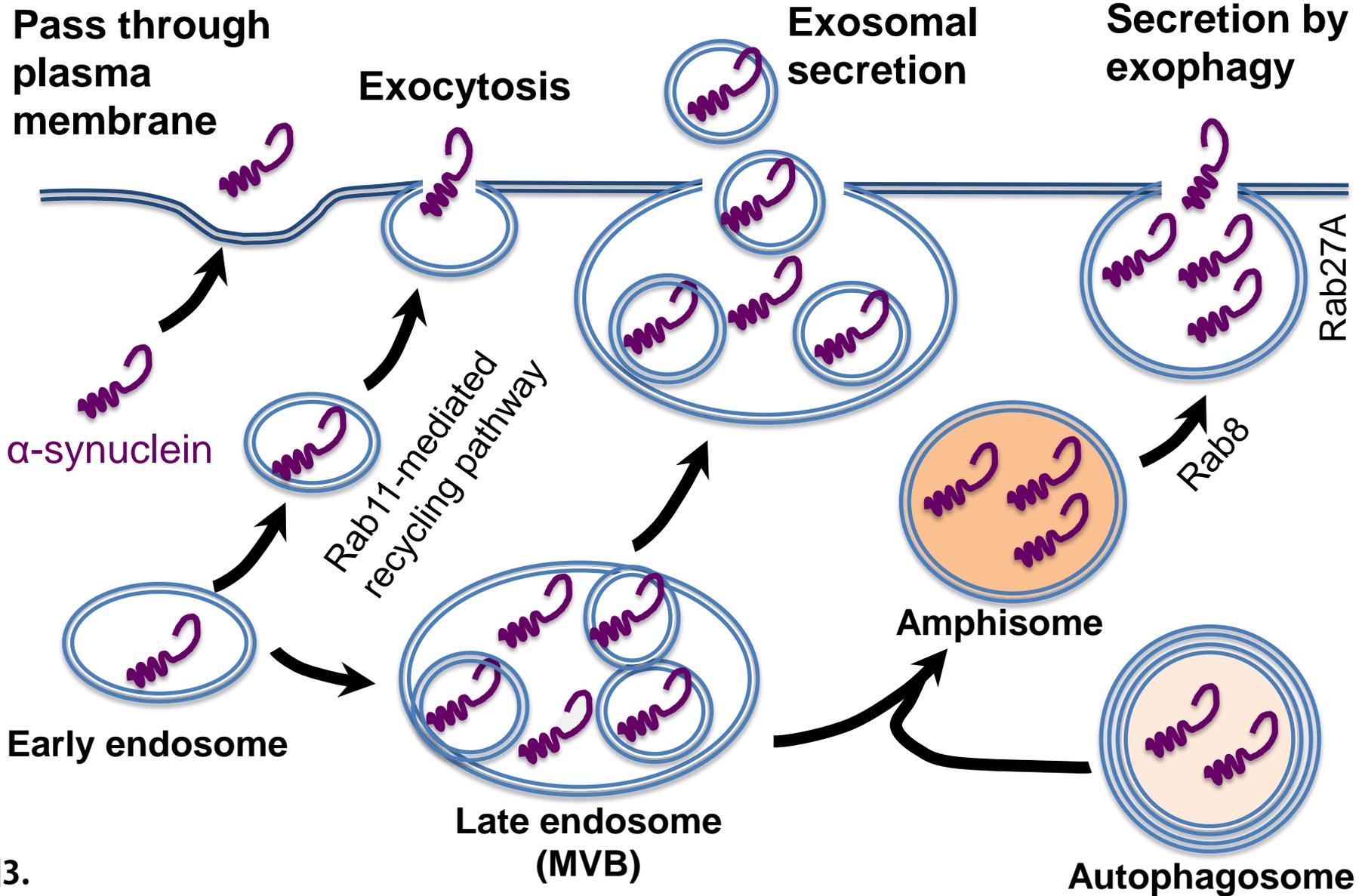


图3.

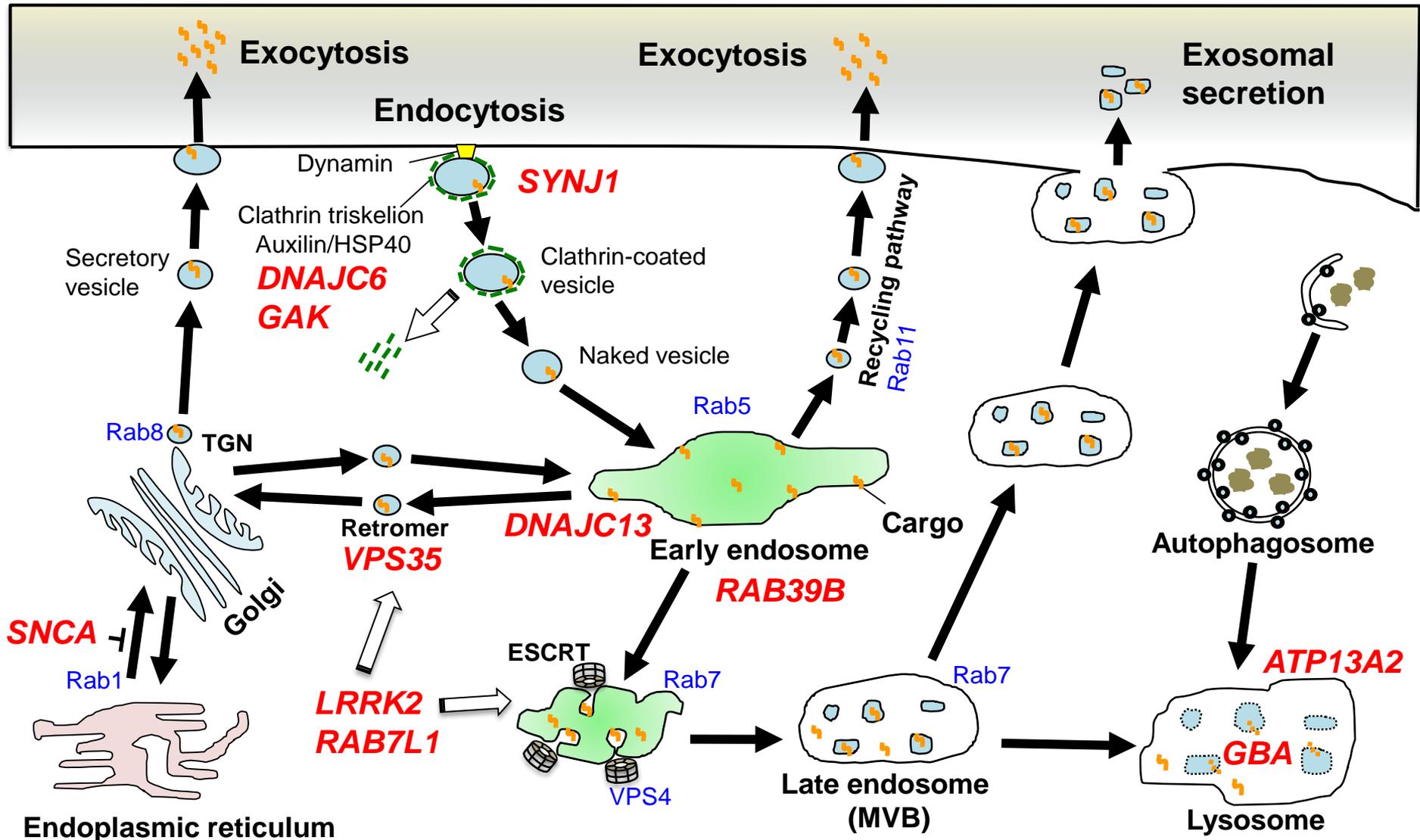


图4.