

小胞体内における 異常タンパクの新たな処理メカニズムを発見！

名古屋大学医学部附属病院 糖尿病・内分泌内科の宮田 崇 医員（筆頭著者）、萩原 大輔 病院講師（責任著者）、同大医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学の有馬 寛 教授（責任著者）、自然科学研究機構 生理学研究所 生体機能調節研究領域 超微形態研究部門および自治医科大学医学部 解剖学講座組織学部門の大野 伸彦 教授、岡山大学大学院自然科学研究科 理学部附属臨海実験所の坂本 浩隆 准教授らの研究グループは、家族性中枢性尿崩症^{*1}モデルマウスを用いて、小胞体^{*2}における新たな異常タンパク処理メカニズムを明らかにしました。

小胞体ストレス^{*3}は、糖尿病や神経変性疾患を始めとした多くの病気に関係していることが分かっています。小胞体に蓄積した異常タンパクに対する処理メカニズムとしてユビキチン-プロテアソーム系^{*4}あるいはオートファジー^{*5}が広く知られていますが、いずれにおいても異常タンパクを小胞体から細胞質へ輸送あるいは隔離した後に分解が行われます。一方で、小胞体内で凝集体を形成し、輸送隔離されることができなくなった異常タンパクがどのようなメカニズムで処理されるかは明らかになっていませんでした。今回研究グループが解析を行った家族性中枢性尿崩症のモデルマウスでは脳内に存在するバソプレシニューロン^{*6}の小胞体の一部に異常タンパクの凝集体が隔離された区画（ER-associated compartment: ERAC）が形成されることが分かっており、本研究では ERAC 内の異常タンパク凝集体の分解機構の解明を目指しました。

連続ブロック表面走査電子顕微鏡^{*7}を用いた解析により、ERAC が正常小胞体とつながっていることが示されたとともに、ERAC へのライソソーム^{*8}の融合が明らかとなりました。また免疫電子顕微鏡^{*9}による解析では ERAC 内にライソソーム関連分子が発現しており、さらには薬理的解析により ERAC 内の凝集体はライソソームによる分解を受けていることが示されました。以上の結果は、異常タンパク凝集体が小胞体から細胞質へ輸送隔離されことなく小胞体内部でライソソームにより分解されることを意味しており、新たな異常タンパク処理メカニズムの存在が明らかとなりました。

今後、このメカニズムをさらに詳しく解明していくことで、小胞体ストレスに関連する多くの疾患に有効な治療薬の開発に繋がる可能性があります。

本研究は、米国 Cell Press より発行されている科学誌「iScience」（2020 年 10 月 7 日付（米国東部時間）の電子版）に掲載されました。

ポイント

- 小胞体に異常タンパクが蓄積することによって生じる小胞体ストレスは、糖尿病や各種神経変性疾患を含めた多くの疾患の病態に関与している。
- 小胞体に蓄積した異常タンパクは、ユビキチン-プロテアソーム系あるいはオートファジーによって分解されることが知られているが、いずれも異常タンパクを小胞体から細胞質へ輸送あるいは隔離した後に分解が行われる。
- 本研究の結果、小胞体内で凝集体を形成した異常タンパクを小胞体から輸送隔離することなく小胞体内部でライソソームにより分解する、新規の異常タンパク処理機構が存在することが示された。
- この新たな分解メカニズムに関してより詳細な分子の仕組みの解明を進めることで、小胞体ストレスに関連する多くの疾患に有効な治療薬の開発に繋がる可能性がある。

1. 背景

小胞体はタンパク質の折りたたみを担う細胞内小器官です。一方で、種々の要因により正常な構造に折りたたまれなかった異常タンパクが小胞体に蓄積すると小胞体ストレスが生じます。小胞体ストレスに対する生体の防御機構（小胞体ストレス応答）として、小胞体に蓄積した異常タンパクを処理するためユビキチン-プロテアソーム系あるいはオートファジーが誘導されること知られており、これらの機構では異常タンパクは小胞体から細胞質へ輸送あるいは隔離した後に分解されます。

家族性中枢性尿崩症は生後数ヶ月から数年で緩やかに進行する尿崩症症状が現れる遺伝性疾患であり、バソプレシンニューロンの小胞体に異常タンパクが蓄積することによる小胞体ストレスが病態の主体であることが知られています。本研究グループは過去に家族性中枢性尿崩症モデルマウスを作り出し、バソプレシンニューロンの小胞体の一部に異常タンパクの凝集体が隔離された区画（ER-associated compartment: ERAC）が形成されることを発見しました。しかしながら、ERAC内の異常タンパクは凝集体を形成していることから小胞体から細胞質へ輸送隔離することが困難と考えられ、ユビキチン-プロテアソーム系あるいはオートファジーといった従来の異常タンパク処理メカニズムとは異なる別の分解メカニズムが存在する可能性があり、本研究ではその解明を目指しました。

2. 研究成果

家族性中枢性尿崩症モデルマウスにおいて連続ブロック表面走査電子顕微鏡を用いてバソプレシンニューロンにおける ERAC の詳細な形態の解析を実施したところ、ERAC と正常小胞体との連続性が確認され（図 1）、また ERAC へのライソソームの融合が観察されました（図 2）。ライソソーム関連分子に対する抗体を用いた免疫電顕を施行したところ、ライソソーム関連分子が ERAC の内部に存在していることが分かりました。さらには、家族性中枢性尿崩症モデルマウスにオートファジー誘導薬のラパマイシンを投与したところ ERAC の数は有意に減少していた一方で、ライソソーム阻害薬のクロロキンを投与したところ ERAC の数は有意に増加しており、ERAC 内の凝集体はライソソームによる分解を受けていることが示されました。

以上の結果から、小胞体内に蓄積した異常タンパク凝集体は小胞体から細胞質へ輸送隔離されることなく小胞体内部で分解されていることが明らかとなりました。今回発見したこの分解メカニズムは

従来のユビキチン-プロテアソーム系あるいはオートファジーとは異なる、新たな異常タンパク処理メカニズムです（図3）。

3. 今後の展開

小胞体ストレスが病態に関与する他の病気の動物モデルでも家族性中枢性尿崩症モデルマウスと同様に ERAC の形成が報告されており、小胞体ストレスが生じる体中のいろいろな細胞において ERAC の形成は普遍的な小胞体ストレス応答であると考えられます。今後、本研究で示された新たな異常タンパク処理メカニズムに関してより詳細な分子の仕組みが解明されれば、小胞体ストレスが病態形成に関与する多くの疾患に共通の仕組みが解明される可能性があり、さらにはこれらの疾患に対する新たな治療薬の開発に繋がることも期待されます。

図 1

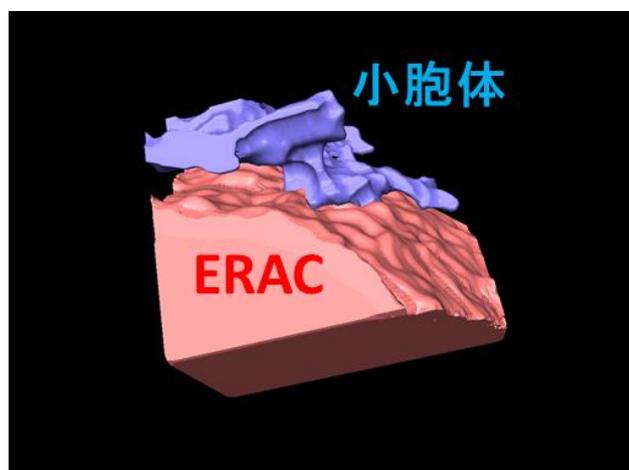


図 2

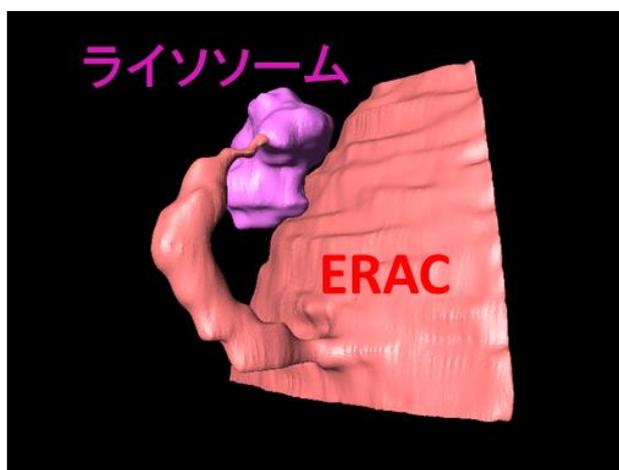
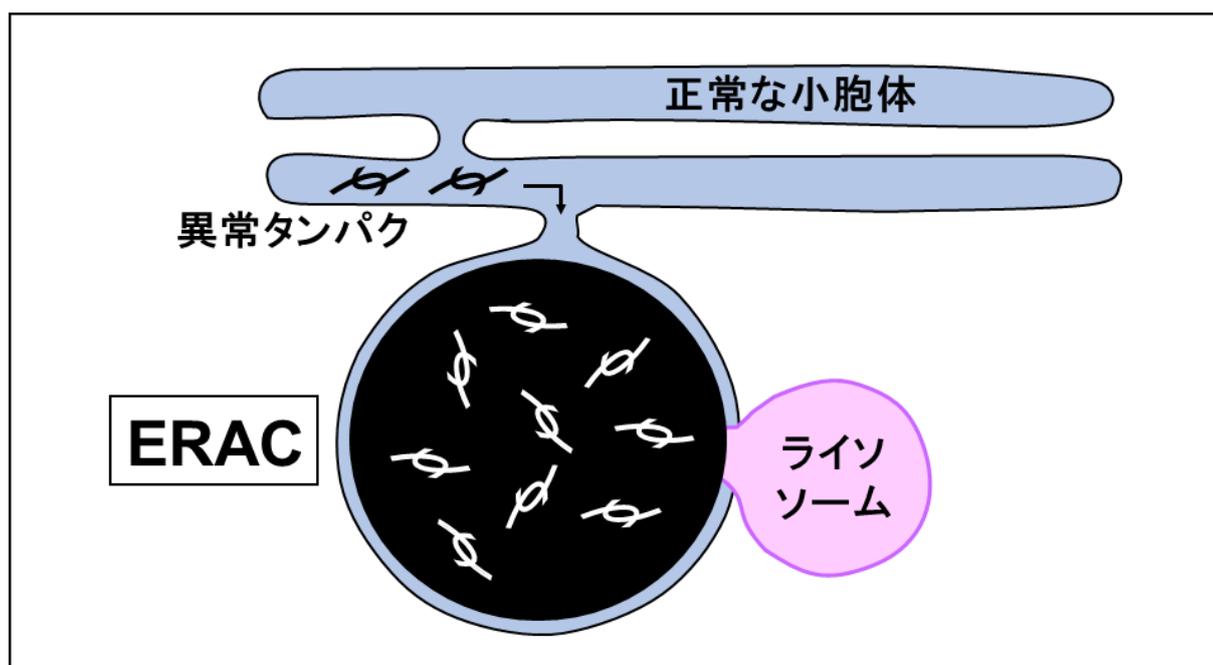


図 3



4. 用語説明

- ※1 **家族性中枢性尿崩症**：生後数ヶ月から数年で緩やかに進行する尿崩症症状（多尿、多飲など）が現れる遺伝性疾患。
- ※2 **小胞体**：新たに合成されたタンパク質の折りたたみを担う細胞内小器官。
- ※3 **小胞体ストレス**：適切に折りたたまれなかった異常タンパクが小胞体に蓄積した状態。
- ※4 **ユビキチン-プロテアソーム系**：細胞質の異常タンパクをユビキチン化してプロテアソームで分解する、主要な細胞内分解系の一つ。
- ※5 **オートファジー**：異常タンパクや傷ついた細胞内小器官を隔離膜で隔離してオートファゴソームを形成しライソソームが融合することで分解する、主要な細胞内分解系の一つ。
- ※6 **バソプレシンニューロン**：バソプレシンは抗利尿ホルモンとも呼ばれ、視床下部に存在するバソプレシンニューロンで合成され、ニューロンの末端である下垂体後葉から血液中に分泌される。血液中のバソプレシンは、腎臓に働いて水の再吸収を増加させる働きをする。
- ※7 **連続ブロック表面走査電子顕微鏡**：組み込み式マイクロトームによる表面切削と走査電子顕微鏡による試料の断面観察を交互に反復することにより、数百 μm^2 以上に及ぶ比較的広範囲の領域からの連続切片画像を数 nm 程度の解像度で迅速に取得できる
- ※8 **ライソソーム**：内部に加水分解酵素を含み、消化分解作用をもつ細胞内小器官。
- ※9 **免疫電子顕微鏡**：目的とするタンパク質の局在を、抗原抗体反応を利用して電子顕微鏡下で検出する方法。

5. 発表雑誌

雑誌名：iScience（10月7日（米国東部時間）電子版）

論文タイトル：Degradation of mutant protein aggregates within the endoplasmic reticulum of vasopressin neurons

著者：Takashi Miyata¹, Daisuke Hagiwara^{1,*}, Yuichi Hodai¹, Tsutomu Miwata¹, Yohei Kawaguchi¹, Junki Kurimoto¹, Hajime Ozaki¹, Kazuki Mitsumoto¹, Hiroshi Takagi¹, Hidetaka Suga¹, Tomoko Kobayashi¹, Mariko Sugiyama¹, Takeshi Onoue¹, Yoshihiro Ito¹, Shintaro Iwama¹, Ryoichi Banno^{1,2}, Mami Matsumoto³, Natsuko Kawakami⁴, Nobuhiko Ohno^{5,6}, Hirotaka Sakamoto⁴, and Hiroshi Arima^{1,*}

*Corresponding author

所属：1 Department of Endocrinology and Diabetes, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya, 466-8550, Japan

2 Research Center of Health, Physical Fitness and Sports, Nagoya University, Nagoya, 464-8601, Japan

3 Section of Electron Microscopy, Supportive Center for Brain Research, National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, 444-8787, Japan

4 Ushimado Marine Institute, Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University, Setouchi, 701-4303, Japan

5 Department of Anatomy, Division of Histology and Cell Biology, Jichi Medical University, School

of Medicine, Shimotsuke, 329-0498, Japan

6 Division of Ultrastructural Research, National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, 444-8787, Japan

DOI : [10.1016/j.isci.2020.101648](https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101648)

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/i_Sci_201007en.pdf