

## 神経変性疾患と精神疾患をつなぐ分子機構の解明 —タンパク質の凝集化による精神障害の発現—

遠藤 良, フィ・ケルヴィン, 田中 元雅

### 1. はじめに

タンパク質は細胞内で誤って折りたたまれると容易に凝集体を形成する。アルツハイマー病、パーキンソン病やプリオン病などの神経変性疾患において、病変部位におけるタンパク質の凝集体形成は、病理学的指標であるだけでなく、神経細胞死を引き起こしさまざまな神経変性疾患の原因となると考えられている。また、神経変性疾患の患者のなかには重篤な精神障害を併発し、不安障害やうつ病などの精神疾患と似た症状を示すことが知られている<sup>1)</sup>。一方で、精神疾患は一般的に神経変性を伴わないにもかかわらず、精神疾患患者においても不溶性のタンパク質の増加が認められる例が報告されている<sup>2)</sup>。これらのことから、神経変性疾患と精神疾患には両疾患を結びつける共通の分子機構の存在が考えられてきた。しかしながら、これまで神経変性疾患の原因となるタンパク質の凝集体形成が精神障害に関与するかは明らかとされてこなかった。近年の筆者らの研究によって、タンパク質の凝集体形成、さらにはタンパク質の品質管理の破綻によって精神障害を引き起こす分子メカニズムの一端が明らかとなってきた。そこで本稿では、タンパク質の凝集体形成が神経変性疾患と精神疾患を結びつける分子機構の一端であるという観点から、タンパク質の共凝集に着目した、筆者らの最新の研究成果をもとに、さまざまな神経変性疾患モデルにおける精神障害の発現の分子機構を概説する。

### 2. タンパク質の凝集体形成と共凝集 (クロスシーディング)

タンパク質がミスフォールディングを起こすと、線維状の凝集体であるアミロイドを形成し、正常な同種の単量体を巻き込んでさらなる凝集体を形成する。すなわち、アミロイドは自身を鋳型となる“シード”として、正常な構造を持つ単量体を自身の持つ異常な構造へと変換することで、凝集体形成を促進する自己構造伝播能 (セルフシーディング活性) を持つ。このようなタンパク質が鋳型となって形成されるアミロイドは、ペプチド鎖が線維軸と直交する方向に積み重なってできた立体構造であるクロス・ $\beta$ シート構造から構成されており、熱力学的に非常に安定な状態をとっている。これまでアルツハイマー病における $\beta$ アミロイドやタウタンパク質、パーキンソン病における $\alpha$ シヌクレインおよびハンチントン病におけるハンチンチンなどがアミロイドを形成することがよく知られている<sup>3)</sup>。アミロイドの形成は30種類以上の疾患に関与していると考えられており、神経変性疾患の原因となるタンパク質はアミロイドを形成することがわかっている。アミロイドが自己を鋳型として自己構造を伝播していく一方で、疾患関連のアミロイドは、一次構造が異なるタンパク質間どうしであっても、一方のアミロイドをシードとして、ある程度の特異性をもって相互作用する他の凝集性タンパク質と共凝集 (クロスシーディング) することがある<sup>4)</sup>。巻き込まれた側のタンパク質はその機能を失うこととなり、神経機能に重大な影響を及ぼす可能性が考えられる。しかしながら、異なるタンパク質どうしの共凝集による神経機能障害がいかにして神経変性疾患患者でみられる精神症状に寄与するかは、これまでほとんど明らかとなっていなかった。そこで筆者らは神経変性疾患の原因遺伝子が凝集体を形成する際に何らかの精神疾患に関連したタンパク質と共凝集し、巻き込まれた側の精神疾患関連因子の機能不全が精神障害の発現に寄与する可能性を検討してきた (図1)。

### 3. ハンチントン病とうつ症状

神経変性疾患の一つであるハンチントン病 (HD) は、原因タンパク質であるハンチンチン (Htt) の変異によっ

国立研究開発法人理化学研究所, 脳神経科学研究センター, タンパク質構造疾患研究チーム (〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1)

**Molecular mechanisms underlying mental disorders in neurodegenerative diseases**

Ryo Endo, Kelvin Hui and Motomasa Tanaka (RIKEN, Center for Brain Science, Laboratory for Protein Conformation Diseases, 2-1 Hirotsawa, Wako, Saitama, 351-0198)

本論文の図版はモノクロ (冊子版) およびカラー (電子版) で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910551

© 2019 公益社団法人日本生化学会

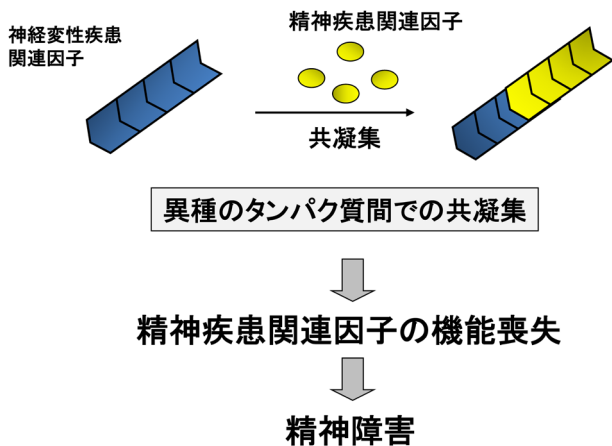


図1 神経変性疾患での精神障害発現におけるクロスシーディング仮説

神経変性疾患の原因遺伝子が凝集体を形成する際に何らかの精神疾患関連因子を巻き込む形で共凝集する。巻き込まれた側の精神疾患関連因子の機能不全によって神経変性疾患患者において精神障害が発現する。

て、第1エクソンのCAGの繰り返し配列（ポリグルタミン鎖）が異常に伸長することで主に線条体にて凝集体を形成し、神経変性を引き起こすと考えられている<sup>5)</sup>。HD患者は運動機能や認知機能に障害がみられる一方で、発症前からうつ病症状を含む精神障害を併発する<sup>6)</sup>。しかしながら、Httの凝集体形成がどのようにして精神障害を発現するのか、その分子メカニズムはこれまで不明であった。そこで筆者らはHDの原因であるHttの凝集体形成が精神障害の発現に寄与しうるか、またその分子機構について解析を行った。

はじめに、正常なHttはこれまでうつや不安障害などの幅広い精神障害に関与する精神疾患関連因子として知られるDISC1<sup>7)</sup>および細胞内の主要なcAMP加水分解酵素であるホスホジエステラーゼ4（PDE4）の三者で複合体を形成することを見いだした。次に、ヒトHD患者脳および変異型Htt（エクソン1）の過剰発現マウス（R6/2）神経細胞の核内でHttとDISC1が共凝集しており、可溶性かつ機能的なDISC1が減少していることを明らかとした。さらにDISC1はアミロイド様の凝集体を形成するが、Htt凝集体を種として加えると凝集性が著しく促進される（クロスシーディング）ことを示した。一方で、R6/2マウスでみられたHttとDISC1が含まれる凝集体には、PDE4は含まれておらず、さらにはPDE4の活性の上昇がみられた。これは可溶性の機能を持つDISC1は、通常状態ではHttおよびPDE4と結合することで、これまでさまざまな精神状態を制御することが示されているPDE4の機能を阻害するが、DISC1がHttと共凝集することで両者の結合がはずれ、PDE4活性の異常な上昇を引き起こしてしまうことを意味している。最後に、マウス行動実験によってR6/2マウス

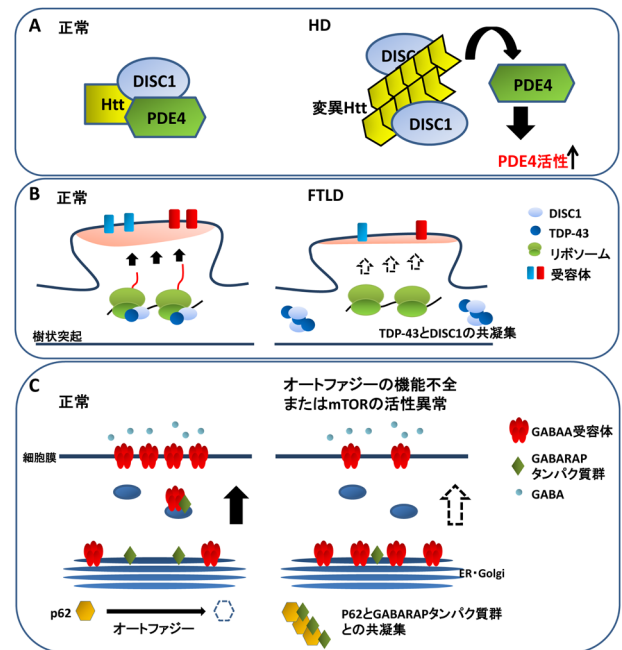


図2 タンパク質の共凝集と精神障害のモデル図

(A) 通常状態ではHtt、DISC1およびPDE4の三者が複合体を形成しており、PDE活性は抑制されている。HD患者脳ではDISC1と変異Httが共凝集することでPDE4がはずれ、PDE4活性が上昇する。(B) DISC1はリボソームと相互作用して神経細胞樹状突起内での局所的な翻訳に関与する一方、FTLD患者脳ではTDP-43と共凝集することでその機能が失われる。(C) 正常な状態ではp62はオートファジーによって分解されるが、オートファジーの機能が低下するとp62が凝集し、GABARAPタンパク質群を巻き込む。その結果GABA<sub>A</sub>受容体の細胞表面への輸送が阻害される。文献7, 10, 13より改変。

はうつ病の症状の一つである無快楽症（アンヘドニア）を示したが、変異Httと結合しない変異DISC1をR6/2マウスに発現することでこの症状は回復した。これらの結果から、Httとの共凝集によって、可溶性な機能を持つDISC1が減少し、PDE4活性がそのため異常に上昇することがHD病患者でみられるアンヘドニアの原因となることを明らかとした（図2A）<sup>7)</sup>。

#### 4. FTLDにおける社会性の欠如

前頭側頭葉変性症（FTLD）は、患者の脳の前頭葉や側頭葉を中心に神経変性を来す、3番目に多い認知症を伴う神経変性疾患である。一方で、FTLD患者は高頻度に逸脱した社会行動などの行動異常を示し<sup>8)</sup>、初期のFTLD患者はしばしば統合失調症などの精神疾患と間違われることもある。2006年にFTLD患者脳の変性部位に残存した神経細胞に存在するユビキチン陽性封入体（タンパク質凝集体）の主要構成タンパク質がTDP-43であることが報告され<sup>9)</sup>、TDP-43の凝集体形成はFTLDの主要な原因遺伝子の

一つと考えられている。これまでにTDP-43の凝集体形成が神経変性に寄与することは示されてきたが、TDP-43の凝集体形成がどのようにして精神障害を発現しうるのか、その分子メカニズムはこれまで不明であった。

筆者らは、FTLDにおいてもTDP-43の凝集体形成が神経変性疾患と精神障害とを結びつける主な原因となりうることを考え、TDP-43とDISC1の共凝集がFTLD患者でみられる精神障害の原因となる可能性を考えた。そこで筆者らはまずマウスおよびヒト由来の脳において、内在性のTDP-43とDISC1が相互作用することを明らかにした。次に、FTLD患者脳内でみられるTDP-43のC末端断片であるTDP-220C (220~414アミノ酸)を神経細胞に発現させ、TDP-220C凝集体を細胞質および神経突起内に形成させると、TDP-220C凝集体に内在性のDISC1が取り込まれることを、さらにはFTLD患者脳においてもTDP-43とDISC1が共凝集していることを見いだした。このことより、両者の共凝集によって、細胞質および神経突起内におけるDISC1の機能不全を引き起こす可能性が示唆された。しかしながら細胞質におけるTDP-43とDISC1の共凝集がどのようにして精神障害につながるかは不明であったため、DISC1の新規機能の探索も含めて解析を行った。その結果、DISC1は翻訳途中のリボソームと相互作用すること、さらにはさまざまな翻訳開始因子とも相互作用し、翻訳の開始を制御する因子であることを明らかとした。さらには、神経細胞では神経刺激に応答して樹状突起内での局所的な翻訳が亢進するが、DISC1を欠損させた神経細胞では、神経刺激による翻訳の亢進が著しく抑制された。この結果から、DISC1は神経活動依存的な樹状突起内での局所的な翻訳を制御することが明らかとなった。次に、TDP-220CとDISC1の共凝集によって、このDISC1を介した局所翻訳の破綻が実際に起こることを細胞レベルで明らかにした。最後に、マウス前頭葉にTDP-220Cを発現させ、TDP-220Cの凝集体を形成させたマウスを用いた行動実験より、TDP-220CとDISC1の共凝集が実際に社会性の欠如などの行動異常につながることを明らかとした。以上から、FTLDの原因タンパク質であるTDP-43が細胞質および神経突起内でDISC1と共凝集することで、DISC1を介した局所翻訳機能が低下することが、FTLD患者でみられる精神障害に寄与する可能性を示した (図2B)<sup>10)</sup>。

## 5. タンパク質恒常性の低下による自閉症様行動

これまで神経変性疾患の原因タンパク質と精神疾患関連因子との共凝集に起因する精神障害の発現メカニズムについて述べてきた。次に、より一般的なタンパク質の恒常性の低下および凝集化がいかんして幅広い精神疾患や発達障害に寄与するかについて、最新の研究成果を紹介する。

細胞内において、不要なタンパク質や損傷を受けた細胞小器官などは、オートファジーによって分解される。神経細胞におけるオートファジーの機能破綻は、ユビキチン化タンパク質などの凝集体形成を引き起こし、神経変性疾患の原因となると考えられている。たとえば、アルツハイマー病や筋萎縮性側索硬化症、家族性パーキンソン病などの神経変性疾患において、オートファジー経路のさまざまな段階で異常が起こっており、神経変性に多様に寄与していると考えられている<sup>11)</sup>。一方で、オートファジーの活性を制御する重要な因子の一つとしてmTORがよく知られているが、自閉症様の表現型を示す結節性硬化症では、このmTORシグナルを負に制御するTSC1/2遺伝子の変異がみられる。このことは、mTOR活性の異常がさまざまな発達障害や精神疾患に関与している可能性を示唆している<sup>12)</sup>。しかしながら、mTOR活性の制御不全によるオートファジー機能の低下がいかんして自閉症様の表現型に寄与するかは不明であった。そこで筆者らは、神経細胞内のオートファジー機能を欠損させ、細胞内のタンパク質恒常性を全体的に低下させることで、タンパク質恒常性の低下やそれによるタンパク質の凝集化が神経機能や個体の表現型にどのような影響を与えるかを解析した。

まずオートファジーの形成に必要なユビキチン活性化酵素Atg7を興奮性、または抑制性の神経細胞でそれぞれ特異的にノックアウトしたマウスを作製したところ、神経細胞内にオートファジーの基質であるp62タンパク質の蓄積・凝集体形成がみられた。興味深いこととして、両ノックアウトマウスともに社会性の欠如、不安の亢進および巣作り行動の異常が認められた。このことから、オートファジーの欠損が幅広い精神障害の発現に関与することが示された。次にこれら行動異常の分子機序を解明するために、オートファジー機能欠損によって凝集化が促進したタンパク質を新たに開発したアグリオーム解析法によって網羅的かつ定量的に調べた結果、抑制性のGABA<sub>A</sub>受容体の細胞表面への輸送に関わるGABARAPL2の顕著な凝集化がみられた。さらには、3種類存在するGABARAPタンパク質群 (GABARAP, GABARAPL1, GABARAPL2) のすべてが、p62の凝集体と共凝集しており、p62との共凝集によるGABARAPタンパク質群の機能不全が考えられた。実際にAtg7を欠損させた神経細胞では細胞表面でのGABA<sub>A</sub>受容体の発現量が低下しており、さらにはGABAシグナリングの異常から神経過活動になることが明らかとなった。これらの結果から、オートファジーの機能不全によるp62とGABARAPタンパク質群との共凝集化が、発達障害および精神疾患の原因の一つとされる神経細胞における興奮性と抑制性のバランスの低下を引き起こすことが示された (図2C)<sup>13)</sup>。

最後に、神経細胞内でmTOR経路を負に制御するTSC2

をノックダウンさせたところ、p62とGABARAPタンパク質群の共凝集が起こり、神経細胞表面のGABA<sub>A</sub>受容体量の減少もみられた。

また、ヒト自閉症患者の死後脳においても不溶性のGABARAPタンパク質群およびp62の量が増大しており、TSC2の発現量と負の相関がみられた。Atg7やGABARAPタンパク質群の遺伝子欠損が自閉症や知的障害に関わるという過去の報告<sup>14)</sup>も考えあわせると、これらの結果はGABARAPタンパク質群の凝集化による機能不全が自閉症様の行動の原因となりえることを示している。

## 6. おわりに

社会の高齢化が進むことで、さまざまな神経変性疾患の患者数は今後増加することが予想され、それは社会的な問題とされている。神経変性疾患患者の多くは精神障害を伴うことから、神経変性のみならず、神経変性疾患患者で併発する精神障害の緩和・治療は、患者本人のみならず、介護する家族にとっても大いなる福音となる。本研究ではタンパク質の共凝集に着目して精神障害の発現機構の一端を明らかにし、タンパク質凝集体を標的とした新たなバイオマーカーや、共凝集しない変異体のタンパク質を用いることで、共凝集によって機能を失ったタンパク質を補充するなどの治療法の確立につながる事が期待される。一方で、アルツハイマー病など他の神経変性疾患における精神障害の発現にもタンパク質の共凝集が関与しているかを含めて、精神障害の発症機序にはまだ未解明な部分も多く、その分子機構を解明することは今後も重要な研究課題であると考えられる。

## 文 献

- Huang, Y. & Mucke, L. (2012) Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies. *Cell*, **6**, 1204–1222.
- Bradshaw, N.J. & Korth, C. (2018) Protein misassembly and aggregation as potential convergence points for non-genetic causes of chronic mental illness. *Mol. Psychiatry*, doi: 10.1038/s41380-018-0133-2
- Tanaka, M. & Komi, Y. (2015) Layers of structure and function in protein aggregation. *Nat. Chem. Biol.*, **11**, 373–377.
- Brettschneider, J., Tredici, K.D., Lee, V.M.Y., & Trojanowski, J.Q. (2015) Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies. *Nat. Rev. Neurosci.*, **16**, 109–120.
- Labbadia, J. & Morimoto, R.I. (2013) Huntington's disease: Underlying molecular mechanisms and emerging concepts. *Trends Biochem. Sci.*, **38**, 378–385.
- Craufurd, D. & Snowden, J. (2002) *Huntington's Disease* 3rd ed., pp.62–94, Oxford University Press, Oxford, UK.
- Tanaka, M., Ishizuka, K., Nekooki-Machida, Y., Endo, R., Takashima, N., Sasaki, H., Komi, Y., Gathercole, A., Huston, E., Ishii, K., et al. (2017) Aggregation of scaffolding protein DISC1 dysregulates phosphodiesterase 4 in Huntington's disease. *J. Clin. Invest.*, **127**, 1438–1450.
- Irish, M., Piguet, O., & Hodges, J.R. (2012) Self-projection and the default network in frontotemporal dementia. *Nat. Rev. Neurol.*, **8**, 152–161.
- Neumann, M., Sampathu, D.M., Kwong, L.K., Truax, A.C., Micsenyi, M.C., Chou, T.T., Bruce, J., Schuck, T., Grossman, M., Clark, C.M., et al. (2006) Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science*, **314**, 130–133.
- Endo, R., Takashima, N., Nekooki-Machida, Y., Komi, Y., Hui, K.K., Takao, M., Akatsu, H., Murayama, S., Sawa, A., & Tanaka, M. (2018) TAR DNA-binding Protein 43 and disrupted in Schizophrenia 1 coaggregation disrupts dendritic local translation and mental function in frontotemporal lobar degeneration. *Biol. Psychiatry*, **84**, 509–521.
- Menzies, F.M., Fleming, A., Caricasole, A., Bento, C.F., Andrews, S.P., Ashkenazi, A., Füllgrabe, J., Jackson, A., Jimenez Sanchez, M., Karabiyik, C., et al. (2017) Autophagy and neurodegeneration: Pathogenic mechanisms and therapeutic opportunities. *Neuron*, **93**, 1015–1034.
- Costa-Mattioli, M. & Monteggia, L.M. (2013) mTOR complexes in neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders. *Nat. Neurosci.*, **16**, 1537–1543.
- Hui, K.K., Takashima, N., Watanabe, A., Chater, T.E., Matsukawa, H., Nekooki-Machida, Y., Nilsson, P., Endo, R., Goda, Y., Saido, T.C., et al. (2019) GABARAPs dysfunction by autophagy deficiency in adolescent brain impairs GABA<sub>A</sub> receptor trafficking and social behavior. *Sci. Adv.*, **5**, u8237.
- Poultney, C.S., Goldberg, A.P., Drapeau, E., Kou, Y., Harony-Nicolas, H., Kajiwara, Y., De Rubeis, S., Durand, S., Stevens, C., Rehnstrom, K., et al. (2013) Identification of small exonic CNV from whole-exome sequence data and application to autism spectrum disorder. *Am. J. Hum. Genet.*, **93**, 607–619.

## 著者寸描

### ●田中 元雅 (たなか もとまさ)

国立研究開発法人理化学研究所脳神経科学研究センターチームリーダー。工学博士。

■略歴 1994年京都大学工学部卒業。99年同大学院修了・工学博士。カリフォルニア大学サンフランシスコ校博士研究員、さきがけ研究員、理化学研究所脳科学総合研究センターチームリーダーなどを経て、2018年より現職。

■研究テーマと抱負 精神・神経変性疾患の病態解明。構造生物学と神経科学を融合させた構造神経科学のアプローチから疾患発症機序を解明し、治療に繋げることを目指しています。意欲的な博士研究員を募集中です。

■ウェブサイト <http://motomasalab.riken.jp/>

■趣味 スポーツ観戦。