

リソソーム機能低下と老化の新たな分子機構の解明

奈良県立医科大学 生化学講座
中村 修平

研究目的

細胞内外成分の分解の場であり、シグナル伝達の司令塔の役割を果たすリソソームは加齢に伴い機能低下し、これが寿命の短縮や神経変性疾患をはじめとする加齢性疾患の発症・進展につながる。一方、リソソーム機能の活性化により寿命が延長し、疾患を改善することも示されており、リソソームは寿命・老化制御において中心的な役割を果たす。しかしながら、「リソソーム機能がなぜ加齢に伴い低下するのか?」という基本的で重要な問いに対する明確な答えはなく、記述的な研究に留まらない、これまでとは異なる視点で現象を捉え本質を明らかにする試みが必要である。

リソソームは細胞内外の様々なストレスにより膜が損傷を受けるが、細胞はこれに対処するため、ESCRT複合体による膜の修復、選択的オートファジーの一つリソファジーによる損傷リソソーム分解、転写因子TFEBによるリソソーム新生という大きく3つの経路からなるレジリエンス機構（まとめて「リソソーム損傷応答」と呼ぶ）を備えていることが申請者を含めた最近の研究から明らかになりつつある(図1)。しかしながら、損傷リソソーム応答の各経路がどのように誘導され、互いに連携し働くか、その詳細は不明であり、全容の理解にはほど遠い状況にある。各損傷応答経路を特異的に制御する因子の情報が圧倒的に乏しく、経路を正確に区別し評価・測定する系が確立されていないことが研究の大きな障壁になっている。申請者は今回、個体や細胞レベルで共通して老化に伴い損傷したリソソームが蓄積すること、さらに、損傷リソソーム応答の修復、分解、新生の各経路で特異的に働く因子を同定し、これらの欠損が個体の寿命短縮につながることを新たに見出した。リソソーム損傷は神経変性疾患や動脈硬化などの加齢性疾患で増加することも分かっている。これらの事実は、リソソーム損傷応答が加齢によって破綻しており、これがリソソーム機能低下と老化の主要因であるという新たな可能性を示唆するものである。

そこで本研究では申請者が独自に得ている手がかりをもとに、新たな視点からリソソーム機能低下と本応答経路の老化における役割の解明に挑む。

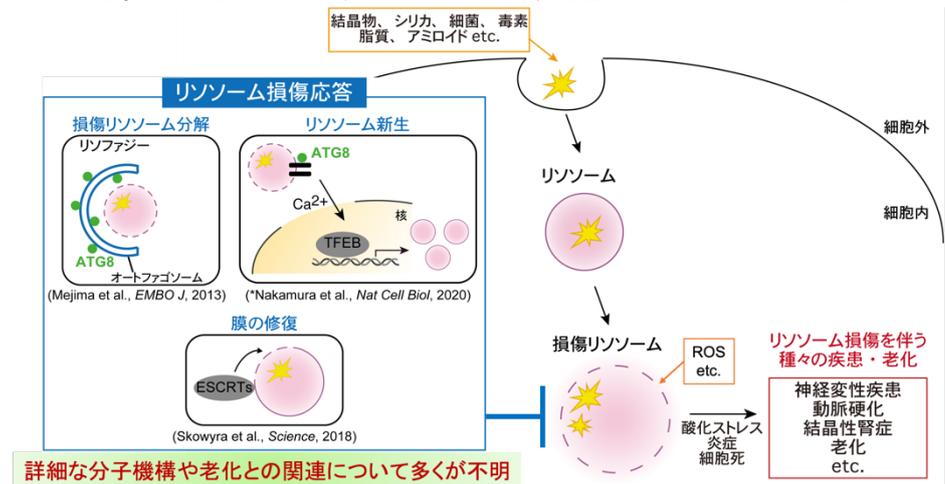


図1. リソソーム損傷応答によるリソソーム恒常性維持

研究成果

リソソーム損傷応答の各経路の分子機構と老化との関連解析を進めた結果、本助成により大きく以下2つの成果を得たので報告する。

1. ミクロオートファジーによる損傷リソソーム膜修復機構と老化との関連説明

リソソーム膜に軽微な損傷が入った場合、ESCRT複合体によって損傷膜の修復が行われることが知られていたものの、その分子機構や生理的意義は不明であった。我々はリソソーム損傷応答に関わる因子の網羅的探索からAGCキナーゼのひとつSTK38を本応答の新規制御因子として同定した。STK38は通常細胞全体に分布しているが、リソソーム損傷に伴って損傷リソソームにリクルートされることが分かった。STK38の機能抑制はリソファジーによる損傷リソソーム分解やTFEBによるリソソーム新生経路に影響ないものの、ESCRT複合体のうちVPS4と呼ばれるESCRT経路の最終ステップで働く因子の損傷膜へのリクルート低下につながるということが分かった。オートファジーにはオートファゴソームと呼ばれる小胞によって対象物を包み込み、リソソームにこれを運んで分解するマクロオートファジー経路とリソソーム膜が陥入して対象物を取り込むミクロオートファジー経路が存在する。STK38およびESCRT複合体はオートファジーの中でもミクロオートファジーと呼ばれる方法で損傷したリソソーム膜の部分分解を行い、膜修復に寄与することが分かった。リン酸化プロテオミクス解析からSTK38はDOK1と呼ばれるアダプタータンパク質のリン酸化を介してVPS4を損傷膜へリクルートすることが分かった。また、オートファジー制御因子のうちATG8ファミリーに属するGABARAPsサブファミリーがESCRTs複合体のうち初期に働く因子の損傷膜へのリクルートに必須の働きをもつことも明らかにした。さらにSTK38やGABARAPsの機能抑制はリソソーム損傷に伴って哺乳類の細胞老化や線虫個体老化の亢進につながるということが分かった。以上、これまであまりよく分かっていなかったミクロオートファジーの分子機構の一端を解明し、これが損傷したリソソーム膜の修復を介して老化の抑制に寄与するという新たな知見を得ることができた

(Ogura et al., *EMBO Rep*, 2023) (図2)。

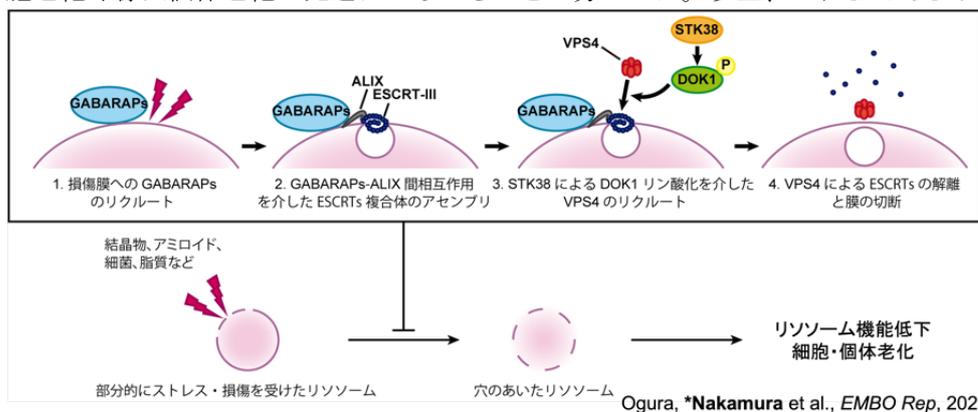
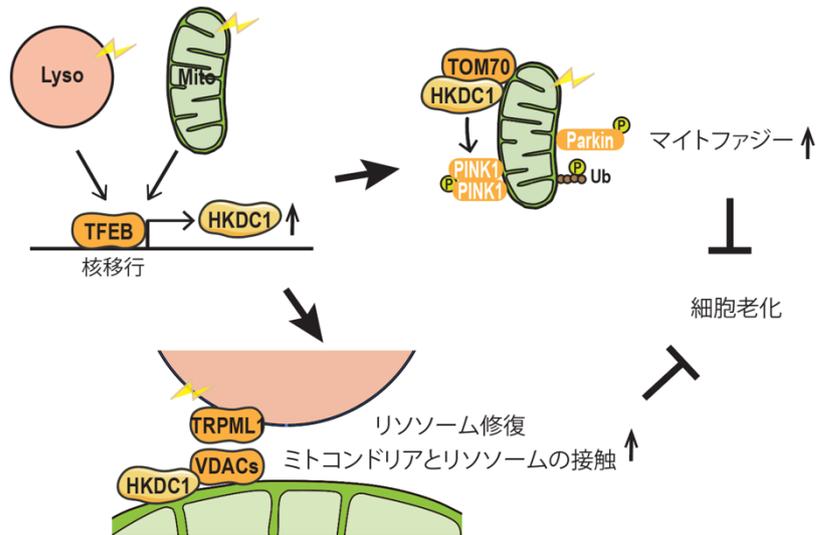


図2 'ミクロ' オートファジーによる損傷膜修復がリソソーム恒常性維持と個体・細胞老化の抑制に必須である

2. TFEB新規下流因子によるミトコンドリアおよびリソソームの恒常性維持機構と細胞老化における役割の解明

転写因子TFEBはリソソーム損傷時に加え、ミトコンドリアがストレスを受けた際も核移行、活性化することが分かっており、リソソーム、ミトコンドリア両者の恒常性維持に必須の働きをもつ。このことから、ミトコンドリア、リソソームの恒常性維持を担うTFEBの共通の下流因子が存在するのではないかと考え、この同定を試みた。TFEB KO細胞や過剰発現細胞を用いて、リソソーム損傷やミトコンドリアストレス存在下、非存在下における遺伝子発現変化をRNAseqによって解析し、それぞれのストレスで共通して誘導されるTFEB下流のターゲットを探索した。このうちHKDC1をミトコンドリアストレス、リソソーム損傷によって誘導されるTFEBの直接のターゲットとして新たに同定した。HKDC1はヘキソキナーゼファミリーに属し、グルコースからグルコース-6-リン酸への変換を担うとされている。興味深いことに、HKDC1はそのキナーゼ活性とは独立して、ミトコンドリアおよびリソソームの恒常性維持に必須の働きを持つことが分かった。ミトコンドリアがストレスを受けた際はミトコンドリア特異的なオートファジーであるマイトファジーの誘導をHKDC1が担うことを見出した。具体的にはHKDC1はマイトファジー経路のうちPINK1-Parkin依存的マイトファジーの制御を担っており、特にその最上流PINK1のミトコンドリア膜における安定化に関わることが分かった。さらにHKDC1はリソソーム損傷時にミトコンドリアーリソソーム間のコンタクトサイト形成を増加させることや、ESCRTのリクルートを介した損傷リソソーム膜の修復に必須の働きを持つことを突き止めた。HKDC1によるこれらミトコンドリア、リソソーム恒常性維持が破綻すると細胞老化の亢進や線虫の個体老化が促進することが分かった。これらの解析からTFEBの新規下流因子であるHKDC1がミトコンドリア、リソソームという重要な2つのオルガネラのクオリティコントロールを担う必須の働きをもつことを分子機構の一端の解明とともに示すことができた(図3)(Cui et al., *PNAS*, 2024)。老化や種々の疾患においてミトコンドリアおよびリソソーム両方の機能低下が同時に起こることが分かっており、本研究で同定したHKDC1がこの鍵を担っている可能性があり、さらに解析を続けていく予定である。



Cui, *Nakamura et al., *PNAS*, 2024

図3 TFEBの新規ターゲットHKDC1はリソソームおよびミトコンドリアの恒常性維持を通して細胞老化の抑制に寄与する