

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K14793

研究課題名（和文）AUTAC技術によるタンパク質凝集体の分解

研究課題名（英文）Degradation of protein aggregates using AUTACs

研究代表者

高橋 大輝（Takahashi, Daiki）

東北大学・生命科学研究科・助教

研究者番号：80876623

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000 円

研究成果の概要（和文）：細胞内での異常タンパク質の蓄積はパーキンソン病をはじめとする神経変性疾患と関わりがある。本研究では、オートファジーと呼ばれる細胞内分解機構を利用した凝集体排除を目指した。オートファジー分解の誘起には、研究代表者が開発した薬剤「AUTAC」を利用した。AUTACは、分解標的分子にオートファジー分解の目印となる化学構造を届ける薬剤である。本研究では、パーキンソン病の原因となる シヌクレインの凝集体を標的として研究を進めた。人工的に凝集体を作らせた細胞にAUTACを処理すると、凝集 シヌクレインの量が減少した。この結果は、神経変性疾患の治療法として凝集体の直接分解法が利用できることを示すものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既存の医薬品のほとんどは酵素や受容体の阻害剤である。これらの薬剤はタンパク質の活性ポケットにもとづいて薬効を発揮する。しかし、この方法で対応できるのは、ヒトプロテオームの2割しかなく、活性ポケットをもたない残り8割の標的を狙うには別の方法論が必要である。AUTACは標的分子のオートファジー分解を誘起する薬剤である。この薬剤を使えば、活性ポケットの有無にかかわらず、疾患原因を排除できるため、先述した8割の標的にも対応できる。本研究では神経変性疾患の治療薬を念頭に、シヌクレインの分解剤を開発した。この成果は、疾患原因を直接排除する薬剤の可能性を示すものである。

研究成果の概要（英文）：Aggregation of abnormal proteins in cells is associated with neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease. In this study, we aimed to utilize an intracellular degradation system called autophagy to eliminate aggregates. To induce autophagic degradation, we used a drug called "AUTAC". AUTAC delivers a chemical structure that serves as a marker for autophagic degradation to the target molecules for degradation. In this study, we targeted aggregates of α -synuclein, which is implicated in the cause of Parkinson's disease. Treatment of cells artificially induced to form aggregates with AUTAC resulted in a decrease in the amount of aggregated α -synuclein. This result indicates that direct degradation of aggregates may be utilized as a therapeutic approach for neurodegenerative diseases.

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：AUTAC オートファジー 凝集体 神経変性疾患

1. 研究開始当初の背景

神経変性疾患は、運動や認知に関与する神経細胞が機能不全を起こす疾患であり、パーキンソン病やアルツハイマー病などが代表的な例である。パーキンソン病だけでも国内に 20 万人近い患者がおり、特に高齢者の罹患率が高い。そのため、我が国のような高度高齢社会にあっては、これらの疾患への対策が課題である。

神経変性疾患の原因を特定するのは難しいが、患者特有の遺伝子変異の同定により、少なくとも、細胞内の“タンパク質品質管理異常”が関わることが分かった。例えば、パーキンソン病患者の脳には、異常タンパク質が蓄積したレビー小体と呼ばれる凝集体がみられる (Nat. Rev. Neurol. 16, 199, 2020)。

オートファジーは主要なタンパク質品質管理機構であるため、オートファジーの誘導薬を使って細胞内の浄化を促進し、凝集体形成を抑制する試みが行われた。その結果、神経変性モデルにおいて症状緩和に効果的であった (J. Mol. Biol. 432, 2799, 2020)。

このように、オートファジーによる浄化作用は“予防的な”効果を発揮する。一方で“治療”には、既に細胞内にあるタンパク質凝集体を除去することが必要である。

2. 研究の目的

現在のところ、神経変性モデルにおいてタンパク質凝集体の除去に実験的証拠をつけて達成した例はない。そこで、本研究課題ではタンパク質凝集体の除去を目指した。成功すれば、神経変性疾患の分野において多くが望む「根本的治療法の確立」に貢献できる。シヌクレイン凝集体に由来する疾患は既存の医薬では対応できず、新たな創薬手法が求められている。これまでの研究で、オートファジー経路による凝集体除去 (アグリファジー) が報告されており、それを化合物で制御する新たな手法となる。

3. 研究の方法

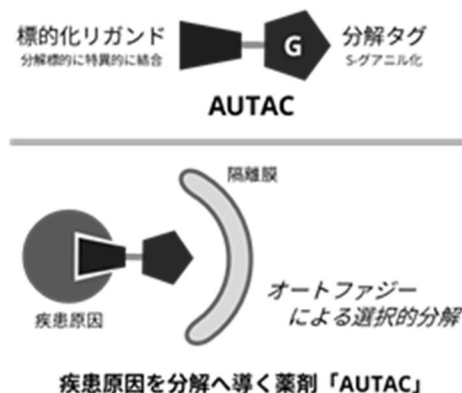
ツールとして、AUTAC (2019 年, Molecular Cell 76, 797) と呼ばれる薬剤を使う。AUTAC は、オートファジー分解の目印となる化学構造「S-グアニル化」を標的タンパク質に届ける化合物である (右図)。AUTAC により S-グアニル化ラベルされたタンパク質はオートファジーにより分解される。標的タンパク質に結合する「標的化リガンド」部分を付け替えることによって理論上すべてのタンパク質を標的とできる。申請者は以前、ミトコンドリアを標的に設計された AUTAC4 が、傷害ミトコンドリアの分解を介して細胞保護に寄与することを示した。オルガネラ分解に並び、オートファジーが得意とする標的として、タンパク質凝集体を狙うことが、AUTAC 技術の次の展開として最も有意義だと考えた。

具体的には、3 つの小目標について順に取り組んだ。

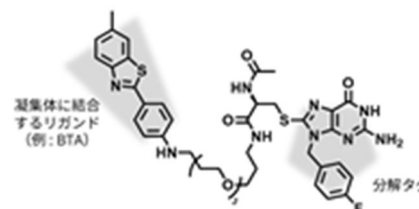
1) 細胞に安定的に シヌクレイン凝集体を作らせる実験系の構築

2) シヌクレイン凝集体に結合する「リガンド分子」とオートファジー「分解タグ」を化学合成で連結し凝集体分解用 AUTAC を創出 (右図はその一例)

3) 2) で合成した AUTAC 分子を 1) で作出した細胞に処理し、凝集体の個数や量について解析。その後、オートファジー関連因子の挙動にも注目した機能的な検証。



疾患原因を分解へ導く薬剤「AUTAC」



4. 研究成果

合成した AUTAC を凝集体形成細胞に処理し、固定化した細胞を、シヌクレイン抗体を使って免疫染色した結果、1 細胞当たりの凝集体の個数が減少した。また、凝集体状態にあるシヌクレインをウェスタンブロットで検出した結果、AUTAC 処理によりシヌクレイン凝集体のレベル (量) が優位に減少していた。この結果は、AUTAC がシヌクレイン凝集体生成を抑制したことを示す。しかし、この結果だけでは、AUTAC が凝集体の生成そのものを抑制したのか、凝集体の除去を誘起したのかを判断できない。この課題を解決するためにイメージング解析を通してさらなる検討を行い、AUTAC 処理時、凝集体にオートファジー機構が集積することを確認する。また、AUTAC がオートファジーを誘起するメカニズムも分かってきた。これに関連する因子

が凝集体の周囲に集積するかどうかも併せて検証したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Daiki Takahashi, Hirokazu Arimoto	4. 巻 62
2. 論文標題 p62 Phase-Separation as the Foundation of Autophagy-Based Degradation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 559-560
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.biochem.2c00252	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Azusa Yugeta, Hiroki Arai, Daiki Takahashi, Nami Haruta, Asako Sugimoto, Hirokazu Arimoto	4. 巻 1
2. 論文標題 C. elegans ATG-5 mutants associated with ataxia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 microPublication biology	6. 最初と最後の頁 1-2
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.17912/micropub.biology.000792	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Daiki, Ora Taiichi, Sasaki Shigekazu, Ishii Naoki, Tanaka Toshio, Matsuda Takumi, Ikeda Mutsuki, Moriyama Jun, Cho Nobuo, Nara Hiroshi, Maezaki Hironobu, Kamaura Masahiro, Shimokawa Kenichiro, Arimoto Hirokazu	4. 巻 66
2. 論文標題 Second-Generation AUTACs for Targeted Autophagic Degradation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 12342-12372
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jmedchem.3c00861	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高橋大輝、芳賀春菜、山本真瑠、横坂春、有本博一	
2. 発表標題 基質特異的なオートファジー分解を誘起する手法	
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第17回年会	
4. 発表年 2023年	

1．発表者名 高橋大輝、弓削多梓、原田佳苗、服部宇楽、有本博一
2．発表標題 リソソーム酸性化に対するATG5 Ub1Aドメインの関与
3．学会等名 第15回 オートファジー研究会
4．発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 オートファジーを誘導する化合物のスクリーニング方法	発明者 有本博一，高橋大輝	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2023/012419	出願年 2023年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6．研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------