

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 1 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23790973

研究課題名：若年性パーキンソン病原因遺伝子産物がミトコンドリアを維持する分子メカニズムの解析

研究課題名：Analysis of the molecular mechanism by which the genes for early-onset parkinson's disease regulate mitochondrial maintenance

研究代表者

今居 譲 (IMAI YUZURU)

順天堂大学大学院・医学研究科・先任准教授

研究者番号：30321730

研究成果の概要（和文）：若年性パーキンソン病原因遺伝子産物であるプロテインキナーゼPINK1とユビキチンリガーゼParkinは、協働してミトコンドリアの機能維持に関与することが示唆されている。損傷を受け膜電位が低下したミトコンドリア外膜上にPINK1が蓄積・活性化することにより細胞質に局在するParkinがミトコンドリアへ移行し、オートファジー反応で損傷ミトコンドリアを除去する。しかし、その分子メカニズムは不明であった。PINK1結合タンパク質の同定、細胞生物学的解析、ショウジョウバエ遺伝学を組み合わせ、その分子メカニズムの解明に取り組んだ。

研究成果の概要（英文）：Mitochondrial dysregulation is now implicated in various human diseases including cancer, diabetes, myopathy and neurodegeneration. The pathological hallmark of the second most common neurodegenerative disorder PD is the progressive degeneration of dopaminergic neurons in the midbrain. A series of elegant studies have demonstrated that two Parkinson's disease (PD)-associated genes *PINK1* and *parkin* are involved in the maintenance of healthy mitochondria. Parkin in co-operation with PINK1 specifically recognises damaged mitochondria with reduced mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi_m$), rapidly isolates them from the mitochondrial network and eliminates them through the ubiquitin-proteasome and autophagy pathways. Our studies combined with *Drosophila* genetics and cell biology contributed to understanding the molecular mechanisms of PINK1 and Parkin-mediated mitochondrial regulation and the pathological mechanisms how defects in the PINK1-Parkin pathway leads to neurodegeneration in PD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：分子遺伝学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：パーキンソン病、PINK1、Parkin、神経変性疾患、ドーパミン神経、ショウジョウバエ、ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

PINK1 と Parkin の生理的機能は、ノック

アウトマウスが顕著な表現型を呈さないことから長らく不明であったが、ショウジョ

ウバエ遺伝学が本研究のブレイクスルーとなる発見を導いた。ショウジョウバエは *PINK1*、*parkin* のオルソログをもつ。ショウジョウバエの *PINK1* と *Parkin* を欠失させると、互いに類似した表現型で筋肉や精子のミトコンドリアの変性が観察される。さらに、*PINK1* 欠失表現型を *Parkin* の過剰発現で軽減できることから、*Parkin* と *PINK1* は遺伝学的に相互作用しており、共通経路においてミトコンドリアの機能維持に関与していることが示された。一方、哺乳類細胞において細胞質に *Parkin* が局在するにも関わらず、*Parkin* と *PINK1* がミトコンドリアで会合することが報告された。さらに、*Parkin* と *PINK1* が、図1のようなステップを経て損傷ミトコンドリアをオートファジー経路にて消化することが明らかにされている。その後の *PINK1*、*parkin* ノックアウトマウスの詳細な解析により、これらマウスの脳組織においてもミトコンドリアの形態異常や電子伝達系の機能低下などが認められることが報告され、*PINK1*-*Parkin* がミトコンドリアの機能維持に関与することが支持されている。

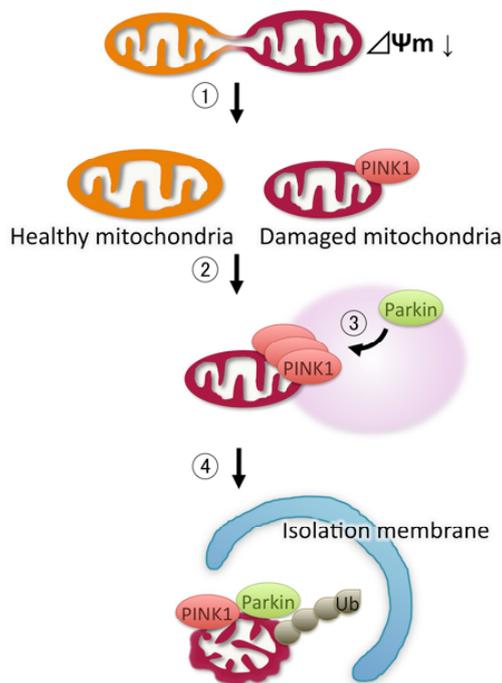


図1. *PINK1*-*Parkin*によるマイトファジー
①膜電位 ($\Delta\Psi_m$) が低下したミトコンドリア外膜に②*PINK1* が蓄積し、③*PINK1* のキナーゼ活性依存的に *Parkin* が細胞質からミトコンドリアに移行する。移行した *Parkin* のユビキチンリガーゼ活性が活性化され、ミトコンドリア外膜タンパク質群がユビキ

チン化される。④ユビキチン化修飾されたミトコンドリアはオートファジー反応で分解される。Ub: ユビキチン。

2. 研究の目的

PINK1-*Parkin* が制御するミトコンドリア維持機構を分子レベルで解明することを目的とする。

3. 研究の方法

PINK1 結合分子の生化学的な同定と、*PINK1*、*Parkin* ショウジョウバエモデルとを組み合わせ、*PINK1*-*Parkin* シグナルに関与する分子を同定、解析した。

4. 研究成果

本研究では、モデルショウジョウバエを用いたスクリーニングにより同定した *PINK1* 結合分子 *PGAM5* の機能喪失が *PINK1* の機能喪失による表現型を緩解する分子メカニズムの解析と、*PINK1* が *Parkin* をミトコンドリアへ移行させる分子メカニズムの解明を行った。*PGAM5* の機能喪失は解糖系の活性を上昇させることが示唆され、ミトコンドリア不全でエネルギー供給が悪化した *PINK1* ノックアウトショウジョウバエのエネルギー供給を代償することが示唆された。一方、活性化 *PINK1* 依存的に *Parkin* のユビキチン様ガリン酸化されることを見出した。このリン酸化は *Parkin* のミトコンドリア移行を促進し、さらにミトコンドリア外膜上の *Parkin* の基質の効果的な分解に関与していることを明らかにした。*Parkin* の *PINK1* 依存的なリン酸化の発見は、*Scientific Reports* 誌に発表した。

ショウジョウバエのさらなるスクリーニングより、*PINK1* の下流に *TOR complex 2* (*TORC2*) シグナルが関与することを明らかにした。さらに *TORC2* の下流の分子としてプロテインキナーゼ *NDR1* が関与することを示した。*TORC2* シグナルの亢進は、*PINK1* ノックアウトショウジョウバエの筋肉ミトコンドリアの変性を抑制し、*Parkin* ノックアウトショウジョウバエのミトコンドリア変性を抑制しなかった。以上から、*TORC2* シグナルは *Parkin* の上流か、並列の関係にあると考えられた。この成果は *Genes&Development* 誌に発表した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

1. Wu Z, Sawada T, Shiba K, Liu S, Kanao T, Takahashi R, Hattori N, Imai Y, Lu B: Tricornered/*NDR* kinase signaling mediates *PINK1*-directed mitochondrial

- quality control and tissue maintenance. *Genes Dev.* 27:157-162 (2013) 査読有
2. Shiba-Fukushima K, Imai Y, Yoshida S, Ishihama Y, Kanao T, Sato S, Hattori N: PINK1-mediated phosphorylation of the Parkin ubiquitin-like domain primes mitochondrial translocation of Parkin and regulates mitophagy. *Sci Rep.* 2: Article number: 1002 (2012) 査読有
 3. Liu S, Sawada T, Lee S, Yu W, Silverio G, Alapatt P, Millan I, Shen A, Saxton WM, Kanao T, Takahashi R, Hattori N, Imai Y, Lu B: Parkinson's disease-associated kinase PINK1 regulates Miro protein level and axonal transport of mitochondria. *PLoS Genet.* 8: e1002537 (2012) 査読有
 4. Imai Y: Mitochondrial regulation by the PINK1-Parkin signaling. *ISRN Cell Biol.* 2012: Article ID 926160 (2012) 査読有
 5. Imai Y, Venderova K, Lim K-L: Editorial; Animal models of Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.* 2012: Article ID 729428 (2012) 査読なし
 6. Imai Y, Lu B: Mitochondrial Dynamics and Mitophagy in Parkinson's disease: Disordered cellular power plant becomes a big deal in a major movement disorder. *Curr Opin Neurobiol.* 21: 935-941 (2011) 査読有
 7. Imai Y, Venderova K, Park DS, Cai H, Schmidt E: Editorial; Animal models of Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.* 2011: Article ID 364328 (2011) 査読なし
- [学会発表] (計 15 件)
1. Imai Y: PINK1-mediated phosphorylation of the Parkin ubiquitin-like domain primes mitochondrial translocation of Parkin and regulates mitophagy The 17th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience, Suita, 6th, Dec. 2012
 2. Sawada T, Kanao T, Hattori N, Imai Y, Takahashi R.: Regulation of the PINK1 signaling by a mitochondrial protein PGAM5. Society for Neuroscience 39th annual meeting. New Orleans, LA. 15th Oct., 2012
 3. 澤田知世, Song Liu, Bingwei Lu, 服部信孝、今居讓、高橋良輔: 若年性家族性パーキンソン病原因遺伝子 PINK1、Parkin によるミトコンドリア輸送制御. 第 10 回神経科学研究会、東京、2012 年 11 月 10 日
 4. Sawada T, Kanao T, Hattori N, Imai Y, Takahashi R.: Regulation of the PINK1 signaling by a mitochondrial protein PGAM5. Neuroscience 2012, New Orleans, LA, 15th October, 2012
 5. 澤田知世, Song Liu, 服部信孝、Bingwei Lu、今居讓、高橋良輔: 若年性家族性パーキンソン病原因遺伝子 PINK1、Parkin によるミトコンドリア輸送制御. 第 6 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres、京都、2012 年 10 月 12 日

- 年会、横浜、2011年12月13-16日
6. Sawada T, Liu S, Kanao T, Hattori N, Lu B, Takahashi R, Imai Y.: PINK1 and Parkin Regulate Axonal Transport of Mitochondria. 第35回日本神経科学大会、名古屋、2012年9月18日
 7. 澤田知世、Song Liu、Bingwei Lu、今居 讓、高橋良輔：若年性家族性パーキンソン病原因遺伝子 PINK1、Parkin によるミトコンドリア輸送制御. 第21回日本 Cell Death 学会学術集会、名古屋、2012年7月28日
 8. Imai Y, Shiba-Fukushima K, Yoshida S, Ishihama Y, Hattori H: PINK1-mediated phosphorylation of the Parkin ubiquitin-like domain primes mitochondrial translocation of Parkin: an initial step of mitophagy. 第35回日本分子生物学会年会 ワークショップ「オートファジーによる分解の諸相」、福岡、2012年12月11日
 9. 今居 讓：若年性パーキンソン病遺伝子によるミトコンドリア輸送制御. 第53回日本神経学会学術大会「パーキンソン病② 分子病態機序」東京、2012年5月23日
 10. 澤田知世、Song Liu、金尾智子、Bingwei Lu、服部信孝、高橋良輔、今居 讓: PINK1 and Parkin regulate the mitochondrial transport machinery. 第34回日本分子生物学会年会、横浜、2011年12月13-16日
 11. 菅原弘子、金尾智子、今居 讓、佐藤栄人、服部信孝: ショウジョウバエ PINK1-Parkin 経路における Bnip3L の機能解析, 第34回日本分子生物学会年会、横浜、2011年12月13-16日
 12. 福嶋佳保里、磯貝英理子、今居 讓、李元哲、佐藤栄人、中川原章、服部信孝: LM03 を介した Parkin による MASH1 転写活性の抑制, 第34回日本分子生物学会年会、横浜、2011年12月13-16日
 13. 今居 讓: “モデルショウジョウバエを用いた遺伝性若年性パーキンソン病の研究” 第64回日本自律神経学会総会 パーキンソン病update (秋田) 2011年10月28日
 14. 澤田知世、金尾智子、小林芳人、高橋良輔、今居 讓: The HECT-type ubiquitin ligase Huw1/Mule mediates the stability of PINK1. Neuroscience2011 (第34回日本神経科学大会)、横浜、2011年9月17日
 15. 澤田知世、金尾智子、小林芳人、高橋良輔、今居 讓: HECT 型ユビキチンリガゼ Mule/Huw1 による PINK1 安定性の調節. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、2011年5月18-20日
- [図書] (計6件)
1. Imai Y, Hattori N: Mitophagy Controlled by the PINK1-Parkin Pathway is Associated with Parkinson's Disease Pathogenesis. In: Autophagy: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, and Infection, Hayat MA ed, Elsevier, Amsterdam, in press.
 2. 今居讓: 「パーキンソン病の病態機序」シリーズ アクチュアル 脳・神経疾患の臨床, パーキンソン病と Movement Disorders, 印刷中
 3. Sawada T, Kanao T, Kobayashi Y, Takahashi R, Imai Y: The HECT-Type Ubiquitin Ligase Huw1 Mediates the Stability of PINK1. *J Mov Disord.* 4(s1): 14-14 (2011)
 4. 澤田知世、今居讓、高橋良輔: 「ミトコンドリア病としてのパーキンソン病」脳 21、第16号: 65-70, 2013
 5. 澤田知世、高橋良輔、Bingwei Lu、今居讓: Current Topics 「PINK1 と Parkin はミトコンドリアの神経軸索輸送を制御する」実験医学第30巻11号: 1778-1781 (2012)
 6. 今居 讓、斉木臣二、服部信孝: 「加齢と神経変性疾患: 遺伝性パーキンソン病原因遺伝子の機能解析から明らかとなってきたミトコンドリアの品質管理機構」アンチ・エイジング医学、第7巻6号: 56-61 (2011)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今居 讓 (IMAI YUZURU)

順天堂大学大学院・医学研究科・前任

准教授

研究者番号 ; 30321730