

新しく発見したオートファジー機構の包括的理解と その「オートファジー病」への応用

Studies of alternative macroautophagy and
its application for “Autophagic Diseases”

清水 重臣 (SHIMIZU SHIGEOMI)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授



研究の概要

オートファジーは、細胞が古くなった自己構成成分を消化、再利用する細胞機能である。私達は、これまでオートファジーに必須と考えられてきたAtg5/Atg7分子に依存しない新規メカニズムによるオートファジー機構を発見した。本研究では、新規オートファジーを中心に、オートファジー機構の全体像を解明する。具体的には、(1)シグナル伝達機構の解明、(2)オートファジーの生理機能解明、(3)オートファジーと疾患、病態との関連を研究する。

研究分野：細胞生物学、生化学

科研費の分科・細目：基礎医学・医科学一般

キーワード：オートファジー、細胞死

1. 研究開始当初の背景

オートファジーとは、新陳代謝や細胞のリモデリングなどに寄与する細胞機能であり、その破綻は多くの疾患の温床となる。従来、オートファジーを実行する分子機構は、Atg5分子に依存した単一の経路によって支配されているものと信じられてきた。しかしながら、私達は、Atg5に依存しない新たなオートファジー機構を発見した。即ち、オートファジーを理解する為には、2経路のオートファジーを包括的に解析する必要がある。

2. 研究の目的

本研究では、このようなオートファジー研究の現状を踏まえて、まず新規オートファジーの分子機構を解明する。また、両経路のオートファジーの生理機能を把握するとともに、それらの変調によって生じる一連の疾患群の病態機序を解析する。また、これらの知見を基盤として、新たな疾患治療の糸口をつかむことを目的とする。

3. 研究の方法

1) 新規オートファジー機構の解析

新規オートファジー機構に関わる分子を、酵母遺伝学などを駆使して同定する。さらに、実行機構の素過程を解明する。

2) オートファジーの生理機能解析

新規オートファジーが誘導されない遺伝子

改変マウスを作製して、新規オートファジーあるいは総体としてのオートファジーの生理機能を明らかにする。

3) 『オートファジー病』の基本原理解析

オートファジーの変調に関連する疾患群を同定し、オートファジーの破綻から疾患発症に至る病態メカニズムを解析する。

4) 『オートファジー病』の治療法開発

オートファジーを選択的に誘導できる低分子化合物を開発し、治療薬開発の基盤とする。

4. これまでの成果

1) 新規オートファジー機構の解析

哺乳動物において発見した新規オートファジー (Atg5 非依存的オートファジー) は、酵母細胞においても存在した。酵母の新規オートファジーも、哺乳動物細胞と同様にゴルジ膜を起源としていた。遺伝学を用いて、新規オートファジー実行に必要な酵母分子を12種類同定した。このうちの5分子は、哺乳動物ホモログが存在していた。

また、新規オートファジーを誘導する化合物を開発し、その標的分子として2種類の新規オートファジー関連分子 (哺乳動物) を同定した。

また、新規オートファジーのイニシエーターである Ulk1 分子を中心に、上流のシグナル伝達機構解析を明らかにした。

2) オートファジーの生理機能解析

新規オートファジーを可視化できるマウスを作成し、Atg5 依存的オートファジーモニター (GFP-LC3) マウスと交配した。このマウスを用いて、両方のオートファジーが実行される時空間解析を行なった。その結果、心臓の形成期や血球細胞の分化過程で新規オートファジーが活性化されることを見出した。

また、他の細胞機能との関連では、①オートファジーが過剰に亢進すると JNK 依存的に細胞死が誘導されること、②オートファジーは血球の分化に関わっていること、③細胞老化を維持する時には、オートファジーによる蛋白質異化作用と蛋白質同化作用が共役すること、を見出した。

さらに、7 種類の新規オートファジー関連分子のノックアウトマウスを作製した。その結果、①新規オートファジーは赤血球の最終分化を調節していること、②新規オートファジーが実行されないと、胎生早期で致死に至ることを見出した。

3) 『オートファジー病』の基本原理解析

発癌、神経変性疾患、炎症性腸疾患、血液疾患に関して、オートファジーとの関連を解析した。その結果、新規オートファジーの破綻は、これらの疾患の誘因となりうる事が明らかとなった。また、両系統のオートファジーをともに破綻させると、疾患がより増悪するものと考えられた。

4) 『オートファジー病』の治療法開発

新規オートファジー誘導化合物の中から、作用点が異なる 2 種類の腫瘍抑制化合物を同定した。これらの化合物は、マウスの個体レベルにおいても有効性が確認された。

ポリグルタミン病や炎症性腸炎を標的とした新規オートファジー誘導化合物の同定にも成功している。

5. 今後の計画

1) 新規オートファジー機構の解析

酵母の遺伝学を参考に、哺乳動物の新規オートファジー関連分子をさらに追加する。

既に作製した新規オートファジー分子ノックアウトマウス (7 種類) 由来の細胞を用いて、オートファジー誘導時の各素過程を明らかにする

2) オートファジーの生理機能解析

作製したオートファジー可視化マウスを用いて、両系統のオートファジーが、生体内のいつ、如何なる場所で、誘導されるかを解析する。

3、4) 『オートファジー病』の基本原理解析と治療法開発

発癌に関しては、新規オートファジー欠損マウスを用いて、発癌との関連性を調べる。また、オートファジーの変調によって修飾を受ける癌関連分子を探索する。

神経変性疾患に関しては、開発中の新規オートファジー誘導化合物をポリグルタミン病モデルマウスに投与し、その効果を検討する。薬剤安定性や薬効を基に、当該化合物を最適化する。

また、血液疾患に関しても、新規オートファジー欠損マウスを用いて、疾患との関連性を調べる。

さらに、上記の各種疾患の臨床サンプルを用いて、オートファジーの変調が疾患発症に如何に関わっているかを解明する。また、新規オートファジー欠損マウスの異常部位とヒトの臨床サンプルとを対比させることにより、疾患の病態マーカーを見出す。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- 1、A. Konishi, S. Arakawa, Z. Yue, S. Shimizu. Involvement of Beclin 1 in the engulfment of apoptotic cells. **J. Biol. Chem.** 287: 13919-29, 2012
- 2、M. Narita, A.R.J. Young, S. Arakawa, S.A. Samarajiwa, T. Nakashima, S. Yoshida, S.K. Hong, L.S. Berry, S. Reichelt, M. Ferreira, S. Tavaré, K. Inoki, S. Shimizu, M. Narita. Spatial coupling of mTOR and autophagy augments secretory phenotypes. **Science** 332: 966-970, 2011
- 3、S. Shimizu, A. Konishi, Y. Nishida, T. Mizuta, H. Nishina, A. Yamamoto, Y. Tsujimoto. Involvement of JNK in the regulation of autophagic cell death. **Oncogene** 29, 2070-2082, 2010.
- 4、Y. Nishida, S. Arakawa, K. Fujitani, H. Yamaguchi, T. Mizuta, T. Kanaseki, M. Komatsu, K. Otsu, Y. Tsujimoto, S. Shimizu. Discovery of Atg5/Atg7-independent alternative macroautophagy. **Nature** 461, 654-658, 2009

ホームページ等

<http://www.tmd.ac.jp/mri/pcb/index.html>