

## 先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実施状況報告書(平成 24 年度)

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	オートファジーの異常に伴う疾患の克服:健康社会実現へ向けて
研究機関・ 部局・職名	公益財団法人東京都医学総合研究所・生体分子先端研究分野・副参事研究員
氏名	小松 雅明

### 1. 当該年度の研究目的

オートファジーは小胞体ないしはその近傍の構造体から出現した構造体(隔離膜)が伸長して細胞質成分を取り囲んだオートファゴソームが形成される過程と、生じたオートファゴソームがエンドソームないしはリソソームと融合し内容物を消化する 2 つの過程から構成されている。飢餓適応としてのオートファジーの重要性の一方で、我々の研究グループは栄養条件に関わらず起こっている恒常的オートファジーの減弱が様々な重篤疾患を引き起こすことを明らかにしてきた。しかし、その病態発症メカニズムはほとんど不明なままであった。本研究計画では、病態発症抑制機構としての選択的オートファジーに焦点をあて、その分子機構および病態生理的意義の解明を目指す。本年度は、本プログラムにおいて明らかにしてきた「オートファジー選択的基質 p62 と肝細胞がん増殖の分子基盤」を基にした p62 を標的にした抗がん剤としての低分子化合物のスクリーニングを行うとともに、オートファジー選択的基質群の遺伝子改変マウスの解析を行なうことを目標とした。

### 2. 研究の実施状況

我々は、オートファジー選択的基質 p62 がユビキチンリガーゼアダプタータンパク質 Keap1 と直接相互作用し、Keap1 のターゲットであるストレス応答性転写因子 Nrf2 の分解を阻害することを見出した(Nature Cell Biol., 2010)。つまり、細胞は、p62 の蓄積を介して酸化ストレスを巧みに回避する機構があることを見つけた。肝細胞がんにおいて、オートファジーの障害ないしは p62 遺伝子の発現上昇により p62 が過剰に蓄積されている。それを起因に、**新しく見出した酸化ストレス防御システムを恒常的に活性化させ、自身を酸化ストレスから守る**という生存戦略がとられていると想定される。実際、マウス肝臓においてオートファジー欠損が長期間継続すると腫瘍が形成されること、その腫瘍増殖は p62 を同時欠損させると大幅に抑制されることを確認した(Gene & Dev., 2011)。また、ヒト肝細胞がん株やヒト肝細胞がん組織において p62 を介した Nrf2 の活性化ががん細胞の増殖に寄与すること、それは p62 と Keap1 の結合依存的であることを証明した(J. Cell Biol., 2011)。さらに、p62 の翻訳後修飾が Keap1 との結合を増強させること、Keap1 が p62 依存的にオートファジーにより分解されることを見出した(PNAS 2012 and 投稿中)。これらの発見を基盤に、本年度は p62 を標的にした抗がん剤としての低分子化合物のスクリーニングを行った。In vitro のアッセイ系を構築し約 160,000 の低分子化合物を用いて一次スクリーニングを行った結果、約 40 種類のヒット化合物を同定した。現在、来年度以降を見据えた二次スクリーニングおよび in vivo スクリーニング方法の

様式19 別紙1

構築を行っている。一方、本研究課題において作出したオートファジー選択的基質 p62、Nbr1 の GFP タグ付きノックインマウス、Nbr1 条件付き KO マウス、さらに p62 結合タンパク質 Alf1 の条件付き KO マウス、リソソームトランスポーターX の条件付き KO マウスの解析を進めている。いずれも、興味深い表現型を見出しており、本研究課題の概ねの目標を達成しつつある。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 23 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 17 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Onal M, Piemontese M, Xiong J, Wang Y, Han L, Ye S, <u>Komatsu M</u>, Selig M, Weinstein RS, Zhao H, Jilka RL, Almeida M, Manolagas SC, *O'Brien CA (2013) Suppression of Autophagy in Osteocytes Mimics Skeletal Aging. J Biol Chem.</li> <li>2. Maeda H, Nagai H, Takemura G, Shintani-Ishida K, <u>Komatsu M</u>, Ogura S, Aki T, Shirai M, Kuwahira I, *Yoshida KI (2013) Intermittent-hypoxia induced autophagy attenuates contractile dysfunction and myocardial injury in rat heart. Biochim Biophys Acta 1832:1159-1166.</li> <li>3. Kim KH et al. (2013) Autophagy deficiency leads to protection from obesity and insulin resistance by inducing Fgf21 as a mitokine. Nat Med 19:83-92.</li> <li>4. McMahon J, Huang X, Yang J, <u>Komatsu M</u>, Yue Z, Qian J, Zhu X, *Huang Y (2012) Impaired autophagy in neurons after disinhibition of mammalian target of rapamycin and its contribution to epileptogenesis. J Neurosci 32:15704-15714.</li> <li>5. Tashiro Y, Urushitani M, Inoue H, Koike M, Uchiyama Y, <u>Komatsu M</u>, Tanaka K, Yamazaki M, Abe M, Misawa H, Sakimura K, Ito H, *Takahashi R (2012) Motor neuron-specific disruption of proteasomes, but not autophagy, replicates amyotrophic lateral sclerosis. J Biol Chem 287:42984-42994.</li> <li>6. Taguchi K, Fujikawa N, <u>Komatsu M</u>, Ishii T, Unno M, Akaike T, Motohashi H, *Yamamoto M (2012) Keap1 degradation by autophagy for the maintenance of redox homeostasis. Proc Natl Acad Sci U S A 109:13561-13566.</li> <li>7. Jiang M, Wei Q, Dong G, <u>Komatsu M</u>, Su Y, *Dong Z (2012) Autophagy in proximal tubules protects against acute kidney injury. Kidney Int 82:1271-1283.</li> <li>8. Friedman LG, Lachenmayer ML, Wang J, He L, Poulouse SM, <u>Komatsu M</u>, Holstein GR, *Yue Z (2012) Disrupted autophagy leads to dopaminergic axon and dendrite degeneration and promotes presynaptic accumulation of alpha-synuclein and LRRK2 in the brain. J Neurosci 32:7585-7593.</li> <li>9. Fukada H, Yamashina S, Izumi K, <u>Komatsu M</u>, Tanaka K, Ikejima K, *Watanabe S (2012) Suppression of autophagy sensitizes Kupffer cells to endotoxin. Hepatol Res 42:1112-1118.</li> <li>10. Quan W, Kim HK, Moon EY, Kim SS, Choi CS, <u>Komatsu M</u>, Jeong YT, Lee MK, Kim KW, Kim MS, *Lee MS (2012) Role of hypothalamic proopiomelanocortin neuron autophagy in the control of appetite and leptin response. Endocrinology 153:1817-1826.</li> <li>11. *<u>Komatsu M</u>, Kuma A, Okamoto K (2013) No ATG is an island—the connection of autophagy with</li> </ol>
------------------------	---

様式19 別紙1

	<p>diverse pathways and functions. EMBO Rep 14:219–221.</p> <p>12. Kageyama S, *<u>Komatsu M</u> (2012) Impaired G1-arrest, autophagy, and apoptosis in Atg7-knockout mice. <i>Circ Res</i> 111:962–964.</p> <p>13. *Klionsky DJ et al. (2012) Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy. <i>Autophagy</i> 8:445–544.</p> <p>14. Reggiori F, <u>Komatsu M</u>, Finley K, *Simonsen A (2012a) Selective types of autophagy. <i>Int J Cell Biol</i> 2012:156272.</p> <p>15. Reggiori F, <u>Komatsu M</u>, Finley K, *Simonsen A (2012b) Autophagy: more than a nonselective pathway. <i>Int J Cell Biol</i> 2012:219625.</p> <p>16. Mijaljica D, Nazarko TY, Brumell JH, Huang WP, <u>Komatsu M</u>, Prescott M, Simonsen A, Yamamoto A, Zhang H, Klionsky DJ, *Devenish RJ (2012) Receptor protein complexes are in control of autophagy. <i>Autophagy</i> 8:1701–1705.</p> <p>17. *<u>Komatsu M</u>, Kageyama S, Ichimura Y (2012) p62/SQSTM1/A170: physiology and pathology. <i>Pharmacol Res</i> 66:457–462.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 6 件</p> <p>1. 蔭山俊、小松雅明:過剰な p62 と封入体形成、生体の科学、vol.63, 526–537 (2012)</p> <p>2. 蔭山俊、小松雅明:オートファジーと生活習慣病、がん、内分泌・糖尿病・代謝内科、vol. 35, 254–263 (2012)</p> <p>3. 小松雅明、蔭山俊:オートファジーとがん代謝、実験医学 増刊、vol. 30, 147–153 (2012)</p> <p>4. 小松雅明、一村義信:動物細胞におけるユビキチンシステムとオートファジーの機能関連、生化学、vol. 84, 472–478 (2012)</p> <p>5. 蔭山俊、小松雅明:オートファジー(自食作用)、癌との関わり、<i>BIO Clinica</i>、vol. 27, 7, 23–28 (2012)</p> <p>6. 蔭山俊、小松雅明:肝疾患・癌とオートファジー —分子病態に迫る、<i>医学のあゆみ</i>、vol. 241, 245–250 (2012)</p>
<p>会議発表 計 4 件</p>	<p>専門家向け 計 4 件</p> <p>1. <u>Komatsu M</u>. “Selective autophagy is coupled to Nrf2-Keap1 pathway” <i>Keystone Symposium on Autophagy in Health and Disease</i> Montreal, Canada, 2013, 2.17–22.</p> <p>2. <u>Komatsu M</u>. “Metabolome analysis with autophagy-deficient livers unveils a unique regulation of lipid metabolism” <i>The 85<sup>th</sup> Annual Meeting of Japan Biochemical Society</i> Fukuoka, Japan, 2012.12.14–16.</p> <p>3. <u>Komatsu M</u>. “Selective autophagy is coupled to Nrf2-Keap1 pathway” <i>International Symposium on Autophagy</i> Okinawa, Japan, 2012, 10.28–11.01.</p> <p>4. 小松雅明:オートファジーによる腫瘍抑制効果 <i>がん代謝シンポジウム</i> 2013.1.17–18, 東京</p>
<p>図書 計 4 件</p>	<p>1. Ichimura, Y., and <u>M. Komatsu</u>. Selective autophagy and cancer. <b>Autophagy and Cancer</b>/Editor HG Wang. Springer Publishing Co. 1–254, 2013.</p> <p>2. <u>Komatsu, M.</u>, M. Koike, Y. Ichimura and Y. Uchiyama. Genetic mouse models for elucidation of autophagy-lysosomal system in neurons under physiologic and pathologic conditions. <b>Autophagy of the Nervous System</b>/Editors Z. Yue and CT. Chu. World Scientific Publishing Co. 1–426, 2012.</p> <p>3. 一村義信、<u>小松雅明</u>:タンパク質の選択的オートファジーの意義『DOUJIN BIOSCIENCE シリーズ オートファジー 細胞内分解による細胞の制御機構 編集/水島昇、吉森保』株式会社化学同人 1–229, 2013 年</p>

様式19 別紙1

	4. 蔭山俊、小松雅明:オートファジーと腫瘍 『DOUJIN BIOSCIENCE シリーズ オートファジー 細胞内分解による細胞の制御機構 編集/水島昇、吉森保』 株式会社化学同人 1-229, 2013 年
産業財産権 出願・取得状 況  計 1 件	(取得済み) 計 0 件  (出願中) 計 0 件
Webページ (URL)	公益財団法人東京都医学総合研究所 ホームページ 「蛋白質リサイクルシステムプロジェクト」 <a href="http://www.igakuken.or.jp/research/project/res_prj24.html">http://www.igakuken.or.jp/research/project/res_prj24.html</a>
国民との科 学・技術対話 の実施状況	小松雅明:平成 24 年度 第1回医学研都民講座  ・開催日 2012.4.18 ・開催場所 公益財団法人東京都医学総合研究所 講堂 ・対象者 一般都民 ・参加者数 95 名 ・内容 たんぱく質からみた健康と病気 体の中身を入れ替える?—健康に生きるために—
新聞・一般雑 誌等掲載 計2件	科学新聞 8月24日 2面 酸化ストレスセンサー「Keap1」を解明 2012.8.24 日刊工業新聞 8月8日 生体防御機構を解明 2012.8.8
その他	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	119,000,000	48,000,000	42,600,000	28,400,000	0
間接経費	35,700,000	14,400,000	12,780,000	8,520,000	0
合計	154,700,000	62,400,000	55,380,000	36,920,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	0	42,600,000	0	42,600,000	42,559,322	40,678	0
間接経費	0	12,780,000	0	12,780,000	12,780,000	0	0
合計	0	55,380,000	0	55,380,000	55,339,322	40,678	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	23,671,733	実験試薬、理化学用品等
旅費	1,111,331	学会参加旅費等
謝金・人件費等	10,599,047	研究補助金人件費
その他	7,177,211	学会参加費、液体クロマトグラフィー質量分析受託
直接経費計	42,559,322	
間接経費計	12,780,000	
合計	55,339,322	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
フリーズ超低温槽	日本フリーザー CLN-510UW	1	1,951,950	1,951,950	2012/5/31	公益財団法人東 京都医学総合研
				0		
				0		