

「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく
最適医療実現のための技術創出」

H25 年度
実績報告

平成 24 年度採択研究代表者

吉森 保

大阪大学大学院生命機能研究科
教授

恒常性維持機構オートファジーに着目した
栄養素過剰摂取に起因する疾患の原因解明と治療法確立

§ 1. 研究実施体制

(1) 吉森グループ

- ①研究代表者: 吉森 保 (大阪大学大学院生命機能研究科、教授)
- ②研究項目: オートファジー制御の破綻と生活習慣病の発症

(2) 藤谷グループ

- ①主たる共同研究者: 藤谷 与士夫 (順天堂大学大学院医学研究科、先任准教授)
- ②研究項目: 内分泌代謝器官の恒常性破綻と生活習慣病の発症

(3) 齊藤グループ

- ①主たる共同研究者: 齊藤 達哉 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター、特任准教授)
- ②研究項目: 自然免疫系の恒常性破綻と生活習慣病の発症

§ 2. 研究実施の概要

栄養のとりすぎは、内分泌・代謝・免疫系が織りなすネットワークにより維持される生体の恒常性を損ない、糖尿病などの生活習慣病の発症や感染症併発リスクの上昇につながる。そこで私たちは、栄養素過多の環境でかかる過度のストレスにより「オートファジー」という細胞内浄化機構の活性が低下・不足し、臓器間ネットワークが障害されることに着目した。本研究ではそのメカニズムを解明し、オートファジー活性制御に基づく疾患症状緩和手法の開発など、生活習慣病の新規治療法確立を目指している。

平成 25 年度は、以下の研究を実施した。

1. 生活習慣病抑制に働くオートファジーの仕組みの解明

細胞から外部からシリカ等を取り込むと、細胞内小器官のリソソームが破れる。今回我々は、損傷を受けたリソソームが選択的にオートファジーによって取り除かれることを見出し、リソファジーと名付けた。リソファジーができず損傷リソソームが残ったままの細胞は、消化能力が低下し増殖阻害や細胞死を来す。生活習慣病の原因となる高尿酸血症のマウスでは、腎臓の尿細管細胞で尿酸結晶によりリソソームが破れリソファジーが起きていた。遺伝子破壊により尿細管のオートファジー能力を欠くマウスに尿酸を投与すると、高尿酸血症で発症する腎症が悪化することも判った。すなわち、リソファジーが少なくとも高尿酸を原因とする生活習慣病の抑制に働いていることが示された。

2) 2型糖尿病とオートファジーの関係の解析

ヒト型の IAPP と呼ばれる膵細胞がつくるペプチドは、栄養過多で量が増え、オリゴマーを形成して毒性を発揮し2型糖尿病の原因となる。そこで、ヒト型 IAPP を有し、膵β細胞でオートファジー機能が低下したマウスを作成した（ヒト IAPP ノックイン-膵β細胞特異的 Atg7 欠損マウス）。このマウスに高脂肪食を与えたところ、膵β細胞の機能不全と細胞死による耐糖能の著しい低下が認められた。ヒト IAPP の毒性の制御にオートファジーが積極的に関与することを *in vivo* の系を用いて初めて明らかにした研究である。

3) 炎症反応とオートファジーの関係の解析

生活習慣病における負のスパイラルには、免疫系による炎症反応が重要な役割を演じる。平成25年度に我々は、樹状細胞や好中球が上述のヒト IAPP に強く反応することを発見した。また前年度に微小管のアセチル化修飾酵素が炎症反応を引き起こす NLRP3 インフラマソームの活性化に深く関わっていることを報告したが、本年度はある生理活性物質が損傷ミトコンドリアからの活性酸素種の産生を抑制することにより、強力的に NLRP3 インフラマソームの活性化を抑制することも見出した。現在は、それがオートファジーによる損傷ミトコンドリアの除去によるものかどうかを解析している。また、化合物ライブラリーを用いたスクリーニングから、NLRP3 依存的な炎症性サイトカイン IL-1β の産生を抑制する化合物を複数同定した。ヒットした化合物の中からオートファジー活性を誘導することにより炎症反応を抑制するものを今後スクリーニングする。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国際)

1. Maejima, Ikuko; Takahashi, Atsushi; Omori, Hiroko; Kimura, Tomonori; Takabatake, Yoshitsugu; Saitoh, Tatsuya; Yamamoto, Akitsugu; Hamasaki, Maho; Noda, Takeshi; Isaka, Yoshitaka; Yoshimori, Tamotsu. Autophagy sequesters damaged lysosomes to control lysosomal biogenesis and kidney injury. *EMBO J.* 2013, 32(17), 2336-2347. (DOI: 10.1038/emboj.2013.171)
2. Shirahama-Noda, Kanae; Kira, Shintaro; Yoshimori, Tamotsu; Noda, Takeshi. TRAPPIII is responsible for vesicular transport from early endosomes to Golgi, facilitating Atg9 cycling in autophagy. *J. Cell Sci.* 2013, 126(21), 4963-4973. (DOI: 10.1242/jcs.131318)
3. Ichimura, Yoshinobu; Waguri, Satoshi; Sou, Yu-shin; Kageyama, Shun; Hasegawa, Jun; Ishimura, Ryosuke; Saito, Tetsuya; Yang, Yinjie; Kouno, Tsuguka; Fukutomi, Toshiaki; Hoshii, Takayuki; Hirao, Atsushi; Takagi, Kenji; Mizushima, Tsunehiro; Motohashi, Hozumi; Lee, Myung-Shik; Yoshimori, Tamotsu; Tanaka, Keiji; Yamamoto, Masayuki; Komatsu, Masaaki. Phosphorylation of p62 activates the Keap1-Nrf2 pathway during selective autophagy. *Mol. Cell* 2013, 51(5), 618-631. (DOI: 10.1016/j.molcel.2013.08.003)
4. Tamaki, Motoyuki; Fujitani, Yoshio; Hara, Akemi; Uchida, Toyoyoshi; Tamura, Yoshifumi; Takeno, Kageumi; Kawaguchi, Minako; Watanabe, Takahiro; Ogihara, Takeshi; Fukunaka, Ayako; Shimizu, Tomoaki; Mita, Tomoya; Kanazawa, Akio; Imaizumi, Mica O.; Abe, Takaya; Kiyonari, Hiroshi; Hojyo, Shintaro; Fukada, Toshiyuki; Kawauchi, Takeshi; Nagamatsu, Shinya; Hirano, Toshio; Kawamori, Ryuzo; Watada, Hirotaka. The diabetes-susceptible gene *SLC30A8/ZnT8* regulates hepatic insulin clearance. *J. Clin. Invest.* 2013, 123(10), 4513-4524. (DOI: 10.1172/JCI68807)
5. Fujita, Naonobu; Morita, Eiji; Itoh, Takashi; Tanaka, Atsushi; Nakaoka, Megumi; Osada, Yuki; Umemoto, Tetsuo; Saitoh, Tatsuya; Nakatogawa, Hitoshi; Kobayashi, Shouhei; Haraguchi, Tokuko; Guan, Jun-Lin; Iwai, Kazuhiro; Tokunaga, Fuminori; Saito, Kazunobu; Ishibashi, Koutaro; Akira, Shizuo; Fukuda, Mitsunori; Noda, Takeshi; Yoshimori, Tamotsu. Recruitment of the autophagic machinery to endosomes during infection is mediated by ubiquitin. *J. Cell Biol.* 2013, 203(1), 115-128. (DOI: 10.1083/jcb.201304188)
6. Abe, Hiroko; Uchida, Toyoyoshi; Hara, Akemi; Mizukami, Hiroki; Komiya, Koji; Koike, Masato; Shigihara, Nayumi; Toyofuku, Yukiko; Ogihara, Takeshi; Uchiyama,

- Yasuo; Yagihashi, Soroku; Fujitani, Yoshio; Watada, Hiroataka. Exendin-4 improves β -cell function in autophagy-deficient β -cells. *Endocrinology* 2013, 154(12), 4512-4524. (DOI: 10.1210/en.2013-1578)
7. Patel, Khushbu K.; Miyoshi, Hiroyuki; Beatty, Wandy L.; Head, Richard D.; Malvin, Nicole P.; Cadwell, Ken; Guan, Jun-Lin; Saitoh, Tatsuya; Akira, Shizuo; Seglen, Per O.; Dinauer, Mary C.; Virgin, Herbert W.; Stappenbeck, Thaddeus S. Autophagy proteins control goblet cell function by potentiating reactive oxygen species production. *EMBO J.* 2013, 32(24), 3130-3144. (DOI: 10.1038/emboj.2013.233)
 8. Suzuki, Hironori; Tabata, Keisuke; Morita, Eiji; Kawasaki, Masato; Kato, Ryuichi; Dobson, Renwick C. J.; Yoshimori, Tamotsu; Wakatsuki, Soichi. Structural basis of the autophagy-related LC3/Atg13 LIR complex: Recognition and interaction mechanism. *Structure* 2013, 22(1), 47-58. (DOI: 10.1016/j.str.2013.09.023)
 9. Ohshima, Jun; Lee, Youngae; Sasai, Miwa; Saitoh, Tatsuya; Ma, Ji Su; Kamiyama, Naganori; Matsuura, Yoshiharu; Pann-Ghill, Suh; Hayashi, Mikako; Ebisu, Shigeyuki; Takeda, Kiyoshi; Akira, Shizuo; Yamamoto, Masahiro. Role of mouse and human autophagy proteins in IFN- γ -induced cell-autonomous responses against *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol. Advance Publication*. (DOI: 10.4049/jimmunol.1302822)