

細胞内分解のしくみと意義： オートファジーとその他

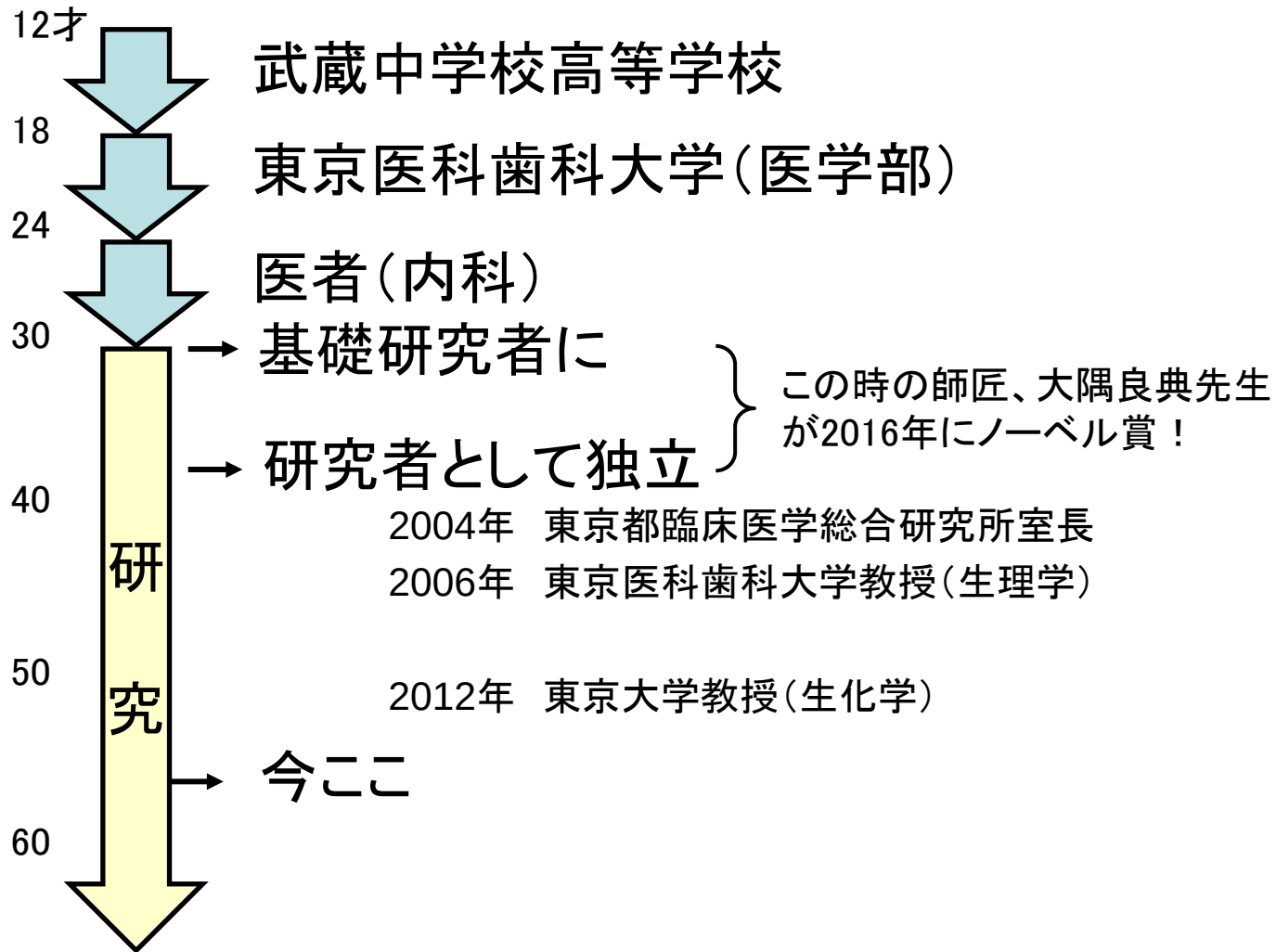
2022年6月23日

水島 昇

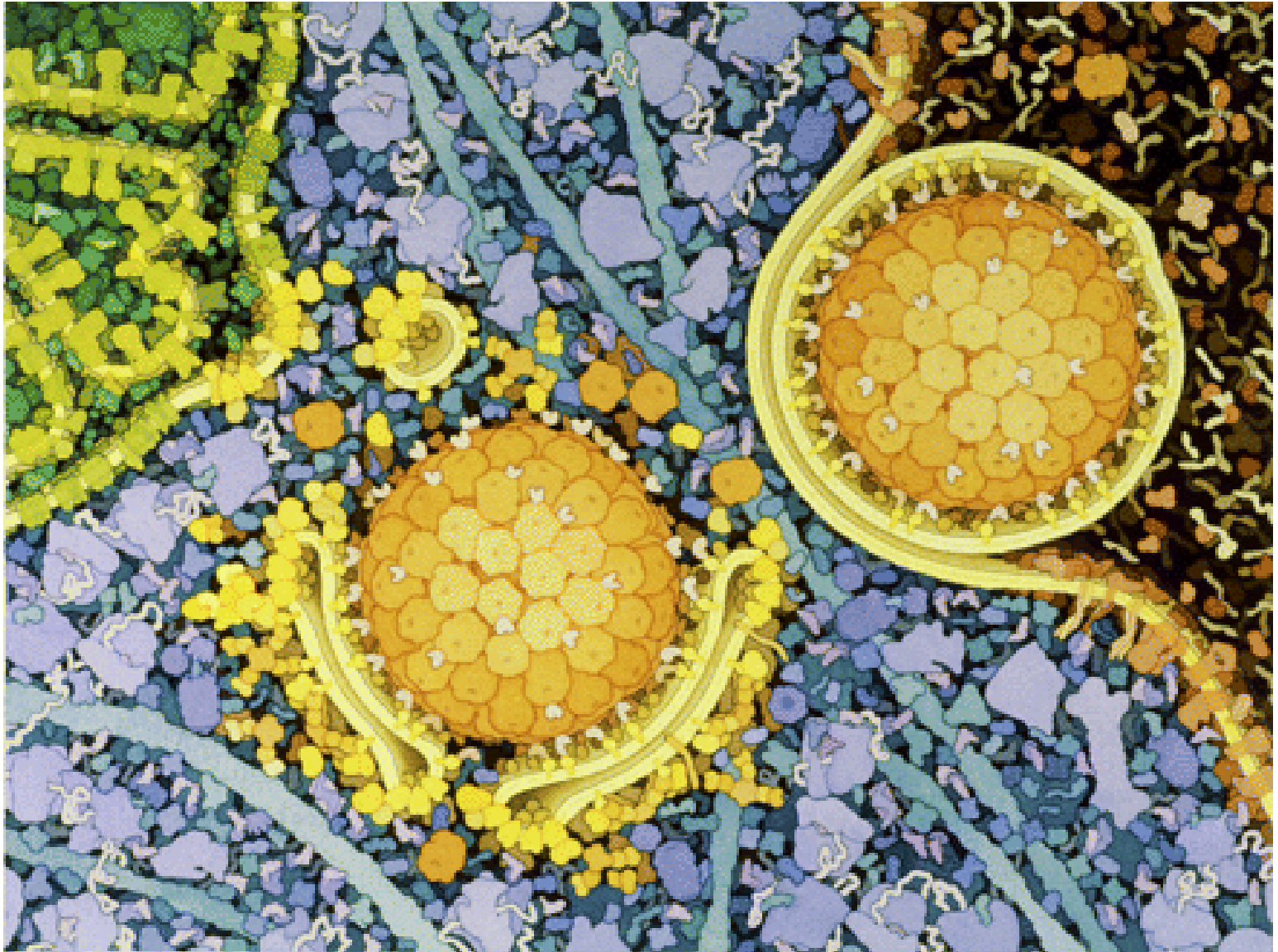
大学院医学系研究科・医学部

分子生物学分野 教授

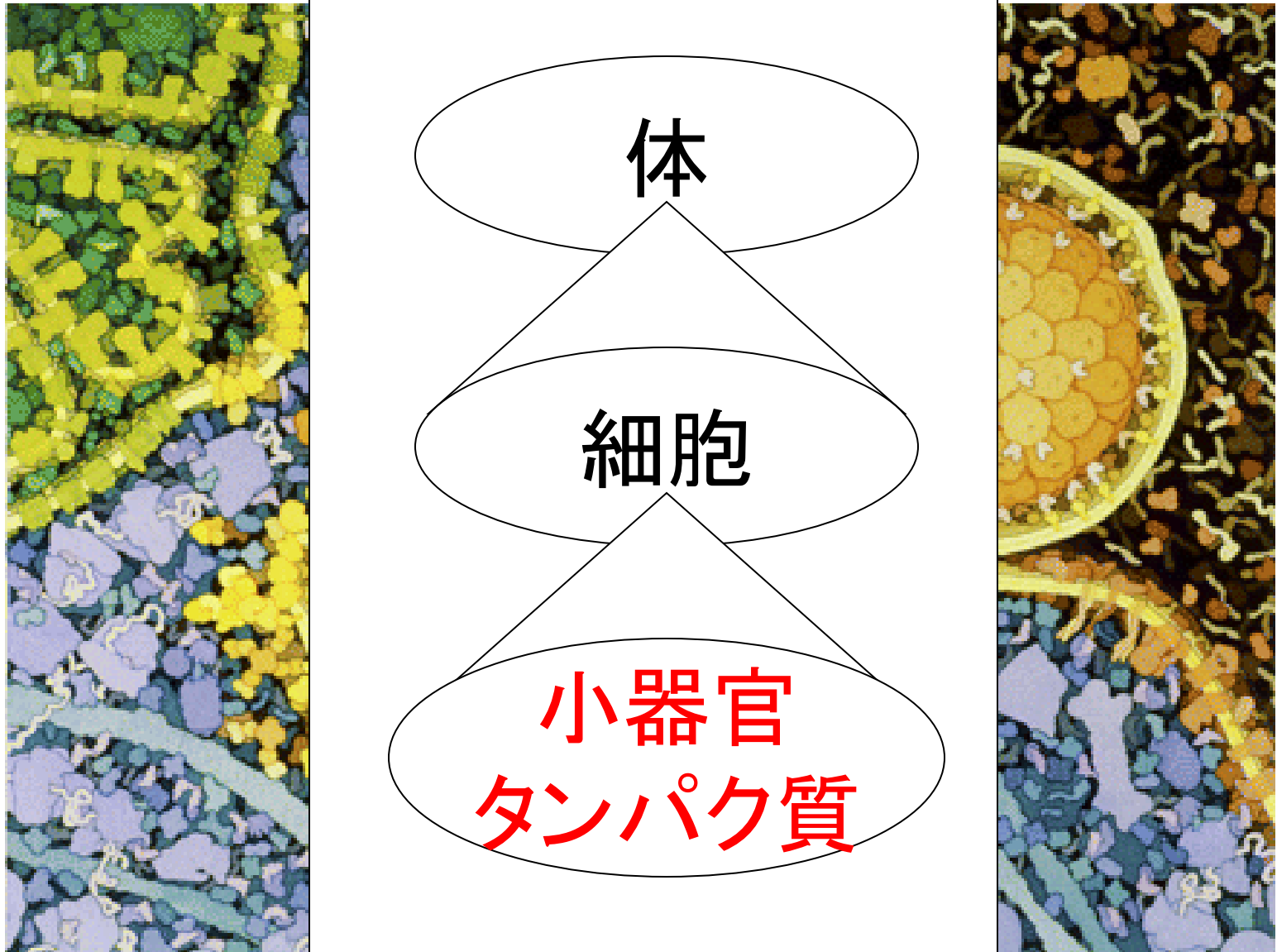
自己紹介(水島昇)



細胞の中はタンパク質や小器官だらけ



細胞の中はタンパク質や小器官だらけ

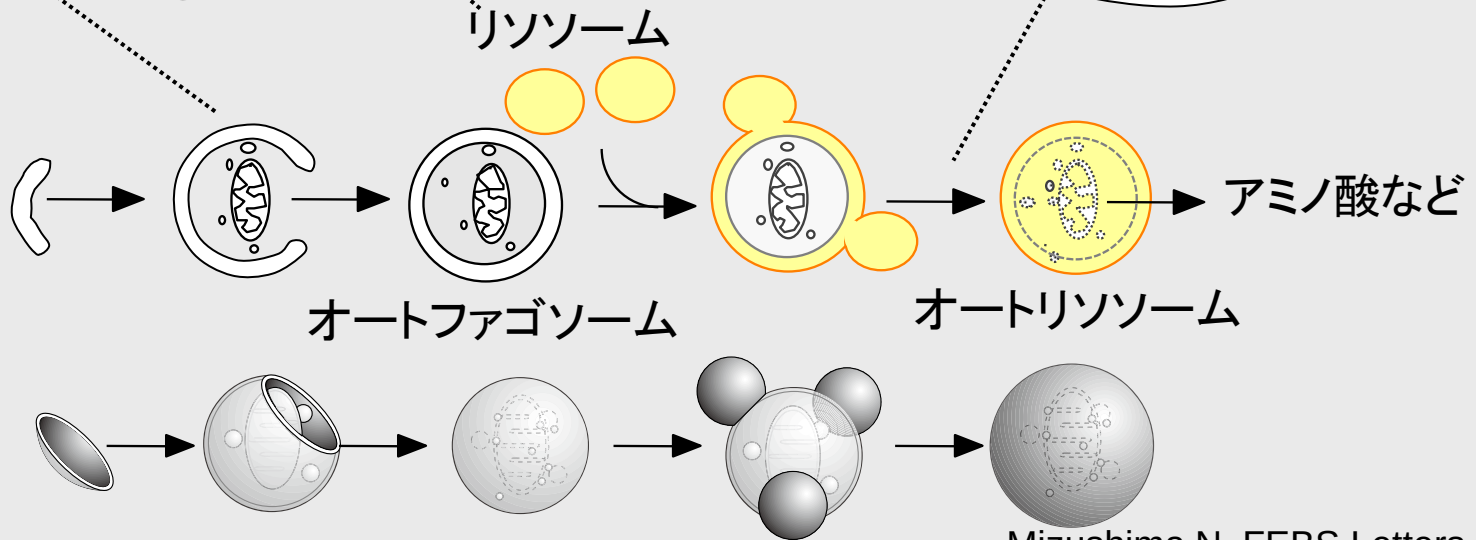


細胞質の一部が膜で囲まれ、オートファゴソームとなる

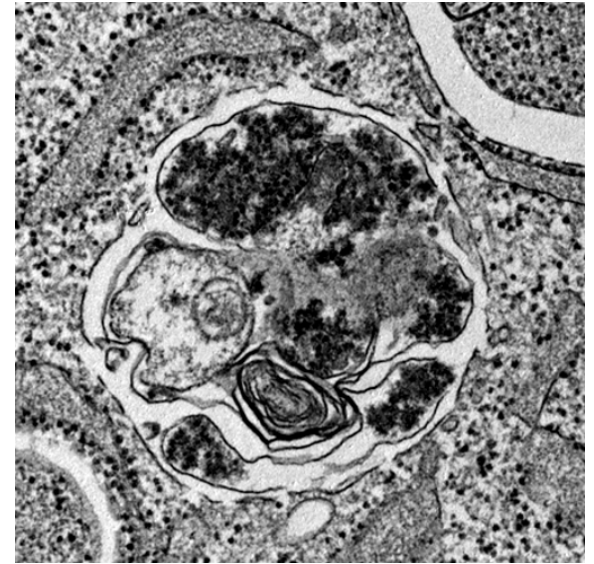
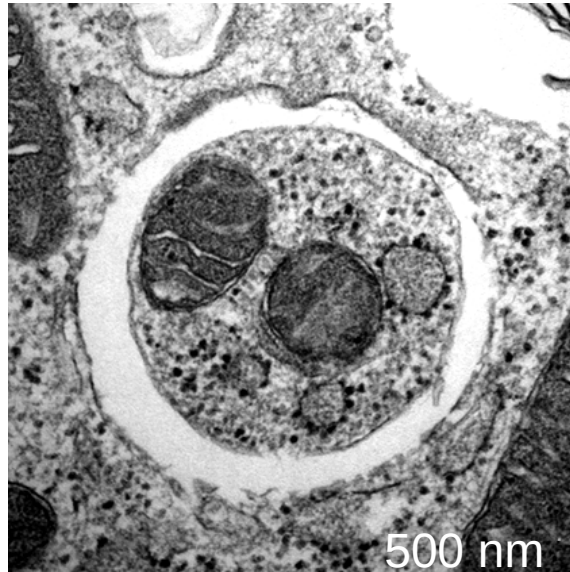
多種類の分解酵素を含んだ小器官

オートファジー

オートファゴソームとリソソームの融合により、オートファゴソーム内のタンパク質が分解される。

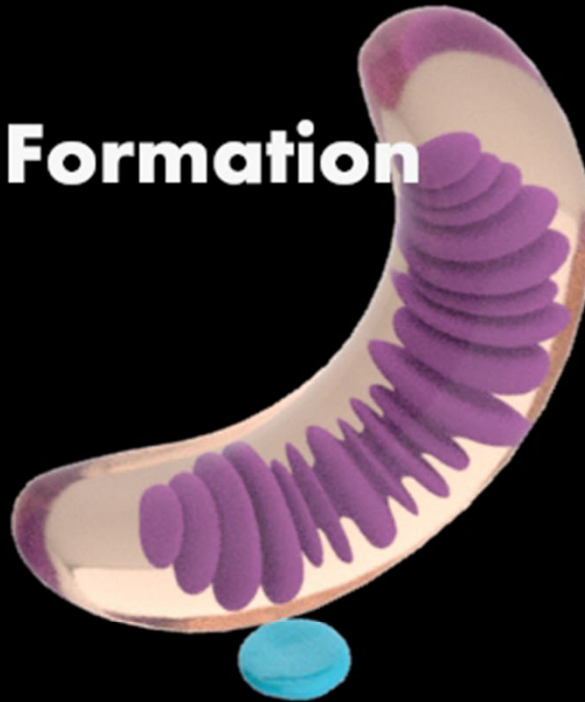


Mizushima N. FEBS Letters (2017)



Autophagosome Formation

2019.10 Revised Version



OHSIMA Tomoko

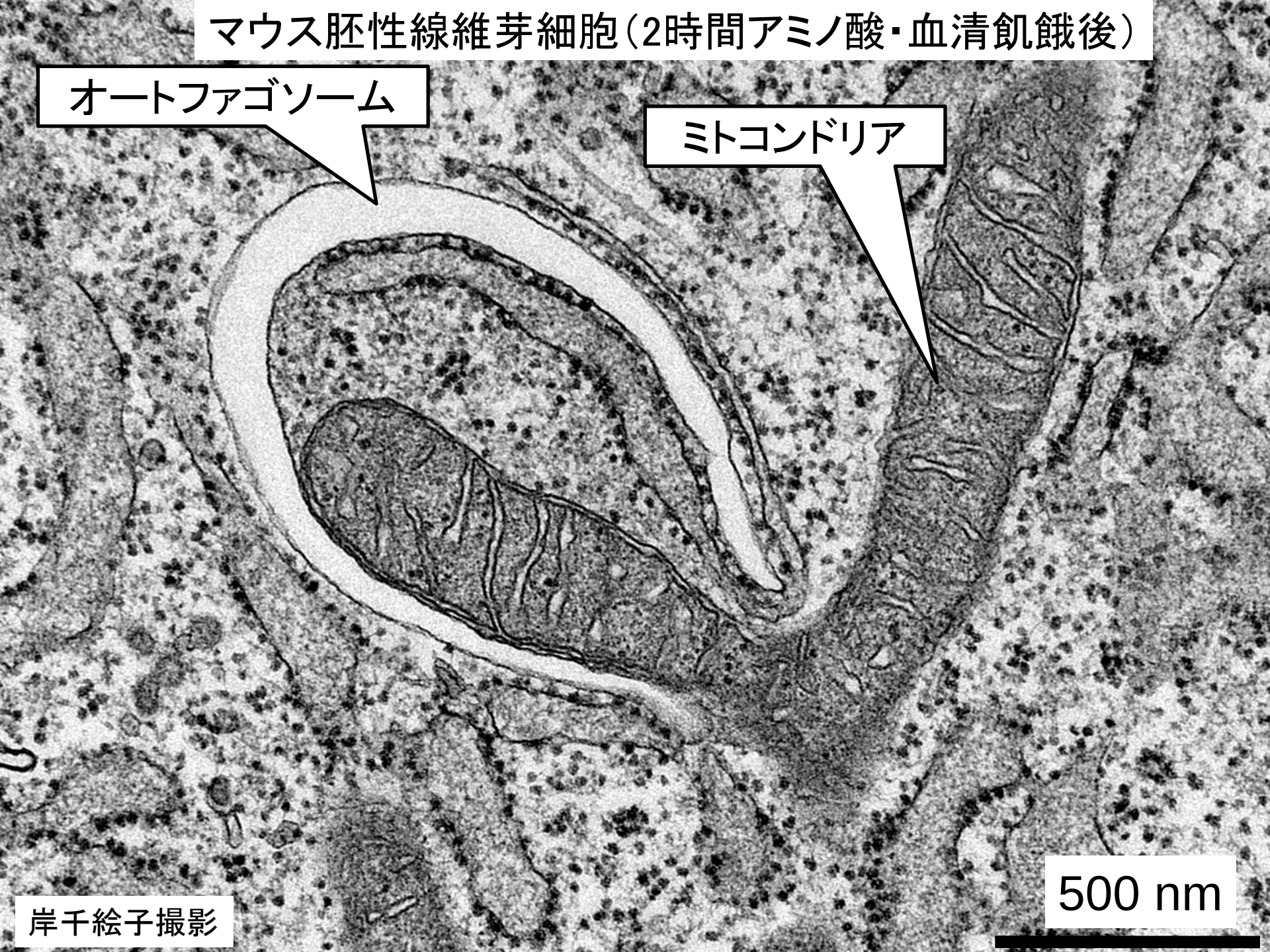
マウス胚性線維芽細胞(2時間アミノ酸・血清飢餓後)

オートファゴソーム

ミトコンドリア

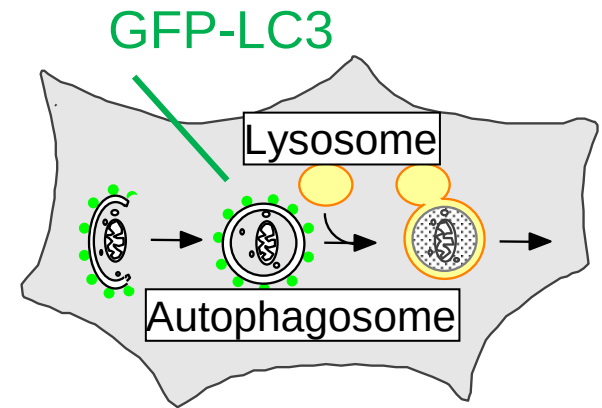
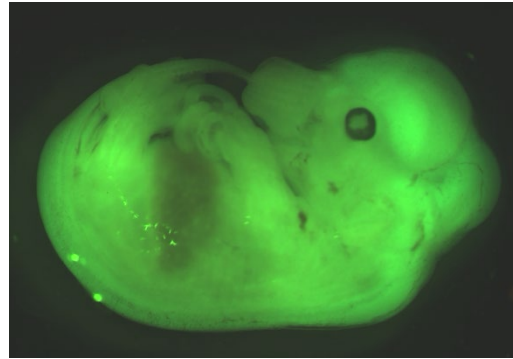
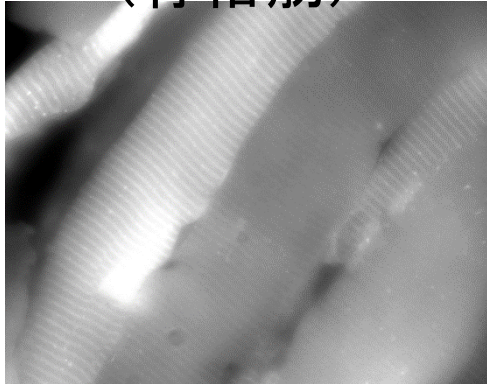
500 nm

岸千絵子撮影

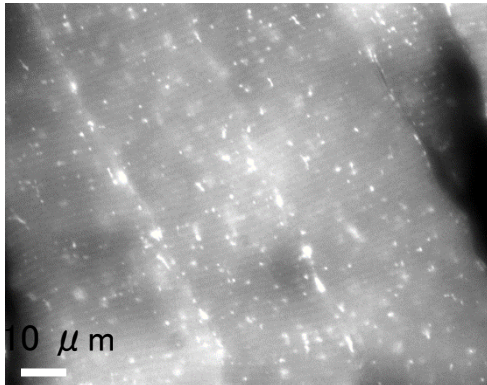


生体内でのオートファジーの可視化 (GFP-LC3マウス)

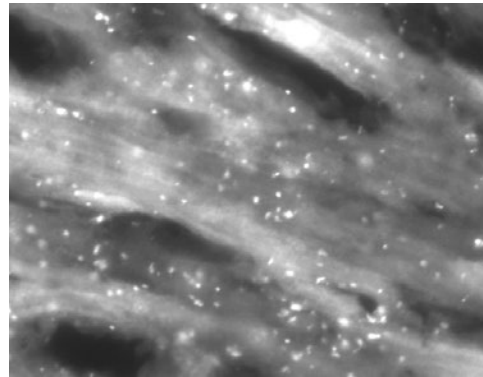
摂食時
(骨格筋)



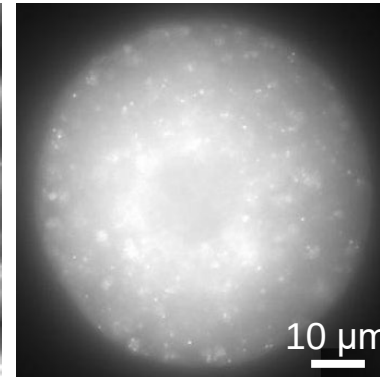
飢餓時
(骨格筋)



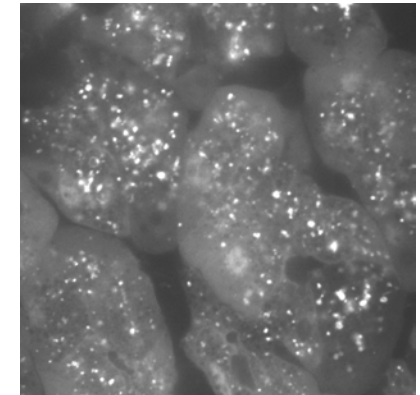
出生直後
(心臓)



受精
(初期胚)



急性膵炎



Mizushima et al.
Mol. Biol. Cell 2004

Kuma et al.
Nature 2004

Tsukamoto et al.
Science 2008

Hashimoto et al.
J. Cell Biol. 2008

オートファジーの役割

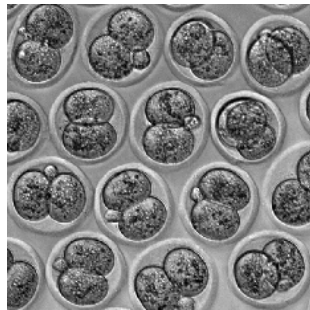
栄養素などのリサイクル

飢餓に耐える

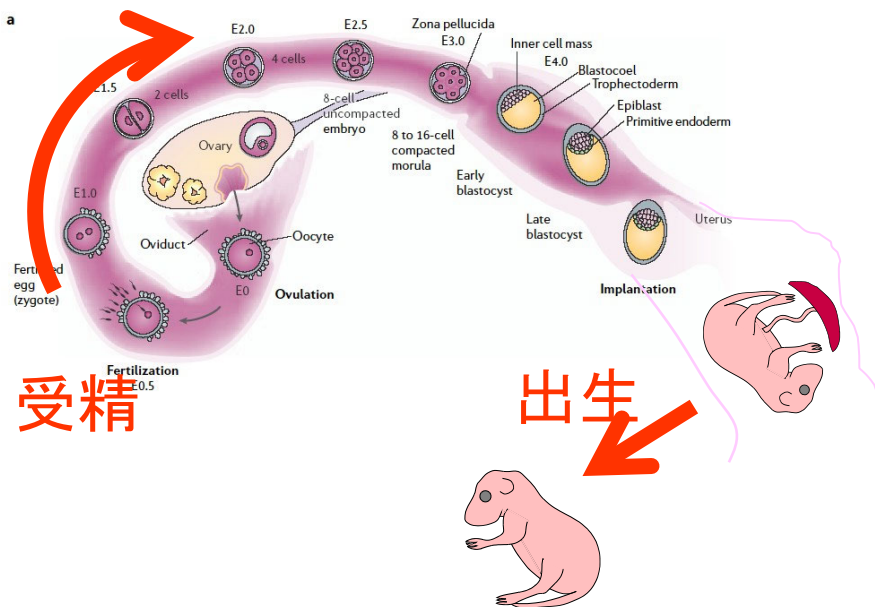


Kuma et al.
Nature 432:1032 (2004)

胚の発生



Tsukamoto et al.
Science 321:117 (2008)



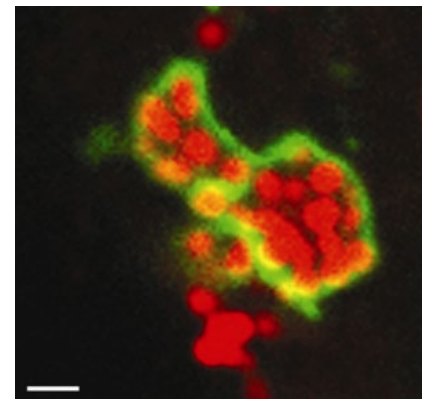
Nat Rev Genet. 2006 Mar;7(3):185-99

細胞内をきれいにする

不良ミトコンドリア除去 細胞内病原菌分解

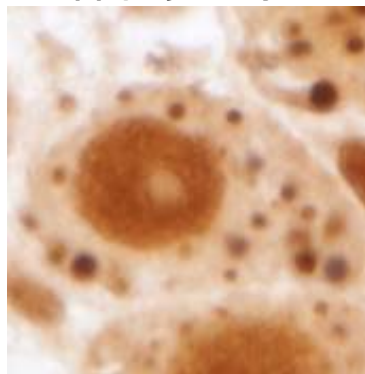


Yoshii et al.
J. Biol. Chem. 286:19630 (2011)



Nakagawa et al.
Science 306:1037 (2004)

異常タンパク質除去
神経変性抑制



Hara et al.
Nature 441:885 (2006)

がんの発生抑制



Takamura et al.
Genes Dev. 25:795 (2011)

オートファジーのヒト疾患病態形成への関与

First Video Report of Static
Encephalopathy of
Childhood With
Neurodegeneration
in Adulthood



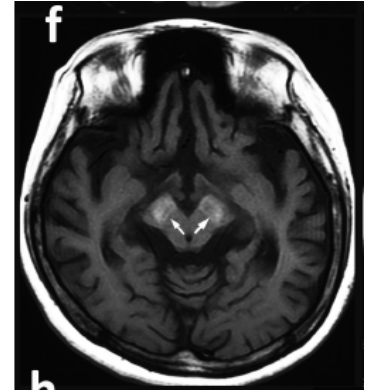
Kasai-Yoshida et al. Mov Disord. 28:397 (2013)

25歳



SENDA/BPAN病

3歳で歩行開始
重症な知的運動障害
発語なし
大脳基底核に鉄が沈着

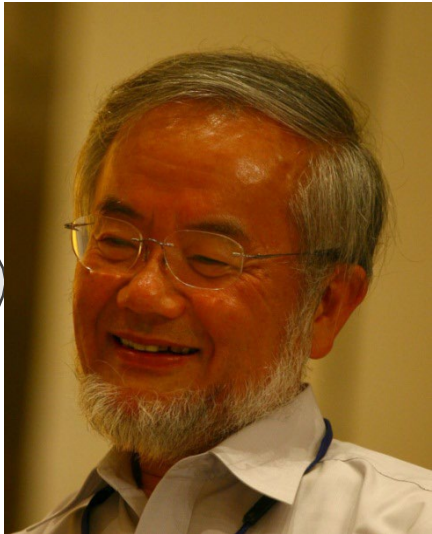


32歳

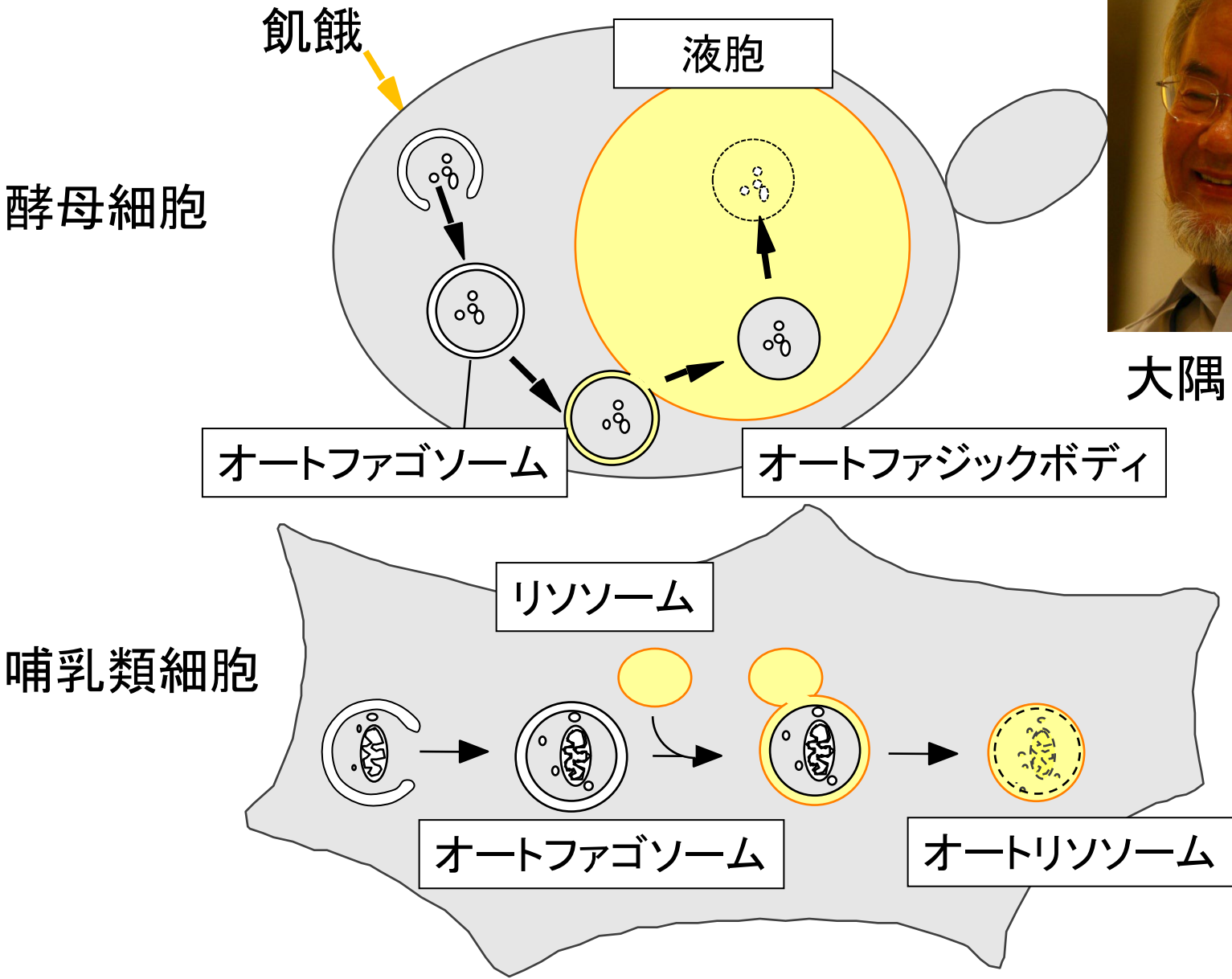


オートファジー遺伝子(WDR45)に変異

Saitsu et al. Nat Genet 2013



大隅良典教授



出芽酵母オートファジー

オートファジー
遺伝子

ATG1

ATG2

ATG3

ATG4

ATG5

ATG6

ATG7

ATG8

ATG9

ATG10

ATG12

ATG13

ATG14

ATG16

ATG17

ATG18

飢餓

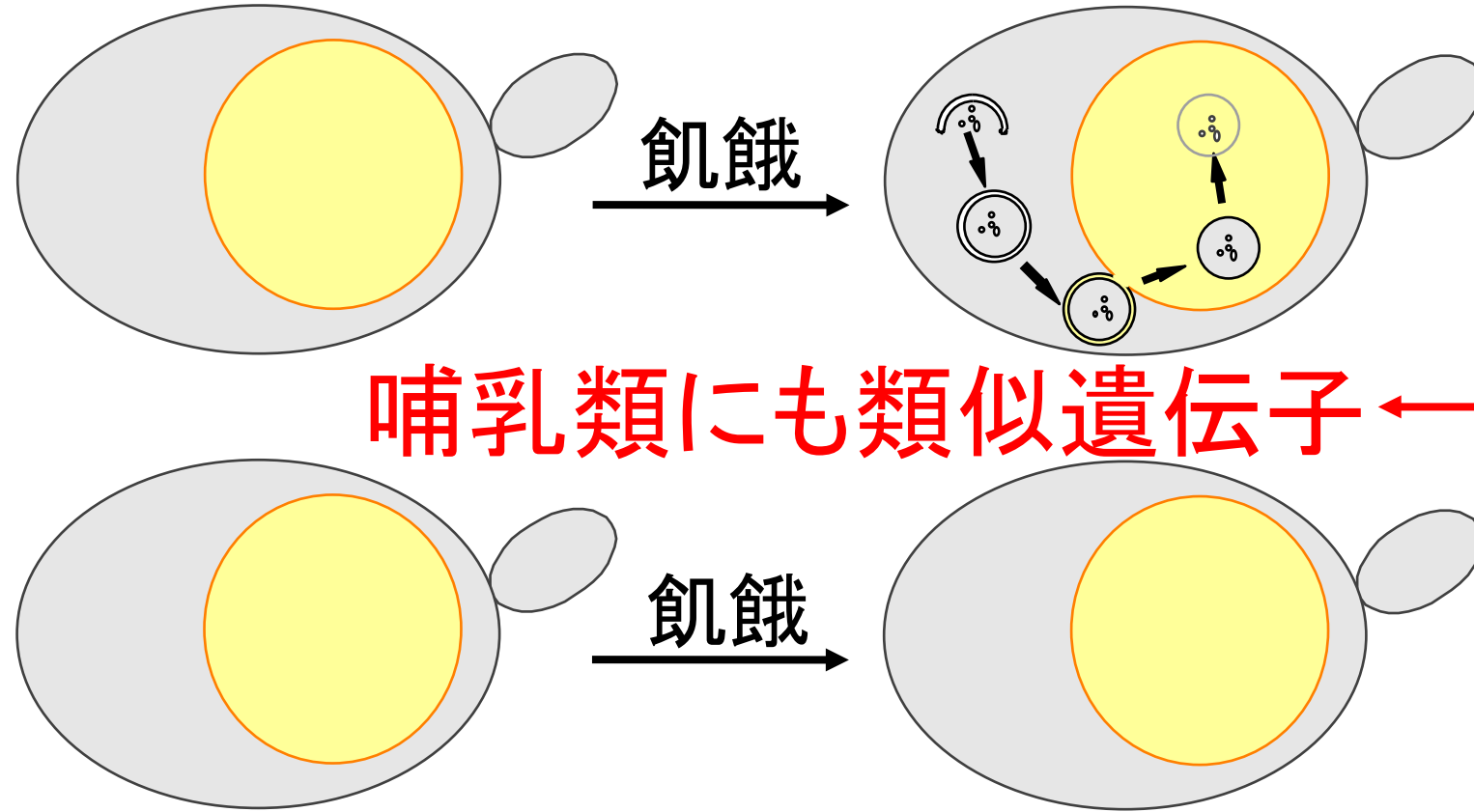
哺乳類にも類似遺伝子

飢餓

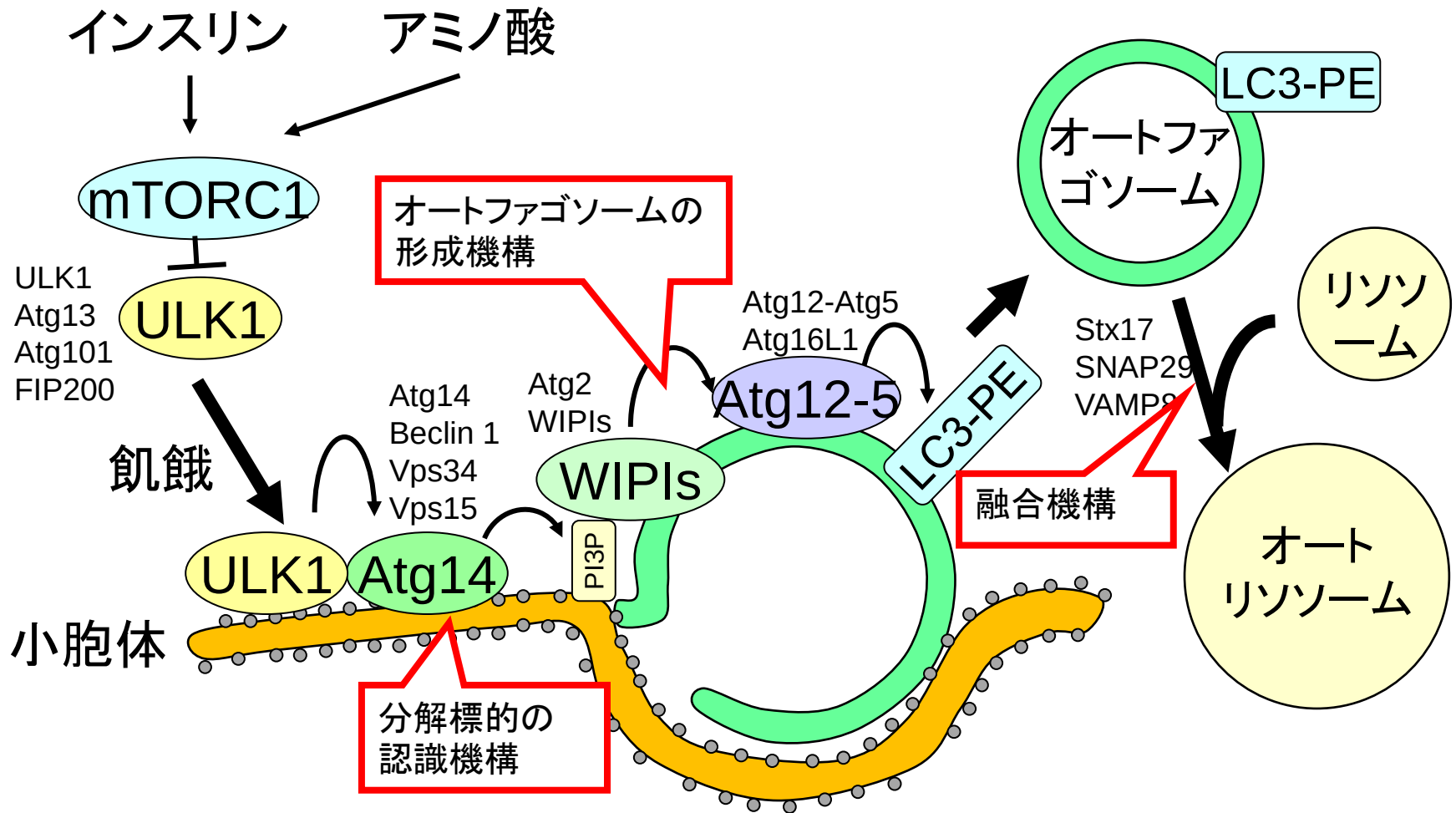
ゲノムにランダム
に変異導入

オートファジー不能変異株15種類

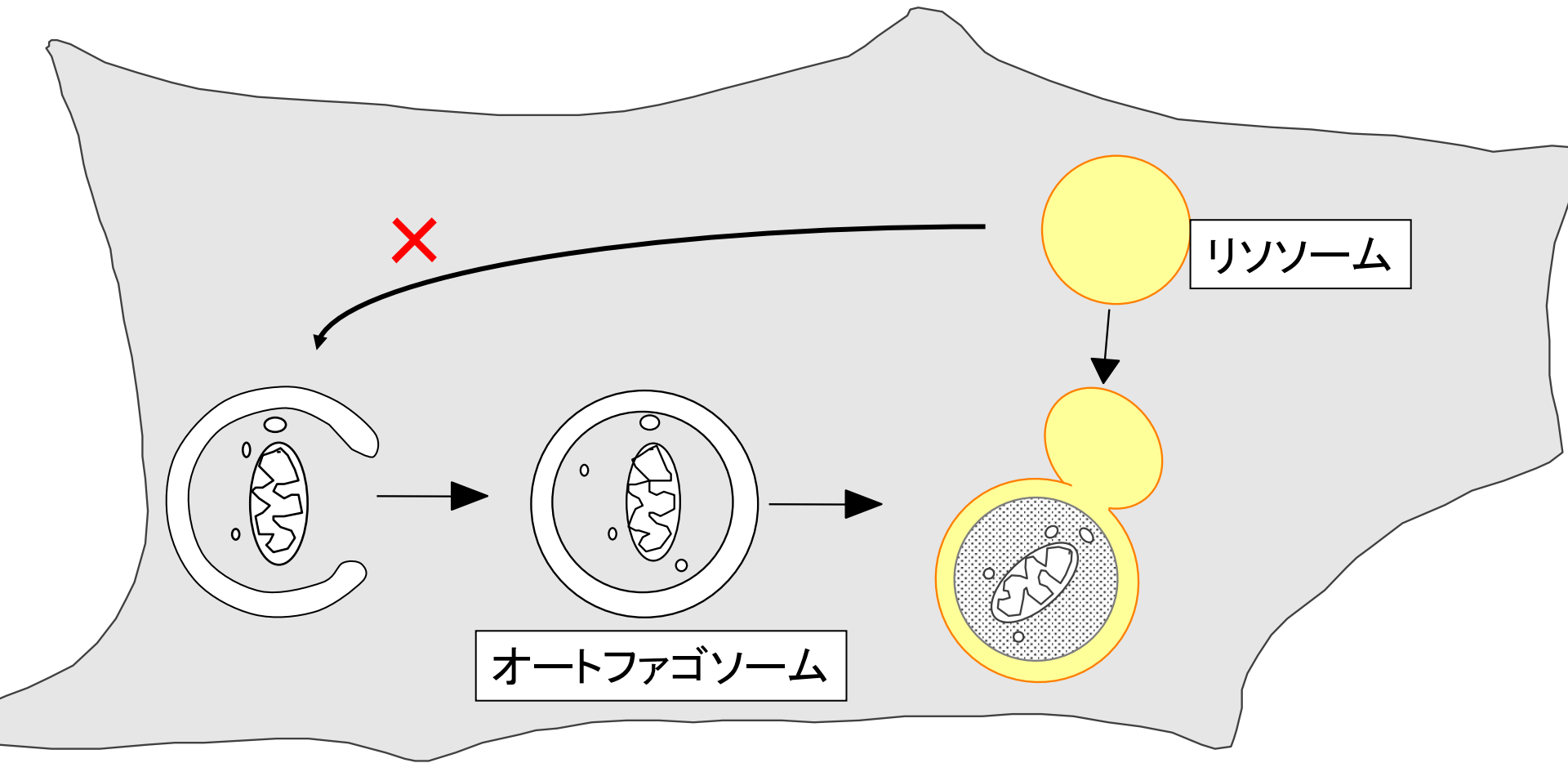
Tsukada & Ohsumi 1993



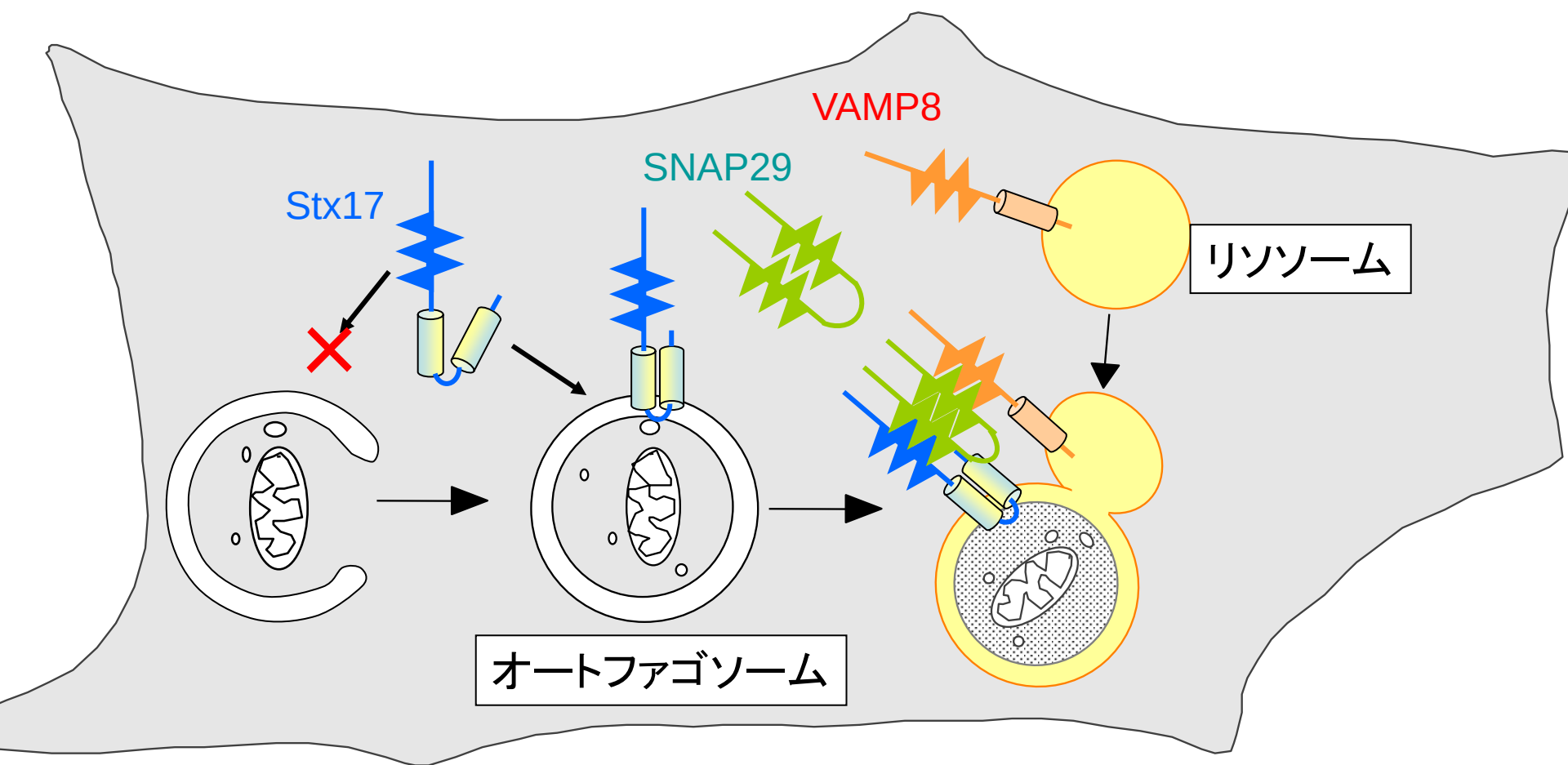
哺乳類でのオートファジーのメカニズム



なぜリソソームは閉じたオートファゴソームとだけ融合できるのか？



シンタキシン17はオートファゴソームとリソソームの融合に必要

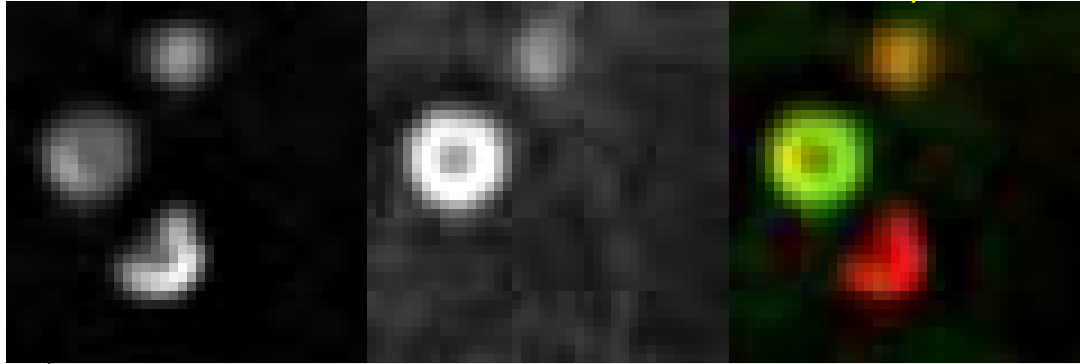


シンタキシン17はオートファゴソームとリソソームの融合に必要

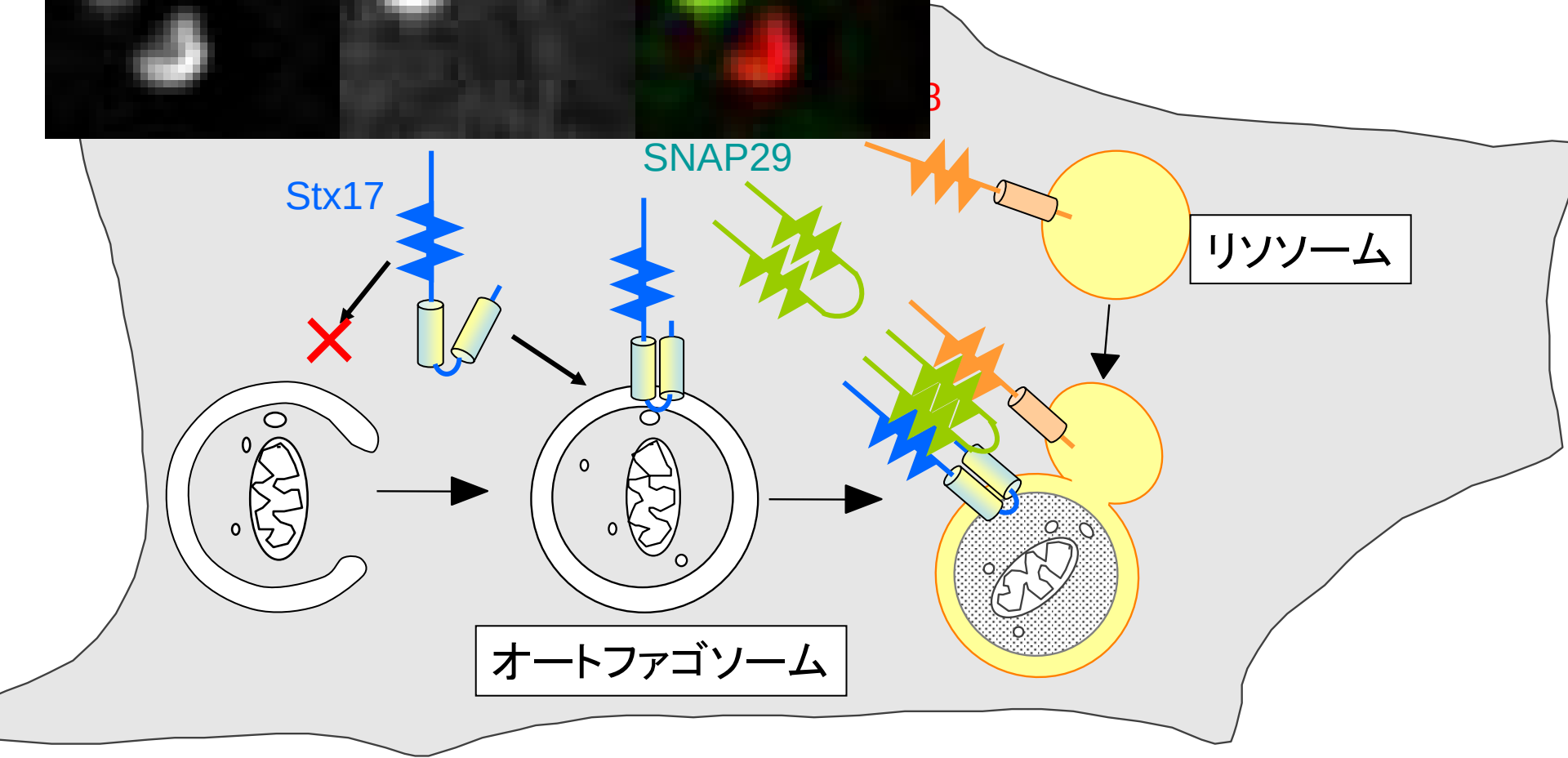
LC3

Stx17

Stx17, LC3

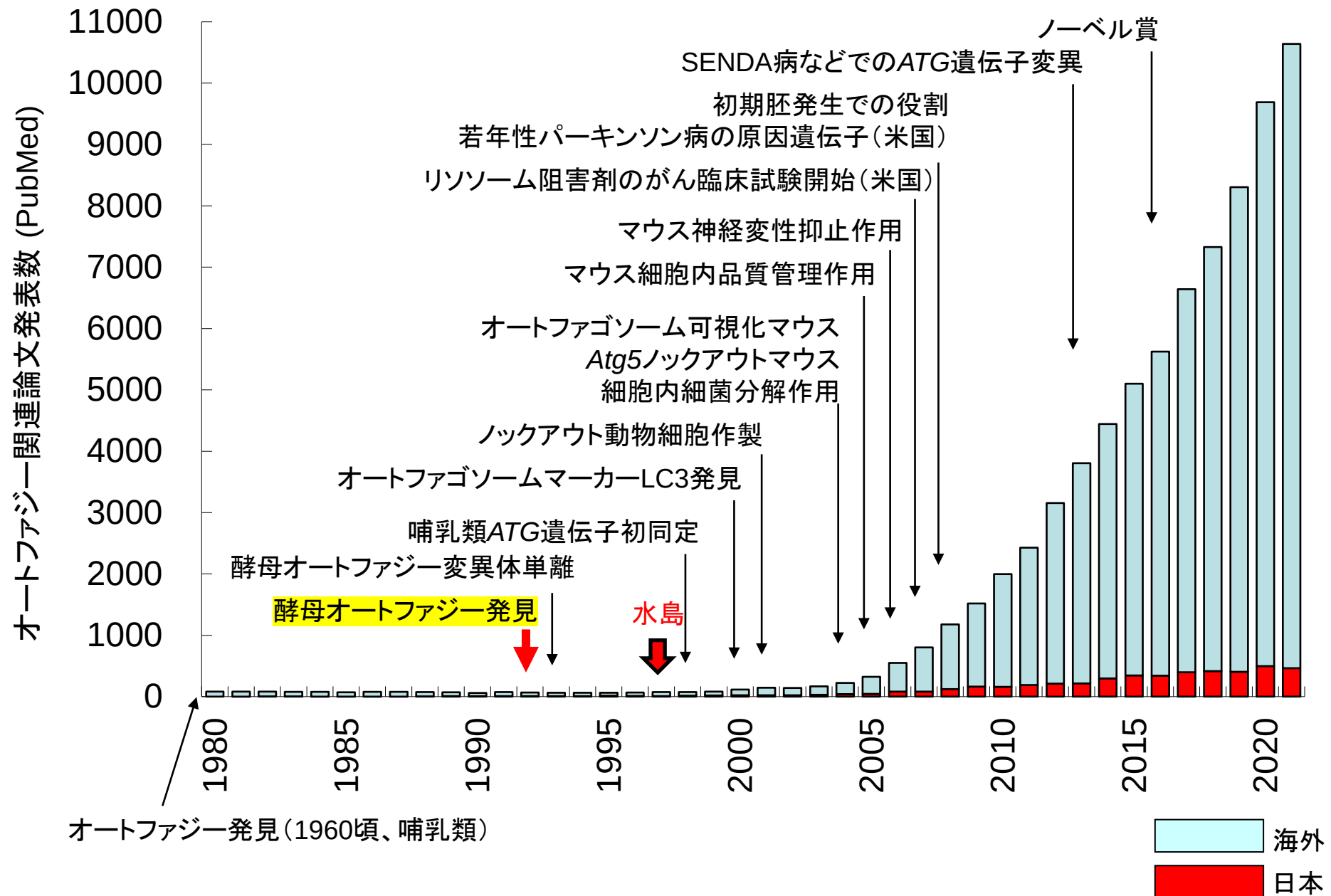


Tsuboyama et al. Science (2016)



Itakura et al. Cell. (2012) 151:1256-69

オートファジー関連論文発表数と主な発見



オートファジー研究の現状と課題

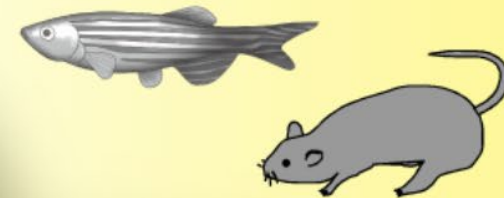
	達成度	コメント
分子機構	50%	- カギとなる分子は同定され、個々の機能が解析されている途中 - オートファゴソーム形成部位、膜の由来、伸長・閉鎖・融合機構などの膜動態に関する主要課題も解明中 - 物理や分子進化などの新しいアプローチの必要性
生理機能	60%	- 酵母やマウスなどでの主要機能の大枠は解明 - 選択的オートファジーの生理機能が解明中 - オートファジー以外の分解系の機能やメカニズムが不明
測定技術	30%	- 酵母では定量的測定系が確立 - 培養動物細胞では複雑でまだ安定しない - 動物や病理標本ではさらに困難 - 生きた人間では現在のところ不可能
疾患病態	5%	- パーキンソン病、SENDA病などで関連遺伝子異常が同定 - それ以外の疾患への関与の可能性はあるが実証困難
治療・制御	5%	- 制御薬スクリーニングは多数進行中だが理想的な特異的薬剤はまだ無い - がんに対してリソソーム阻害剤の臨床治験が実施中 - 神経変性疾患(ALS等)についても臨床試験開始 - 分子基盤に基づいた対象疾患の絞り込みが重要

2017年～

オルガネラ動態解析



生理機能解析

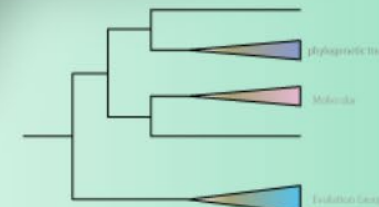


細胞内
分解ダイナミクスを
解明!!



$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D \frac{\partial^2}{\partial x^2} \left(\frac{\delta \mathcal{F}}{\delta \phi} \right) \quad F = \frac{\kappa}{2} \int (C - C_0)^2 dA$$

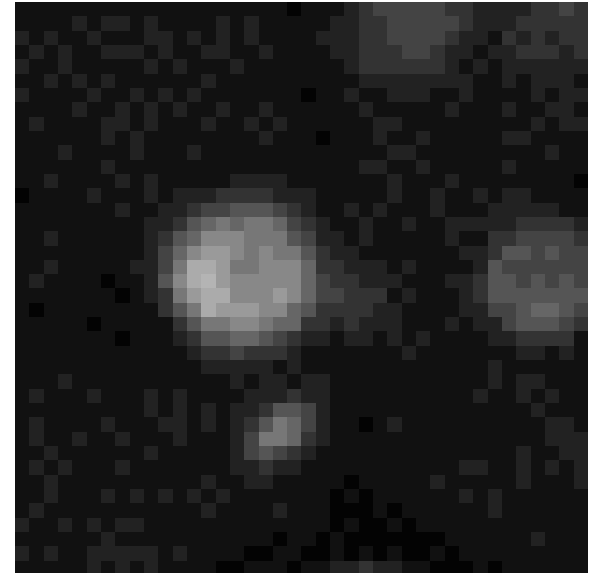
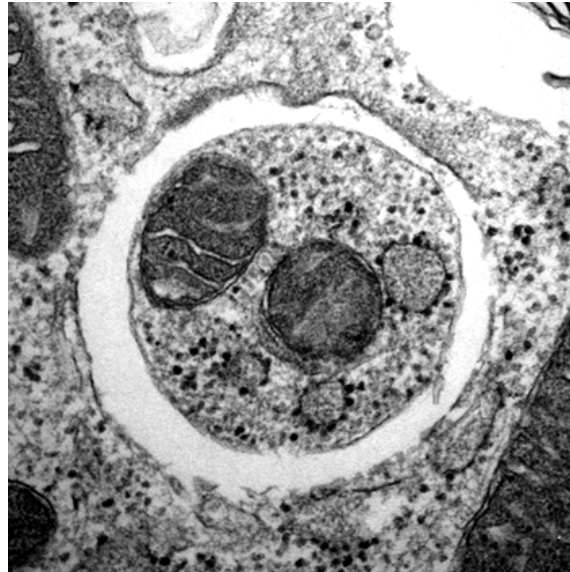
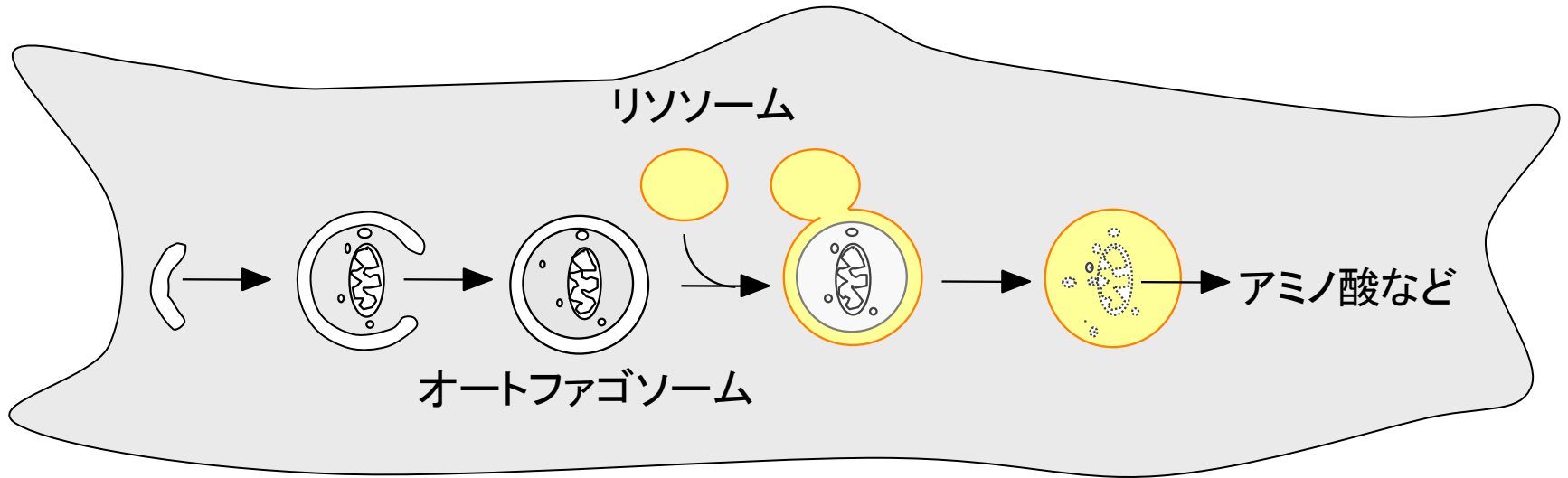
数理モデリング

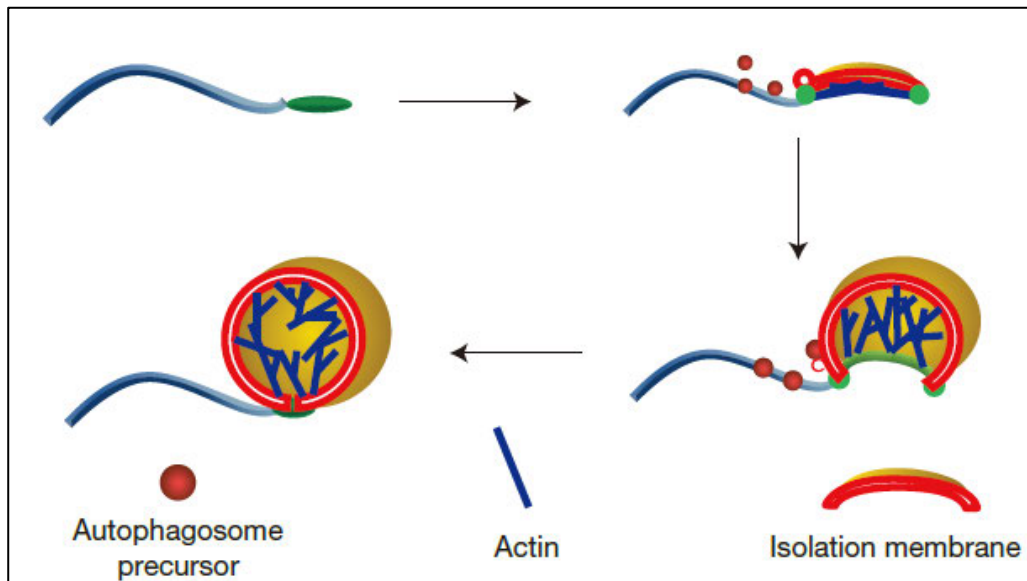


分子・進化

異分野融合・オートファジーを超えて

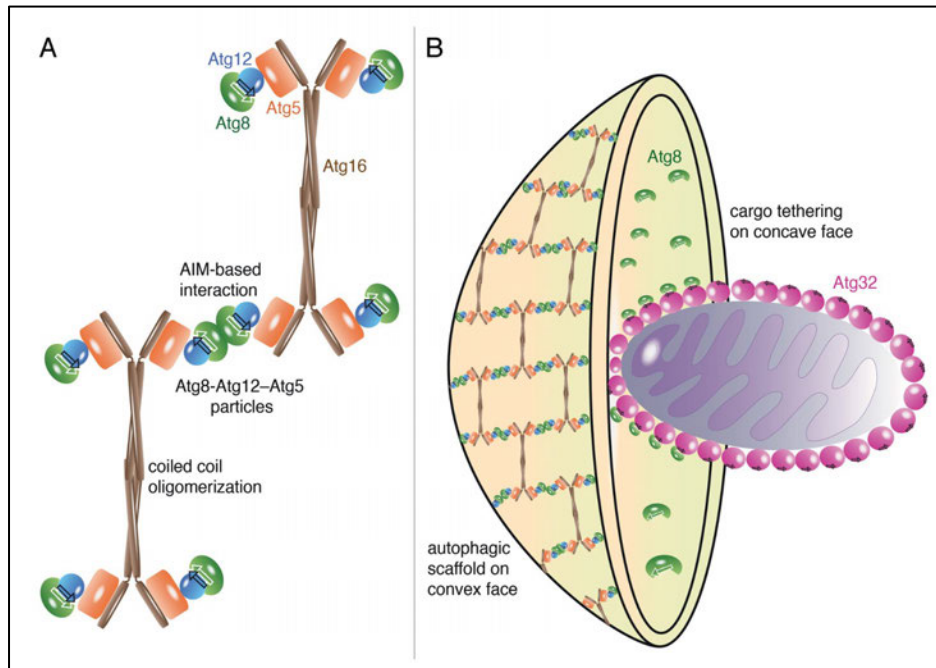
オートファゴソームはなぜ丸くなれる？





内から押す？

Mi et al. Nat Cell Biol 17:1112 (2015)



外から支える？

Kaufmann et al. Cell 156:469 (2014)
Kaufmann et al. Autophagy 10:1343 (2014)

$$[\text{Energy}] = [\text{Curvature}]^2 \times [\text{Area}]$$

energy

rim : ~0

body : +

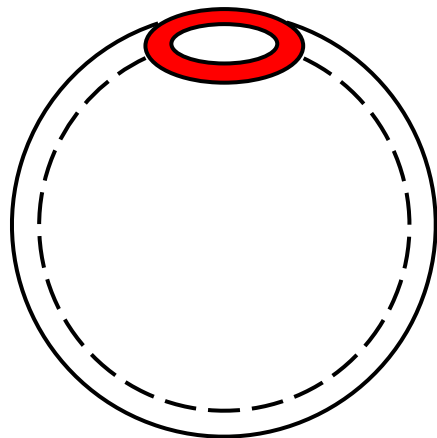
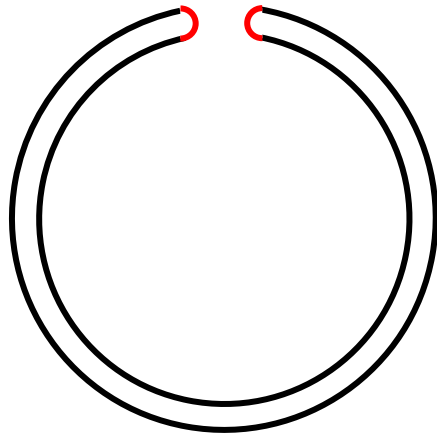
energy

rim : ++

body : 0

縁が長いと高エネルギー

縁を短くした方が安定

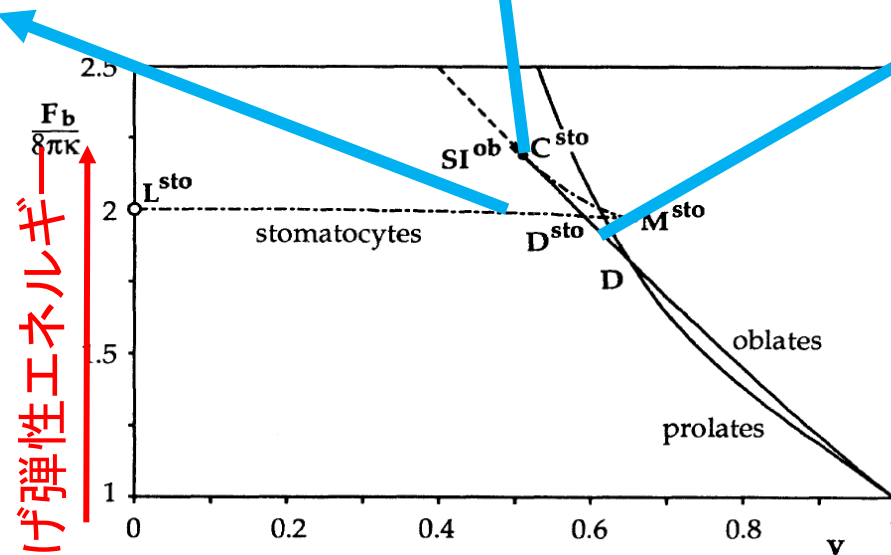
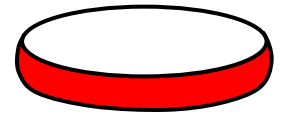
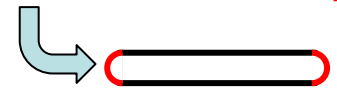


energy

rim : +

body : 0

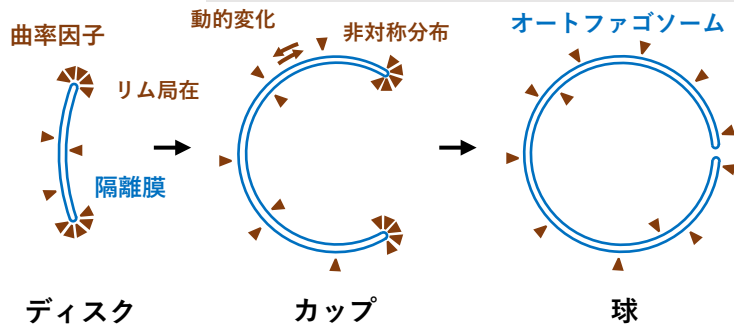
ここにエネルギーが蓄積



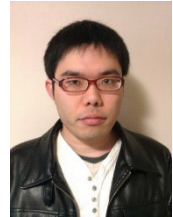
曲げ弾性エネルギー

体積一定のまま表面積を増加

曲率因子による隔離膜の形態変化制御



大学院は素粒子物理学専攻



境 祐二

(2017~22 助教)

(現・京大・特定准教授)

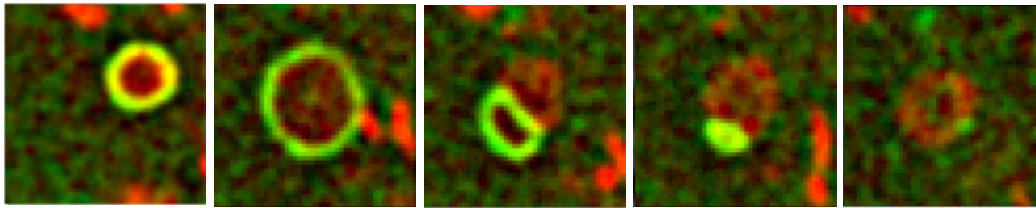
$$E = \frac{\kappa}{2} \int_{\partial A} (J_1 + J_2 - J_0(\phi))^2 dA + k_B T \int_{\partial A} \phi \ln \phi dA$$

膜の形態エネルギー

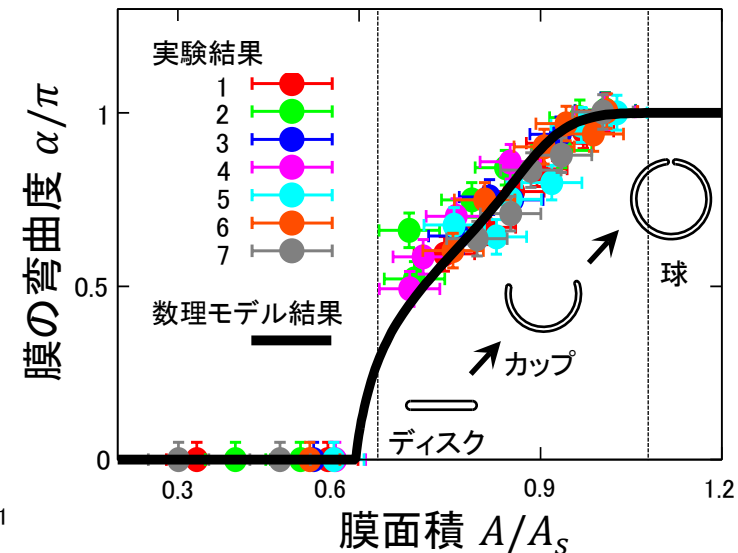
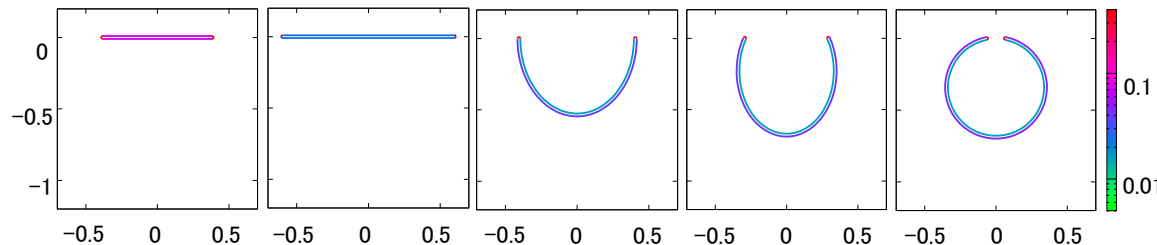
曲率因子の分配エネルギー

曲率因子の動的な分布変化が、隔離膜の形態変化を安定化させる。

細胞内観察



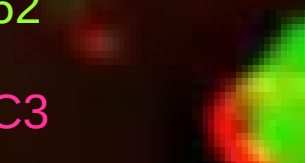
数理モデル計算



Sakai et al. *iScience* 2020

A man with short brown hair and glasses, wearing a red t-shirt and a green lanyard, is smiling and making a peace sign with his right hand. He is standing in front of a wall with a large, abstract mural. To his left, there are whiteboards with some text and diagrams.

Figure 1 is a phase diagram showing the relationship between the sheet radius r_{sh} (in units of r_{rim}) and the surface tension Σ_{cd} (in units of κ/r_{rim}^2). The y-axis ranges from 0 to 30, and the x-axis ranges from 0 to 0.10. A blue shaded region represents the stable state, bounded by a blue curve. A vertical dashed blue line is at $\Sigma_{\text{cd}} = 0.093$. A horizontal dashed orange line is at $r_{\text{sh}} = 10$. A black dot at the top right indicates a small droplet ($R_{\text{drop}} = 20r_{\text{rim}}$). Four states are labeled: A_1 (bottom left), A_2 (bottom right), B (middle left), and C (middle right). Arrows indicate transitions: 'Sheet expansion' from A_1 to B and from A_2 to C ; 'Tension decrease' from C to B ; and 'Sheet expansion' from C to the black dot. Insets show the morphology of states B and C .



p62

LC3

Agudo-Canalejo et al. *Nature* 2021



仕切りを作らない、半年ごとに席替え

オートファジーを超えて

眼の水晶体が透明になる仕組みの解明 ～新たな細胞内分解システムの発見～



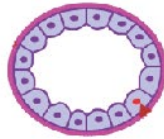
水晶体の細胞小器官は分化の過程で分解される

水晶体



マウス

胎生10.5日



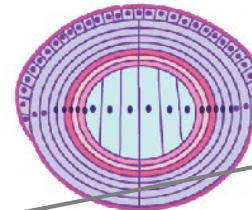
11.5日



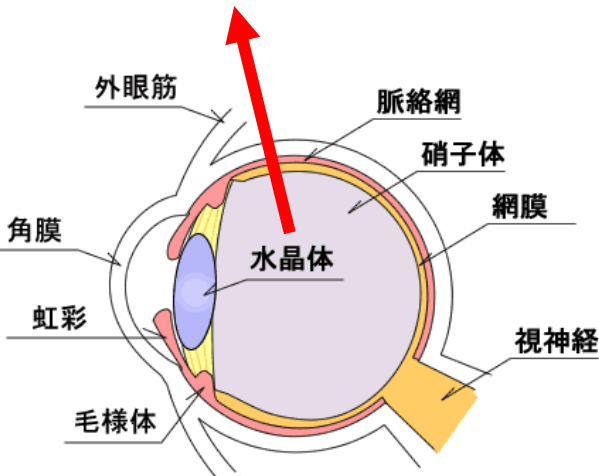
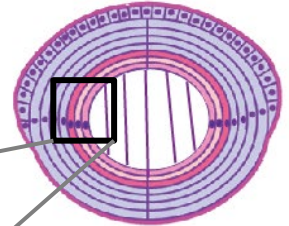
13.5日



17.5日



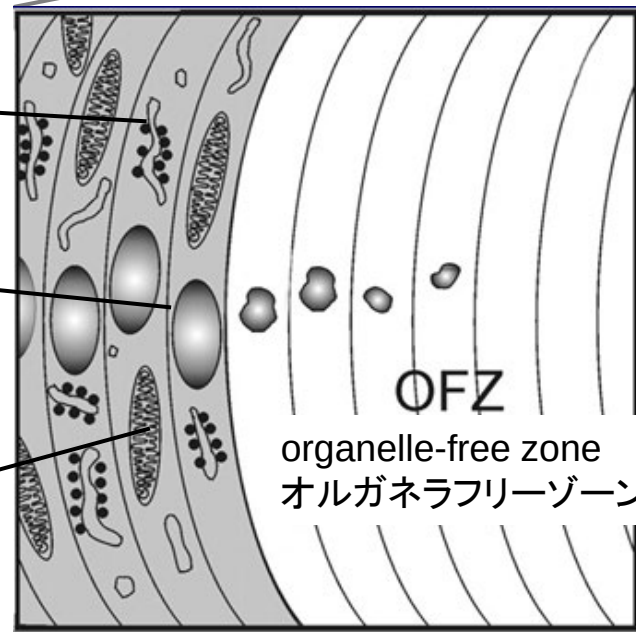
19.5日
(誕生日)



小胞体

核

ミトコンドリア



Zandy et al. JBC 2005

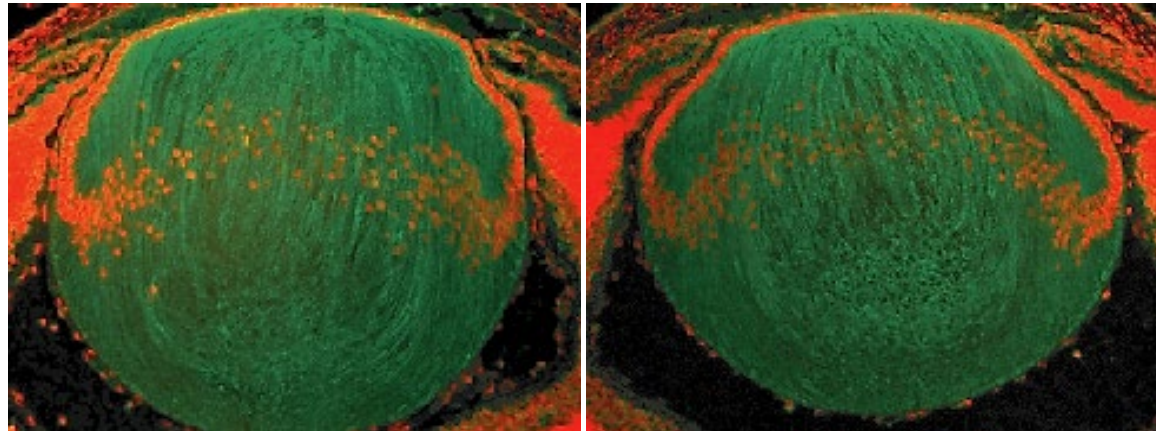
水晶体の小器官分解はオートファジーではない

小胞体
核

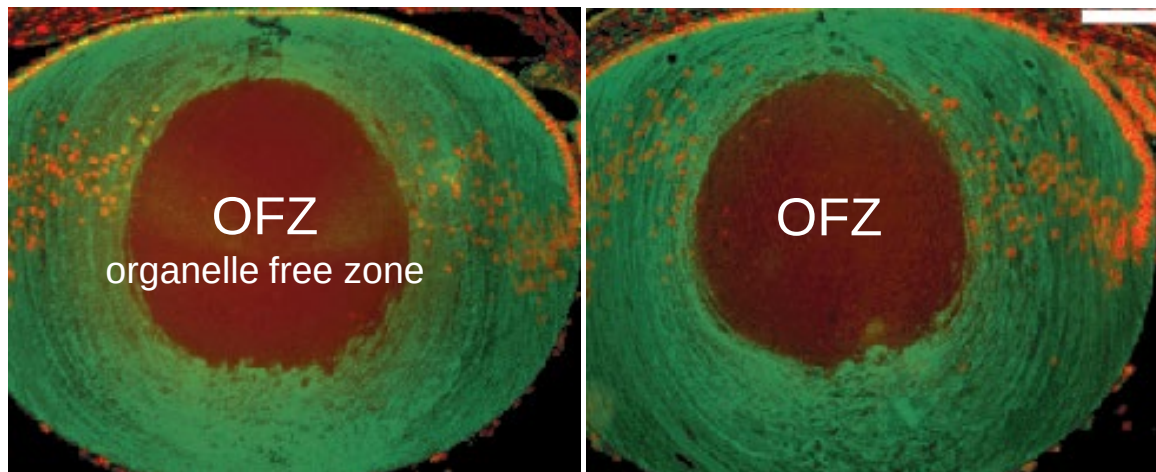
正常

オートファジー不全 (*Atg5* 欠損)

胎生17.5日



胎生19.5日
(出生日)



Bar: 100 um

Matsui et al. *Biochem Biophys Res Commun.* 339:485 (2006)

➡ それではどのようにして分解されているのか？

ゼブラフィッシュ水晶体の細胞小器官分解の可視化

ER-GFP
(小胞体の内腔)

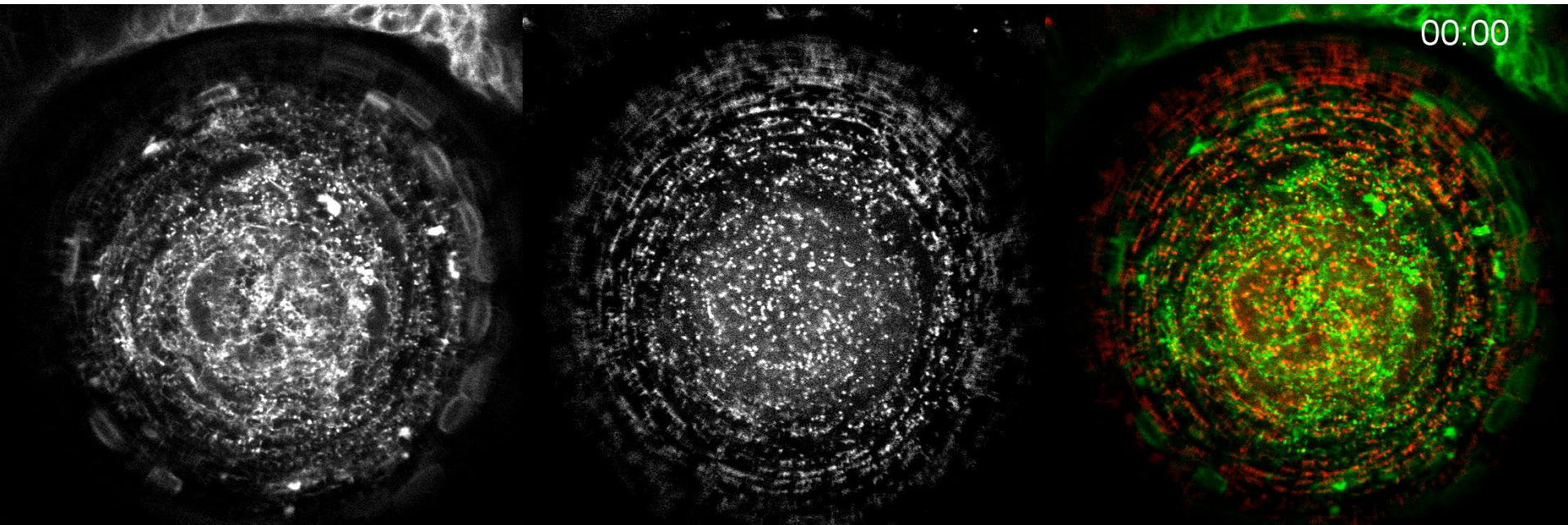


Su9-RFP
(ミトコンドリアの内腔)



受精後60時間から5分毎に撮影

重ね合わせ 時:分



水(麻酔+)



対物レンズ
共焦点顕微鏡



10 μ m

細胞小器官の内腔タンパク質が周囲に拡散
→ 小器官の膜が破けている！

Plaat1はミトコンドリアや小胞体の分解に必要

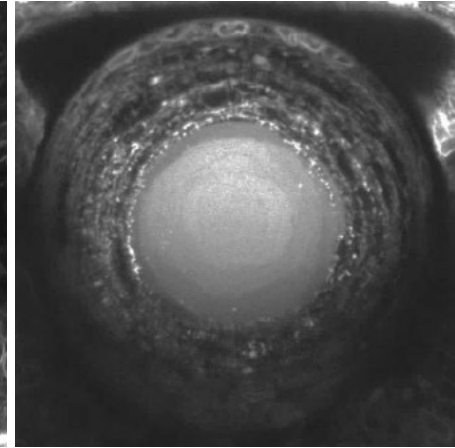
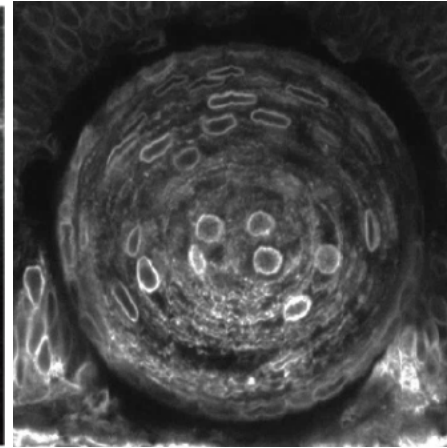
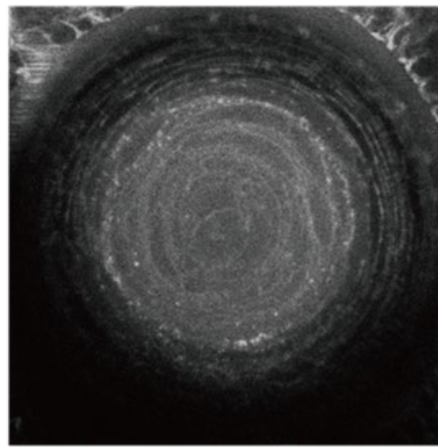
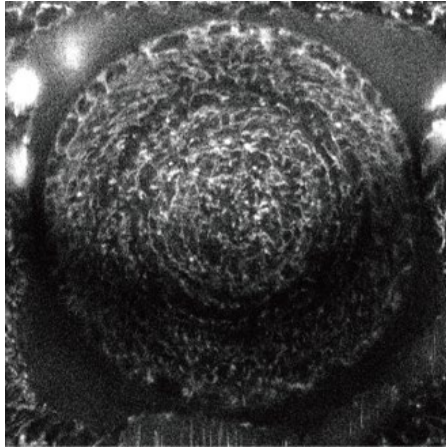
ミトコンドリア (Mito-RFP)

小胞体 (ER-GFP)

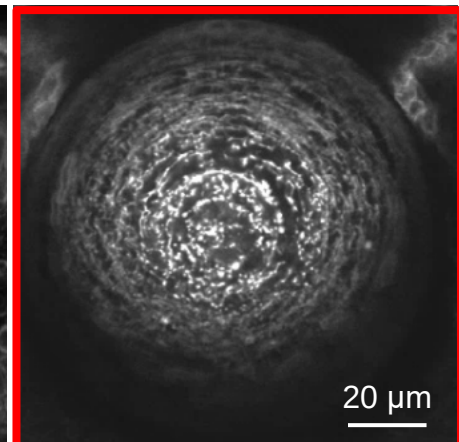
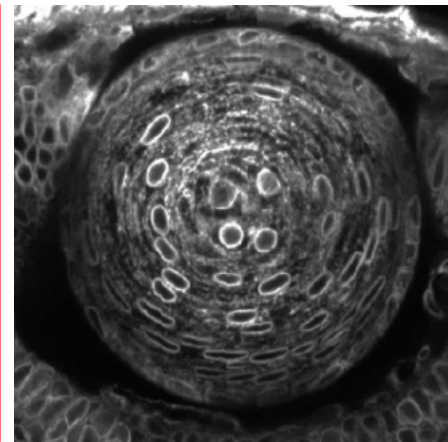
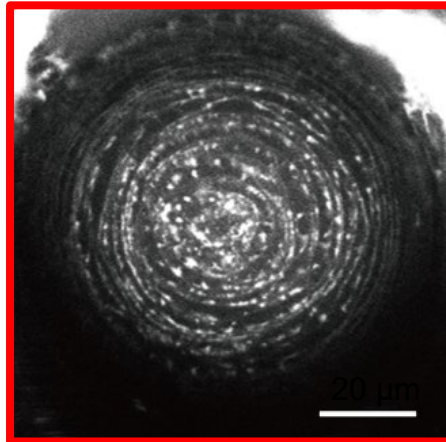
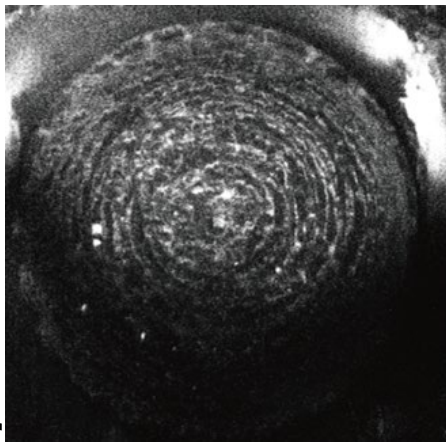
受精後 50 h → 70 h

50 h → 70 h

正常

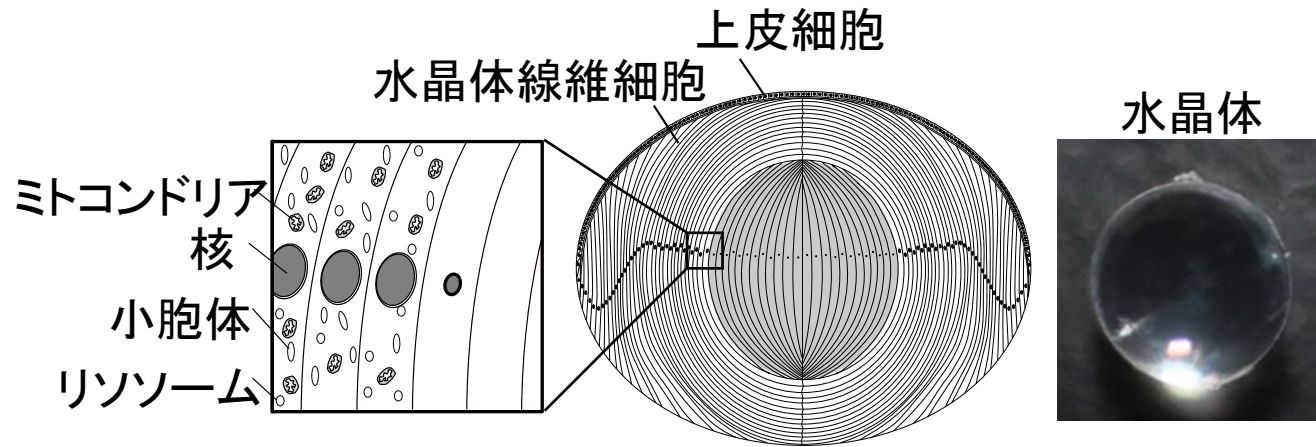


plaat1欠損

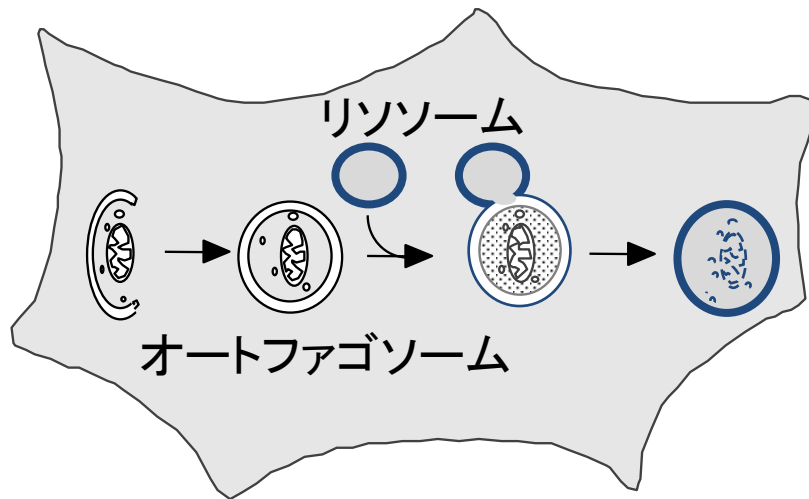


Plaat1 (Phospholipase A and acyltransferase 脂質分解酵素)

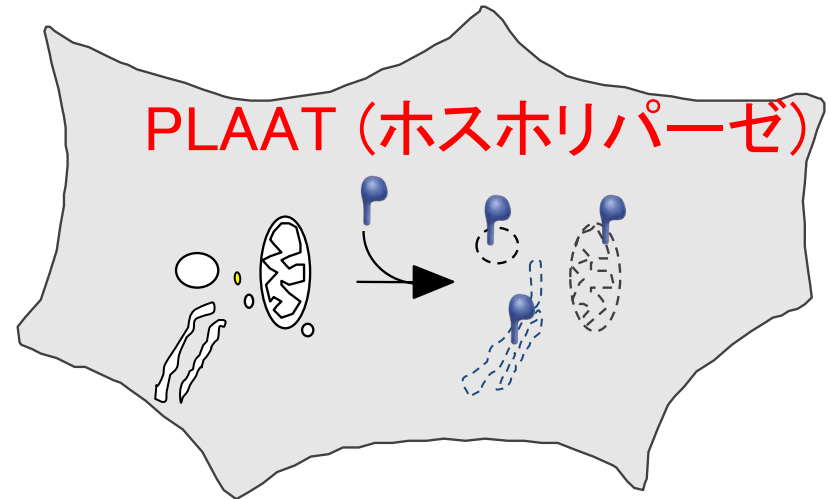
PLAATファミリーリパーゼによる大規模オルガネラ分解



オートファジー



新規オルガネラ分解(本研究)



発生学

免疫学

代謝学

神経科学

微生物学

細胞周期・癌

抗加齢医学

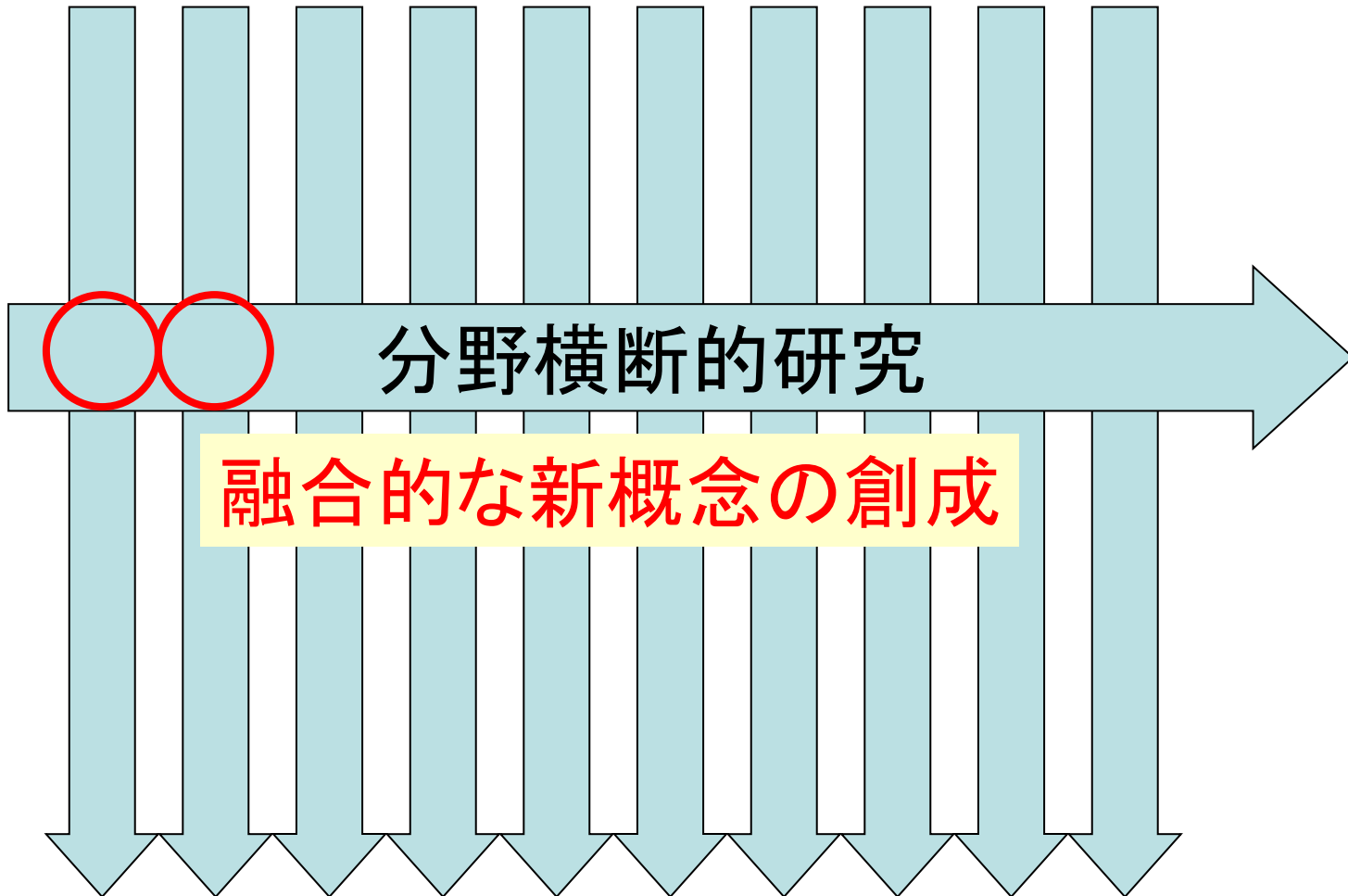
細胞死

.....

細胞内分解

分野横断的研究

融合的な新概念の創成



細胞内分解による細胞・個体機能の制御

細胞・個体機能の制御

