

2022 年7月1日

分野: 生命科学・医学系 キーワード: オートファジー、アンフィソーム、 α -シヌクレイン、リソソーム

オートファジー分解経路を制御する新たな因子を発見 ～栄養状態や分解物により選択、神経変性疾患医療への応用に期待～

【研究成果のポイント】

- ◆ オートファジー※¹の分解過程でできる中間体「アンフィソーム※²」とリソソームの融合を制御する因子として PACSIN1 を同定し、新たなメカニズムを解明
- ◆ オートファジーの分解経路には2経路あることが知られており、その制御メカニズムと経路の役割の違いについては不明であったが、栄養状態や分解物により分解経路を使い分けている可能性を明らかにした
- ◆ 線虫や哺乳類培養細胞を用いた実験により PACSIN1 が神経変性疾患の発症の原因となる異常タンパク質凝集体の蓄積を防いでいると示唆されたことから、オートファジーによる神経変性疾患の予防への応用が期待される

❖ 概要

大阪大学大学院生命機能研究科の大学院生の大江由佳子さん(博士後期課程、研究当時)、大学院医学系研究科の中村修平 准教授(遺伝学/大学院生命機能研究科 細胞内膜動態研究室/高等共創研究院)、吉森保 教授(遺伝学/大学院生命機能研究科 細胞内膜動態研究室)らの研究グループは、オートファジーの過程でできる中間体「アンフィソーム」とリソソームの融合を制御する新たなメカニズムを明らかにしました(図1)。

オートファジーが誘導されると細胞質成分(分解基質)がオートファゴソームにより隔離・輸送され、分解器官であるリソソームと融合することで内容物が分解されます。これまでこの過程には、オートファゴソームがリソソームと直接融合する経路と、アンフィソームと呼ばれる中間体を経たのちリソソームへ融合する2経路あることが知られていましたが、これらの経路を特異的に制御する因子や、2経路が存在する意義については分かっていませんでした。

今回、研究グループは、これまで全く不明であったアンフィソーム・リソソーム融合を制御する新規因子として PACSIN1 を同定しました。PACSIN ファミリータンパク質は細胞内の様々な膜動態に関与することが知られていますが、オートファジーとの関連は分かっていませんでした。PACSIN ファミリータンパク質の網羅的解析から、PACSIN1 がアンフィソーム・リソソーム融合を促進することにより、恒常的に機能する基底オートファジーや特定の分解基質を特異的に認識し除去する選択的オートファジーの一部を制御していることを明らかにしました。

さらに、線虫や哺乳類培養細胞を用いた実験から PACSIN1 がパーキンソン病など神経変性疾患の発症の原因となる異常タンパク質(α -シヌクレイン)凝集体※³の蓄積を防いでいることが分かりました。これにより、オートファジーの分子機構の理解とともに神経変性疾患の発症の予防に新たな知見をもたらすことが期待されます。

本研究成果は、米国科学誌「*PLOS Genetics*」に、7月1日(金)(日本時間)に公開されます。

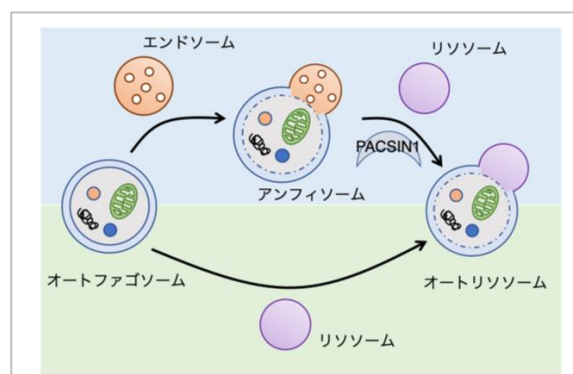


図1: 研究概略図

オートファジーの分解経路は2経路存在する。このうち、PACSIN1 はアンフィソーム・リソソーム間の融合を制御する

Press Release

❖ 研究の背景

オートファジーが誘導されると、オートファゴソームにより隔離された分解基質は最終的にリソソームに運ばれることで分解されます。これまで、オートファジーの分解基質がリソソームへ運ばれる経路には、オートファゴソームが直接リソソームと融合する経路と、オートファゴソームがエンドソームと融合しアンフィソームと呼ばれる中間体構造物を形成した後にリソソームと融合する経路の 2 つの経路が存在することが知られていました。しかしながら、これらの経路を特異的に制御する因子はこれまで知られていなかったため、なぜ2つの経路が存在するのか、これら2つの経路の役割の違いについては分かっていませんでした。

❖ 研究の内容

本研究グループは、*PACSIN1* 遺伝子欠損細胞で基底オートファジー活性が低下していることを見出しました。そこで、活性低下の原因を調べたところ、オートファゴソームとエンドソームのハイブリッド構造体であるアンフィソームとリソソーム間の融合過程が阻害されていることが分かりました(図 2)。具体的には *PACSIN1* は膜融合に必要な SNARE タンパク質の複合体形成に必要なことを見出しました。さらに、*PACSIN1* 遺伝子欠損細胞で見られるオートファジー活性の低下は飢餓により誘導されるオートファジーでは見られなかったことから、オートファジー誘導の刺激や分解基質の違いにより、2つの融合経路に使い分けがあると考えました。そこで、特定の分解基質を特異的に分解する選択的オートファジーにおいて、これらの経路に使い分けがあるかを調べました。その結果、傷害を受けたリソソームを選択的に除去するリソファジーやタンパク質凝集体を選択的に除去するアグリファジーでは *PACSIN1* が必要である一方で、不良ミトコンドリアを選択的に除去するマイトファジーにおいては *PACSIN1* が必要ではないことが分かりました。これは、オートファジーを誘導する刺激や分解基質の違いにより、2つのオートファゴソーム-リソソーム融合経路を使い分けている可能性を示唆しています。

さらに、アンフィソームを経由した融合経路の生理的な役割を明らかにするために、線虫や哺乳類培養細胞を用いて α -シヌクレイン凝集体の蓄積を調べました。 α -シヌクレイン凝集体の蓄積は神経変性疾患の1つであるパーキンソン病の原因となることが知られています。コントロール線虫に対して *PACSIN* 遺伝子欠損線虫では α -シヌクレイン凝集体の蓄積が亢進していました(図 3)。同様の結果が哺乳類培養細胞の実験からも得られました。このことから、アンフィソームを経由したオートファジー経路がタンパク質凝集体の蓄積を防いでいることが分かりました。

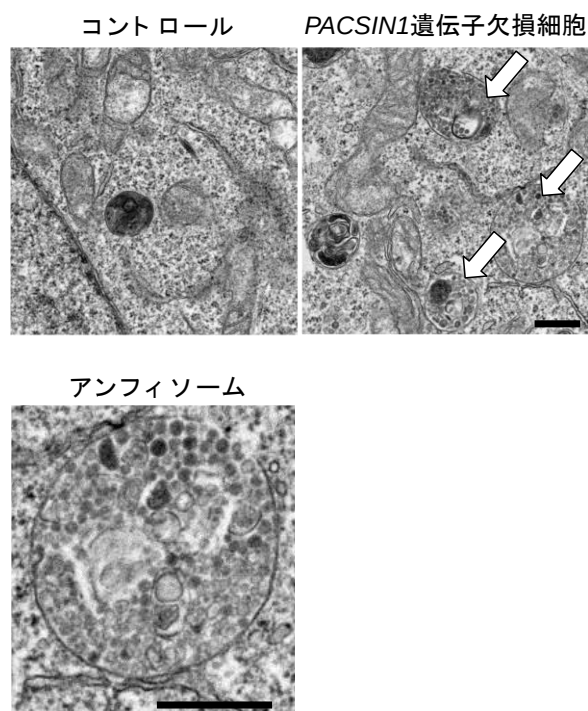


図 2: *PACSIN1* 遺伝子欠損細胞ではアンフィソームが蓄積する

上: 電子顕微鏡による細胞の超微細構造。コントロール細胞と比較して *PACSIN1* 遺伝子欠損細胞ではアンフィソーム(矢印)が蓄積している。

下: 蓄積しているアンフィソームの超微細構造。スケールバー、500nm。

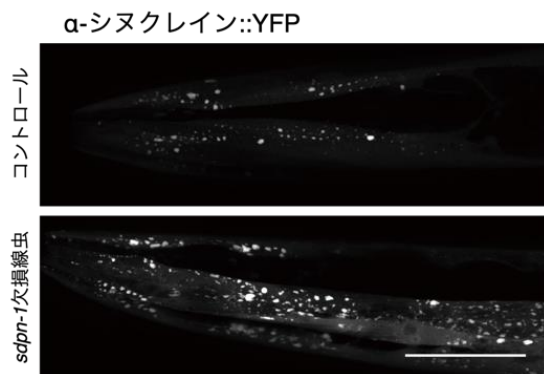


図 3: *PACSIN* 遺伝子欠損線虫では加齢に伴う α -シヌクレイン凝集体の蓄積が増悪する

コントロール(上)と比較し、*PACSIN* の線虫ホモログである *sdpn-1* 欠損線虫(下)では α -シヌクレイン凝集体の蓄積が亢進する。スケールバー、50 μ m。

❖ 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

近年、オートファジーによる細胞内の不要物のクリアランスが神経変性疾患などの発症の抑止に働いていることが明らかとなってきています。

本研究は、分解基質によりオートファジー経路に使い分けがある可能性を示唆したものであり、今後これらの経路の役割の違い、制御メカニズムをさらに詳細に解析することで神経変性疾患をはじめとするオートファジー関連疾患の治療、および予防に新たな知見をもたらすことが期待されます。

❖ 特記事項

本研究成果は、2022 年 7 月 1 日(金)(日本時間)に米国科学誌「*PLOS Genetics*」(オンライン)に掲載されます。

タイトル: “PACSN1 is indispensable for amphisome-lysosome fusion during basal autophagy and subsets of selective autophagy”

著者名: Yukako Oe¹, Keita Kakuda², Shin-ichiro Yoshimura³, Naohiro Hara⁴, Junya Hasegawa⁵, Seigo Terawaki⁶, Yasuyoshi Kimura², Kensuke Ikenaka², Shiro Suetsugu^{7,8,9}, Hideki Mochizuki², Tamotsu Yoshimori^{1, 4, 10*} and Shuhei Nakamura^{1, 4, 11*} (*責任著者)

所属:

1. 大阪大学 大学院生命機能研究科 細胞内膜動態学
2. 大阪大学 大学院医学系研究科 神経内科学
3. 大阪大学 大学院医学系研究科 細胞生物学
4. 大阪大学 大学院医学系研究科 遺伝学
5. 東京医科歯科大学 難治疾患研究所
6. 川崎医科大学 分子遺伝医学教室
7. 奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学
8. 奈良先端科学技術大学院大学 データ駆動型サイエンス創造センター
9. 奈良先端科学技術大学院大学 デジタルグリーンイノベーションセンター
10. 大阪大学 先導的学際研究機構 生命医科学融合フロンティア研究部門
11. 大阪大学 高等共創研究院

<https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1010264>

本研究は、科学技術振興機構(JST) 戦略的創造研究推進事業 CREST 研究領域「細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の創出」における研究課題「オートファジーによる細胞外微粒子応答と形成」(研究代表者: 吉森保)「JPMJCR17H6」、文部科学省 学術変革領域研究 B「TFEB 依存的・非依存的ポストリソソームシグナルによる個体および生殖寿命制御機構」(研究代表者: 中村修平)「21H05145」、日本学術振興会 基盤研究 B「LC3 による非オートファジー機能を介した損傷リソソーム修復機構の解明」(研究代表者: 中村修平)「21H02428」のサポートを受けて実施されました。

❖ 用語説明

※1 オートファジー

細胞の自己分解システム。細胞内のタンパク質や細胞小器官を二重膜構造体(オートファゴソーム)で包み込み、内部に消化酵素を含むリソソームへと輸送することで隔離した内容物を分解する。オートファゴソ

Press Release

ームがリソソームと融合する経路は、直接リソソームと融合する経路と、エンドソームと融合しアンフィソームと呼ばれる中間体構造物を形成したのちにリソソームと融合する経路の2経路が存在する。また、オートファジーは恒常的に機能する基底オートファジーや、特定の分解基質を特異的に認識し除去する選択的オートファジーなどがある。近年、オートファジーによる細胞内浄化作用が神経変性疾患をはじめ、様々な疾患の発症を抑止していると考えられている。

※2 アンフィソーム

オートファゴソームとエンドソームが融合してできるハイブリッド構造体。さらに、リソソームと融合することでリソソームの加水分解酵素により中身の分解を受ける。

※3 α -シヌクレイン

中枢神経において豊富に存在するタンパク質。神経変性疾患であるパーキンソン病やレビー小体型認知症などにおいて繊維状凝集体を蓄積することが知られている。

【大江由佳子さんのコメント】

今回、アンフィソーム・リソソーム融合を制御する因子を見つけたことが、長年不明であった分解経路が2経路存在する意義についての理解につながりました。今後の研究で経路の選択を制御している因子が明らかとなれば、分解経路の選択という新たな視点からオートファジーの理解が深まることが期待されます。

❖ 参考 URL

大阪大学 大学院医学系研究科 遺伝学/生命機能研究科 細胞内膜動態学
<http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/yoshimori/jp/>

❖ 本件に関する問い合わせ先

<研究に関すること>

吉森 保(よしもり たもつ)

大阪大学 大学院医学系研究科 遺伝学/生命機能研究科 細胞内膜動態学 教授

TEL:06-6879-3588 FAX:06-6879-3589

E-mail: tamyoshi@fbs.osaka-u.ac.jp

中村 修平(なかむら しゅうへい)

大阪大学 大学院医学系研究科 遺伝学/生命機能研究科 細胞内膜動態学/高等共創研究院 准教授

TEL:06-6879-3588 FAX:06-6879-3589

E-mail: shuhei.nakamura@fbs.osaka-u.ac.jp

<報道に関すること>

大阪大学 大学院医学系研究科 広報室

TEL: 06-6879-3387 FAX: 06-6879-3399

E-mail: medpr@office.med.osaka-u.ac.jp

科学技術振興機構 広報課

TEL: 03-5214-8404 FAX: 03-5214-8432

E-mail: jstkoho@jst.go.jp

<JST 事業に関すること>

保田 睦子(やすだ むつこ)

科学技術振興機構 戦略研究推進部 ライフイノベーショングループ

TEL: 03-3512-3524 FAX: 03-3222-2064

E-mail: [crest\[at\]jst.go.jp](mailto:crest[at]jst.go.jp)