

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15367

研究課題名（和文）新たに発見した細胞内タンパク質分解経路の制御機構の解明

研究課題名（英文）Studies on regulatory mechanisms of newly identified intracellular proteolytic pathway

研究代表者

藤原 悠紀 (Fujiwara, Yuuki)

大阪大学・大学院連合小児発達学研究所・助教

研究者番号：90794925

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：リソソームは細胞内最大の物質分解の場であり、生体高分子のリソソーム分解の破綻は多くの疾患の原因となることが知られている。採用者（藤原悠紀）はこれまで、核酸やタンパク質をリソソームが内腔へと直接運び込み分解する新たな仕組みDUMPを発見し、報告してきた。本研究課題において採用者はDUMPまたはその重要因子SIDT2の神経変性疾患との関わりを示唆するデータについて筆頭著者として原著論文を2022年に1報発表した他、核酸の取り込みにおける重要ファクターのLAMP2CとSIDT2が共に自然免疫応答反応の下流として惹起されること等を見出し、現在筆頭著者および共責任著者として論文を投稿中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題は採用者らが独自に発見・報告してきた新たな細胞内分解経路について、その制御機構や生理的・病態生理的意義を明らかにし、研究を一步伸展させる試みである。このような未開拓の対象について、世界に先駆けそれらを解明する事は、細胞内分解系に関する基礎研究の土台を築く上でも、将来的な医療等への応用を通じた研究の社会への還元のためにも不可欠である。今回の研究でDUMP/SIDT2と神経変性疾患の関わりが示唆されたのに加え、採用者らはDUMPの破綻が家族性神経・筋疾患をもたらすことも見出している。このような観点からも本課題の成果は医学的に見ても将来的に広範な疾患の理解に向けた手がかりとなりうる。

研究成果の概要（英文）：Lysosomes are the largest site of degradation of intracellular substances, and disruption of lysosomal degradation of macromolecules is known to cause various diseases. The recipient (Yuuki Fujiwara) has previously discovered and reported DUMP, a novel mechanism by which lysosomes directly import nucleic acids and proteins into their lumen for degradation. In this research project, the recipient has published one original paper in 2022 as first author on data suggesting that DUMP or its key factor SIDT2 is involved in neurodegenerative diseases, and has also found that LAMP2C and SIDT2, key factors in nucleic acid uptake, are both induced as downstream components of innate immune responses, and currently submitting papers as first and co-corresponding author.

研究分野：生化学

キーワード：細胞内分解 細胞内恒常性 細胞内代謝 リソソーム オートファジー 非典型オートファジー DUMP
プロテオスタシス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

タンパク質は細胞の構造や機能を支える重要な生体高分子であり、その合成と分解のバランスは生体の恒常性において厳密に制御される必要がある。リソソームは細胞内最大の物質分解の場であり、タンパク質をはじめとする生体高分子のリソソーム分解の破綻は多様な疾患の原因となる。このことからリソソームにおける分解システムの理解は医学的にも重要な課題である。

採用者(藤原悠紀)らは「リソソームが核酸を直接取り込み、分解する」という新規オートファジー経路を発見・報告し(Fujiwara et. al., Autophagy, 2013a, Fujiwara et. al., Autophagy, 2013b)、これまでその分子メカニズムおよび生理的意義を解明してきた。これまで2種類のリソソーム膜タンパク質、LAMP2C および SIDT2 をこの新規経路の重要因子として報告している。この研究の過程において、申請者は最近、核酸だけでなくタンパク質のリソソームへの直接取り込み・分解を SIDT2 が担うことを発見し、このようなリソソームによる高分子の直接取り込み経路を "direct-uptake-via/through-membrane-protein" (DUMP) と名付け、報告している(Fujiwara et. al., bioRxiv, 2021)。

2. 研究の目的

本研究課題では生体における DUMP の制御機構の解明ならびにその生理的・病態生理的意義の解明を主目的とする。

3. 研究の方法

採用者らはこれまでの研究で *in vitro* から細胞レベルでの解析、動物個体レベルの解析まで、DUMP に関わる研究の手法やノウハウを蓄積してきている。これらを用いて DUMP 活性あるいは SIDT2 等の DUMP の重要因子の発現レベル等を変動させる因子を探ると共に、多様な疾患患者サンプルあるいは疾患モデル動物等における DUMP/SIDT2 等のレベル等を検討し、疾患と DUMP/SIDT2 等の関係も探る。

4. 研究成果

まず採用者はパーキンソン病およびレビー小体型認知症患者の死後脳等を用いて DUMP/SIDT2 の神経変性疾患との関わりを示唆するデータを得、2022 年に筆頭著者として原著論文を1報発表している。この研究において採用者らはパーキンソン病およびレビー小体型認知症患者の死後脳において SIDT2 のタンパク質量が増加していることを見出した。

パーキンソン病とレビー小体型認知症はいずれも α -synuclein タンパク質の蓄積が見られるレビー小体病であるが、いずれの疾患例においても SIDT2 の増加はレビー小体病理の出現しやすい前帯状皮質では見られたものの出現しにくい下前頭回では見られなかった。さらに対照群も含めた全例において前帯状皮質の α -synuclein タンパク質量と SIDT2 タンパク質量が良く相関する($r_s = 0.858$)ことがわかった。この他にも両疾患患者脳ではリン酸化 α -synuclein の凝集物と SIDT2 の共同在が見られた。

これらの結果からレビー小体病の病態において DUMP/SIDT2 の活性が低下することで神経細胞内 α -synuclein が蓄積する可能性と、病態形成過程において α -synuclein の蓄積に SIDT2 あるいはそれを含むリソソームがトラップされることで DUMP 等の細胞内分解系に機能異常が起こる可能性の双方が考えられたが、採用者はさらに SIDT2 のノックアウトマウスの脳において α -synuclein タンパク質が蓄積していることを見出した。 α -synuclein タンパク質は DUMP の基質となることを採用者は既に見出していることから、DUMP/SIDT2 の機能低下が α -synuclein の蓄積やレビー小体病の病態形成に関わることが示唆された(Fujiwara et. al., Neurochem. Intl., 2022)。

また採用者らは核酸の取り込みにおける重要ファクターの LAMP2C と SIDT2 が共に自然免疫応答反応の下流として選択的に惹起されること、そしてそれらがウイルス由来分子の分解を通じてウイルス増殖に抑制的に働きうることを見出し、筆頭著者および共責任著者として現在論文を投稿中である(Fujiwara et al., RNA Biol., under review)。

採用者はこれらの成果について上記2報の論文を執筆した他、採用期間中、第30回日本病態生理学会大会、Neuro2022(第45回日本神経科学大会/第65回日本神経化学学会大会/第32回日本神経回路学会大会 合同大会)、The joint meeting of the International Society for Neurochemistry and the Asian Pacific Society for Neurochemistry (ISN-APSN2022)、第31回日本病態生理学会大会(招待: ビジヨナリーシンポジウム)、第49回日本脳科学会、日本生理学会第100回記念大会、第2回日本医学会連合 Rising Star リトリート(招待: 日本解剖学会推薦)などで DUMP に関わる研究成果について精力的に発表を行った他、2023年6月の17th Meeting

of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry (APSN2023) (Invited Young Investigators' Colloquium)での招待講演も決まっている。さらに採用者は採用期間中に、日本病態生理学会、日本神経化学会、日本脳科学会からそれぞれ奨励賞を受賞している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fujiwara Yuuki, Kabuta Chihana, Sano Terunori, Murayama Shigeo, Saito Yuko, Kabuta Tomohiro	4. 巻 152
2. 論文標題 Pathology-associated change in levels and localization of SIDT2 in postmortem brains of Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies patients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurochemistry International	6. 最初と最後の頁 105243 ~ 105243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuint.2021.105243	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sho Shikada, Ko Miyoshi, Sarina Han, Zhuoma Yinsheng, Yuanyuan Qin, Yuuki Fujiwara, Takeshi Yoshimura, Taiichi Katayama	4. 巻 51
2. 論文標題 Elongation of primary cilia by expression of serotonin receptor type 6 is mediated by cyclin-dependent kinase 5	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Brain Science	6. 最初と最後の頁 26 ~ 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤原悠紀, 株田智弘	4. 巻 73
2. 論文標題 (総説) リソソームによる高分子の新たな取り込み機構	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 212 ~ 215
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤原悠紀, 西野一三, 和田圭司, 野口悟, 株田智弘
2. 発表標題 リソソームを介した新たな細胞内分解システム DUMP の破綻を原因とする進行性神経・筋疾患
3. 学会等名 第30回 日本病態生理学会大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

2022年1月 日本病態生理学会 奨励賞
2022年7月 日本神経化学会 奨励賞
2022年12月 日本脳科学会 奨励賞

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------