

平成 30 年 5 月 16 日現在

機関番号：14401

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2013～2017

課題番号：25111002

研究課題名(和文)オートファジーの膜動態：分子機構と疾患との関わり

研究課題名(英文)Membrane dynamics in autophagy: its molecular machinery and linkage to diseases

研究代表者

吉森 保 (YOSHIMORI, TAMOTSU)

大阪大学・生命機能研究科・教授

研究者番号：60191649

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 141,900,000円

研究成果の概要(和文)：オートファジーの膜動態の分子機構及び病態との関わりを解析を行った。その結果、リン脂質脱リン酸化酵素のINPP5Eが、リソソームにおけるアクチン重合を介してオートファゴソームとリソソームの融合を促進することを示した。さらにINPP5Eの変異により脳の形成不全が生じるジュベール症候群が、オートファジーの低下によって起こっている可能性も明らかになった。また内皮細胞は上皮細胞と異なり細胞内に感染した病原細菌をユビキチン化できず選択的オートファジーによって殺せないという事実を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We have investigated molecular machinery of membrane dynamics in autophagy and relationship between autophagy and diseases. In results, we showed that inositol polyphosphate-5-phosphatase E (INPP5E) involved in autophagosome-lysosome fusion process via actin polymerization on lysosomes. INPP5E is one of the genes responsible for Joubert syndrome, a brain abnormality. We demonstrated a possibility that defect in autophagy causes this disease. In addition, we revealed that endothelial cells have a defect in autophagy against invading bacteria in contrast to epithelial cells, which is caused by their intrinsic inability to target bacteria with ubiquitin that acts a tag for autophagosome formation.

研究分野：細胞生物学

キーワード：オートファジー

1. 研究開始当初の背景

1950年代には既に観察されていたオートファジーであるが、その分子機構の解明の進展は1993年の大隅良典博士による酵母オートファジーに必須の遺伝子群ATGの同定を待たねばならなかった。このブレイクスルー以降オートファジーの分子メカニズムが次第に明らかになり、またその生理的病理的意義が示されるようになった。当初年間数十報だった関連論文も今や五千報を超える。しかし、細胞内の他の膜動態と比べても極めてユニークなオートファジーの分子機構は複雑であり、まだ全貌の1~2割が明らかになったに過ぎない。一方、オートファジーが広範な病態を抑制していることが次々と報告されてきたが、その詳細は不明でありオートファジーを標的とした治療戦略を考えるためには、オートファジーによる病態抑制の機序を知る必要がある。

2. 研究の目的

特異な膜動態により遂行されるオートファジーについて、その分子機構の解明を進めると同時にオートファジーの膜動態と病態の関わりを明らかにすることを旨とする。

3. 研究の方法

主として哺乳類培養細胞を材料とし、共焦点レーザー顕微鏡や電子顕微鏡等を用いたイメージング、生化学、分子生物学、細胞生物学の最先端手法を多角的に組み合わせ課題にアプローチする。

4. 研究成果

リン脂質脱リン酸化酵素のINPP5Eが、リソソームにおけるアクチン重合を介してオートファゴソームとリソソームの融合を促進することを示した。具体的には、INPP5Eがリソソームの膜のPI(3,5)P₂をPI3Pに変換することによってアクチン重合に働くタンパク質cortactinをリソソーム上に安定化する。その結果形成されるアクチン線維がオートファゴソーム-リソソーム融合を促進する。この成果は、不明の部分が多かったこの融合過程の分子機構の理解を進めるものとして一流国際学術誌EMBO Jに掲載され分野に大きなインパクトを与えた。またINPP5Eの変異は、脳の形成不全を来す先天性疾患ジュベール症候群の原因となることが知られている。我々は患者で発見されている複数の変異INPP5Eがいずれもオートファジーを進行させる能力を欠くことを示した。ジュベール症候群がオートファジーの低下によって起こっている可能性を示唆しており注目を集めた。

我々は過去に上皮細胞や線維芽細胞ではオートファジーが細胞内に侵入した病原細菌を選択的に隔離し殺すことを示した。今回、内皮細胞は上皮細胞と異なり細胞内に感染した病原細菌をオートファジーによって殺

せないという事実を明らかにした。内皮細胞でも通常のオートファジーは起こっているが、菌を認識しユビキチン化する活性が低下していた。菌のユビキチン化が起これないとオートファゴソームが菌の周囲に形成されない。この事実は、皮膚や粘膜では比較的症状の軽い細菌感染症が、菌が血管内に入ると激化する例を説明しているのかもしれない。この成果は一流国際学術誌PLOS Pathogに掲載された。

オートファゴソーム形成に関わるAtg9は膜タンパク質であり、普段はゴルジ体やエンドソームを膜小胞に乗って循環しており、オートファゴソーム形成時にはそこに輸送される。我々は、エンドソームからの輸送に必要なAtg9内の特定配列を同定し、それを欠くAtg9はエンドソームに留まりオートファゴソームが形成されなくなることを示した。本成果は一流国際学術誌J Cell Sciに掲載された。

以上の成果は、オートファジーの膜動態の分子機構及び病態との関わりを明らかにしたものである。さらにまだ論文未発表のためここでは述べないが分子機構や病態との関わりについて複数の成果を得ており、本研究の目的は十分に達成されたと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 25 件)

- (1) Lu SL, Kawabata T, Cheng YL, Omori H, Hamasaki M, Kusaba T, Iwamoto R, Arimoto H, Noda T, Lin YS, Yoshimori T*. Endothelial cells are intrinsically defective in xenophagy of *Streptococcus pyogenes*. *PLoS Pathog.* 13, e1006444 (2017)
DOI: 10.1371/journal.ppat.1006444.
(査読あり)
- (2) Sasai M, Sakaguchi N, Ma JS, Nakamura S, Kawabata T, Bando H, Youngae L, Saitoh T, Akira S, Iwasaki A, Standley D, Yoshimori T, Yamamoto M*. Essential role for GABARAP autophagy proteins in interferon-inducible GTPase-mediated host defense. *Nat. Immunol.* 18, 899-910 (2017)
DOI: 10.1038/ni.3767
(査読あり)
- (3) Yamashita S, Jin X, Furukawa K, Hamasaki M, Nezu A, Otera H, Saigusa T, Yoshimori T, Sakai Y, Mihara K, Kanki T*. Mitochondrial division occurs concurrently with autophagosome formation but independently of Drp1 during

- mitophagy. *J Cell Biol.* 215, 649–65 (2016)
DOI: 10.1083/jcb.201605093.
(査読あり)
- (4) Tanaka S, Hikita H, Tatsumi T, Sakamori R, Nozaki Y, Sakane S, Shiode Y, Nakabori T, Saito Y, Hiramatsu N, Kawabata T, Hamasaki M, Eguchi H, Nagano H, Yoshimori T*, Takehara T*. Rubicon inhibits autophagy and accelerates hepatocyte apoptosis and lipid accumulation in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 64, 1994–2014 (2016)
DOI: 10.1002/hep.28820.
(査読あり)
- (5) Imai K, Hao F, Fujita N, Tsuji Y, Oe Y, Araki Y, Hamasaki M, Noda T*, Yoshimori T*. Atg9A Trafficking Through the Recycling Endosomes is Required for Autophagosome Formation. *J Cell Sci.* 129, 3781–91 (2016)
DOI: 10.1242/jcs.196196.
(査読あり)
- (6) Hasegawa J, Iwamoto R, Otomo T, Nezu A., Hamasaki M, Yoshimori T*. Autophagosome–Lysosome Fusion in Neurons Requires INPP5E, A Protein Associated with Joubert Syndrome. *EMBO J.* 35, 1853–67 (2016)
DOI: 10.15252/embj.201593148.
(査読あり)
- (7) Choi J, Park S, Biering SB, Selleck E, Liu CY, Zhang X, Fujita N, Saitoh T, Akira S, Yoshimori T, Sibley LD, Hwang S*, Virgin HW*. The parasitophorous vacuole membrane of *Toxoplasma gondii* is targeted for disruption by ubiquitin-like conjugation systems of autophagy. *Immunity.* 40, 924–35 (2014)
DOI:10.1016/j.immuni.2014.05.006.
(査読あり)
- (8) Fujita N, Morita E, Itoh T, Tanaka A, Nakaoka M, Osada Y, Umemoto T, Saitoh T, Nakatogawa H, Kobayashi S, Haraguchi T, Guan JL, Iwai K, Tokunaga F, Saito K, Ishibashi K, Akira S, Fukuda M, Noda T*, Yoshimori T*. Recruitment of the autophagic machinery to endosomes during infection is mediated by ubiquitin. *J Cell Biol.* 203, 115–128 (2013)
DOI: 10.1083/jcb.201304188.
(査読あり)
- (9) Ichimura Y, Waguri S, Sou YS, Kageyama S, Hasegawa J, Ishimura R, Saito T, Yang Y, Kouno T, Fukutomi T, Hoshii T, Hirao A, Takagi K, Mizushima T, Motohashi H, Lee MS, Yoshimori T, Tanaka K*, Yamamoto M*, Komatsu M*. Phosphorylation of p62 Activates the Keap1–Nrf2 Pathway during Selective Autophagy. *Mol Cell.* 51, 618–31 (2013)
DOI:10.1016/j.molcel.2013.08.003.
(査読あり)
- (10) Maejima I, Takahashi A, Omori H, Kimura T, Takabatake Y, Saitoh T, Yamamoto A, Hamasaki M, Noda T, Isaka Y, Yoshimori T*. Autophagy sequesters damaged lysosomes to control lysosomal biogenesis and kidney injury. *EMBO J.* 32, 2336–47 (2013)
DOI: 10.1038/emboj.2013.171.
(査読あり)
- [学会発表](計 85 件)
- (1) Tamotsu Yoshimori, 21 Years of Autophagy: towards Understanding the Intracellular Self-Degradation System Fighting against Diseases Aging, *ISA 2018 “The XVIth International Symposium on Amyloidosis”*, Kumamoto, Japan (2018.3.26–29), Special keynote lectures
- (2) Tamotsu Yoshimori, New Insights into Autophagic Regulation and Anti-Disease Function, *Gordon Research Conference “Autophagy in Stress, Development and Disease”*, Lucca, Italy (2018.3.18–23)
- (3) Tamotsu Yoshimori, Autophagy: Its Membrane Dynamics and Implications in Diseases, *LS2 Annual Meeting 2018 “Metabolism & Signaling in the Life Sciences”*, Lausanne, Switzerland (2018.2.12–13) Plenary Lecture
- (4) Tamotsu Yoshimori, Autophagy: Its Membrane Dynamics and Implications in Disease, *International Congress of Cell Biology 2018*, Hyderabad, India (2018.1.26–31)
- (5) Tamotsu Yoshimori, Membrane dynamics of autophagy and its implications in disease, *EMBO Conference “Autophagy: Cellular mechanisms and significance in health and disease”*,

- Bhubaneswar, India (2017.12.11-13)
- (6) Tamotsu Yoshimori, Insights into Molecular Mechanisms in Selective Autophagy, *Challenges in Ubiquitin and Autophagy Research*, Half Moon Bay, USA (2017.11.27-28)
- (7) Tamotsu Yoshimori, E3 ligase complex involved in lysophagy, *The 8th International Syposium on Autophagy*, Nara, Japan (2017.5.29-6.1)
- (8) Tamotsu Yoshimori, New Insights into Membrane Dynamics in Autophagy, *Keystone Symposia "Autophagy Network Integration in Health and Disease (B2)"*, Copper Mountain, USA (2017.2.12-17)
- (9) Tamotsu Yoshimori, Autophagy: Its molecular machinery and implications in diseases, *HCV2016 "23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses"*, Kyoto, Japan (2016.10.13) 特別講演 国際学会
- (10) Tamotsu Yoshimori, Autophagosomes form at ER-mitochondria Contact Sites. *EMBO Workshop "Organelle contact sites: Intracellular communication and role in disease"*, Chia, Italy (2016.9.15-18)
- (11) Tamotsu Yoshimori, Autophagy: Its Membrane Dynamics and Implications in Diseases, *12th International Congress of Cell Biology "Exploring Cellular Structure and Function"*, Prague, Czech Republic (2016.7.21-25) 特別講演 国際学会
- (12) Tamotsu Yoshimori, Membrane Biogenesis and Substrate Targeting in Autophagy, *Keystone Symposia "Autophagy: Molecular and Physiological Mechanisms : (VI)"*, Whistler, Canada (2016.6.5-9)
- (13) Tamotsu Yoshimori, Insights into Membrane Dynamics of Autophagy and its Roles in Disease, *The 2nd Karolinska Institute-Osaka University Joint Symposium "Cancer and Regenerative Medicine"*, Osaka, Japan (2016.4.27)
- (14) Tamotsu Yoshimori, Mammalian Autophagy: Molecular Machinery and Anti-Disease Function, *Special Seminar at Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences and "The 4th Sino-Japan Symposium on Autophagy, 2016"*, Beijing, China (2016.4.22-25) 特別講演 国際学会.
- (15) Tamotsu Yoshimori, 20 Years of autophagy - Towards understanding the intracellular self-degradation system fighting against diseases, *Keynote Session in 2016 Cold Spring Harbor Asia Conference on Ubiquitin Family, Autophagy and Diseases*, Suzhou, China (2016.4.18-22) キーノート講演 国際学会.
- (16) Tamotsu Yoshimori, Selective Autophagy and Diseases, *Keynote Session in The Gordon Research Conference on Autophagy in Stress, Development & Disease*. Ventura Beach Marriott, Ventura, USA (2016.3.20-25)
- (17) Tamotsu Yoshimori, 20 years of Autophagy: towards Understanding the Intracellular Self-Degradation System Fighting against Diseases, *2016 International A3 Foresight Symposium on Autophagy*, Chungnam National University, Daejeon, South Korea (2016.2.25-28)
- (18) Tamotsu Yoshimori, Mechanistic Insights into Membrane Dynamics in Autophagy, *FRIAS Black Forrest Winter Conference on Autophagic Membrane Trafficking and Dynamics in Ageing and Disease*, Hotel Saigerhoeh, Freiburg, Germany (2016.1.29-31)
- (19) Tamotsu Yoshimori, Autophagy: The Intracellular Self-Degradation System Fighting against Disease, *The 5th NIF Winter School on Advanced Immunology*, Awaji Yumebutai International Conference Center, Awaji Island, Japan (2016.1.20)
- (20) Tamotsu Yoshimori, Autophagy: Molecular Machinery and Role in Suppression of Diseases, *The 14th CRG symposium: Cellular Machineries*, PRBB auditorium CRG, Berceonla, Spain (2015.10.22-23)

- (21) Tamotsu Yoshimori, New Insights into Membrane Biogenesis and Targeting in Autophagy, *EMBO Conference on Autophagy: Autophagy signaling and progression in health and disease*, Chia Laguna Resort, Chia, Italy (2015. 9. 9-12)
- (22) Tamotsu Yoshimori, Autophagy: The Intracellular Self-Degradation System Fighting against Diseases, *The 21st Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy*, Osaka International Convention Center, Osaka, Japan (2015. 7. 25)
- (23) Tamotsu Yoshimori, Insights into Membrane Dynamics in Autophagy, *The Gordon Research Conference on Molecular Membrane Biology*, Proctor Academy, Andover, NH, USA (2015. 7. 12-17)
- (24) Tamotsu Yoshimori, New Insights into Membrane Dynamics and Role of Autophagy, *Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology "Autophagy (E6)"*, Beaver Run Resort, Breckenridge, Colorado, USA (2015. 6. 19-23)
- (25) Tamotsu Yoshimori, Autophagy: Its Membrane Dynamics and Role in Suppression of Diseases, *British Society for Cell Biology & British Society for Developmental Biology Joint Spring Meeting*, University of Warwick, Coventry, UK (2015. 4. 12-15)
- (26) Tamotsu Yoshimori, New Insights into Membrane Biogenesis and Targeting in Autophagy, *The 7th International Symposium on Autophagy*, Anhui, China (2015. 3. 19-23)
- (27) Tamotsu Yoshimori, Lysophagy: Damaged Lysosomes Are Selectively Eliminated by Autophagy, *The Gordon Research Conference on Lysosomal Diseases*, Galveston, USA (2015. 3. 15-20)
- (28) Tamotsu Yoshimori, Autophagy: The Intracellular Self-Degradation System Fighting against Diseases, *Lorne Infection & Immunity Conference 2015*, Lorne, Australia (2015. 2. 18-20)
- (29) Tamotsu Yoshimori, New insights into membrane dynamics in autophagy, *APOCB Congress and ASCB Workshops*, Biopolis, Singapore (2014. 2. 24-27)
- (30) Tamotsu Yoshimori, Mechanistic insights into membrane dynamics in autophagy, *The 2013 Cold Spring Harbor Asia Conference*, Suzhou, China (2013. 11. 18-22)
- [図書] (計 6 件)
- (1) 吉森 保、オートファジー 分子メカニズムの理解から病態の解明まで (第 1 版) 吉森保・水島昇・中戸川仁 編、南山堂 2-10, 188-197, 205-214 (2018)
- (2) 吉森 保、The オートファジー 研究者たちの集大成が見える 最新ビジュアルテキスト、水島昇・吉森保 編、羊土社 (2017)
- (3) Otomo T, Yoshimori T. Lysophagy: A Method for Monitoring Lysosomal Rupture Followed by Autophagy Dependent Recovery. *Methods Mol Biol.* 1594, 141-9 (2017) doi: 10.1007/978-1-4939-6934-0_8.
- (4) 吉森 保、メンブレントラフィック膜・小胞による細胞内輸送ネットワーク (第 1 版) 福田光則・吉森保 編、化学同人 (2016)
- (5) Yoshimori T. Section editor for Volume 2: Organizational Cell Biology in *Encyclopedia of Cell Biology 1st Edition*. 852pp. (Eds.) Bradshaw Ralph A, Stahl Philip D, Academic Press, (2015)
- (6) 吉森 保、オートファジーと疾患、プログレッシブ 生命科学 (第 1 版) 南山堂 70-8 (2014)
- [産業財産権]
- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)
- [その他]
- ホームページ等
<http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/yoshimori/>
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
 吉森 保 (YOSHIMORI, Tamotsu)
 大阪大学・大学院生命機能研究科・教授
 研究者番号: 60191649