

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18076005

研究課題名（和文） オートファジーのダイナミクスと生理的意義の解析

研究課題名（英文） Dynamics of autophagy and its physiological roles

研究代表者

水島 昇 (MIZUSHIMA NOBORU)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：10353434

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：タンパク質分解、細胞内情報伝達

1. 研究計画の概要

オートファジーはリソソームを分解の場とする細胞質成分の大規模分解系である。私たちはこれまでに、オートファジーは絶食時の成体マウスや新生児マウスでダイナミック誘導されることを示し、これが実際に生体内のアミノ酸プールの維持やエネルギー恒常性に重要であることを示した。一方で日常的な細胞内代謝回転を目的とした基底レベルのオートファジーも重要である。すなわち、オートファジーはその活性を動的に制御することによって、栄養制御（誘導的オートファジー）と細胞内浄化（定常的オートファジー）を担う生体システムと位置づけることができる。そこで、本計画研究ではこのような異なる二つの視点からオートファジーを捉え、その代謝生理学的意義および病態生理学的重要性を明らかにし、かつその原動力となっているオートファジーの活性制御機構を解明する。さらにオートファジーの基質特異性についても検討を加えることによって、選択的オートファジーの生理的意義を明らかにする。

2. 研究の進捗状況

(1) オートファジーの制御機構を明らかにするため、酵母Atg1のホモログであるULK1の新規結合因子としてFIP200とAtg13を同定した。ULK1-Atg13-FIP200複合体は隔離膜に局在し、各因子がオートファゴソーム形成に必須であることを示した。さらに栄養依存的にmTORC1複合体がULK1-Atg13-FIP200複合体と会合することによって、これらの活性を制御していることが示唆された。

(2) ULK1複合体の下流で機能するクラスIII PI3キナーゼ複合体に含まれるオートファジー特異的因子として哺乳類Atg14を世界に先駆けて同定し、それが実際にオートファジーに必須であることを示した。

(3) 受精後にオートファジーが誘導されることを発見し、卵特異的ノックアウトマウスの解析から受精直後のオートファジーが初期胚発生に必須であることを示した。

(4) オートファジーに必須な遺伝子(Atg5およびAtg7)を欠損するマウスの解析から、オートファジーは細胞内品質管理機構として特に神経系と肝で重要であることが明らかにした。オートファジー不能肝細胞では、GST、チトクロームC、p62などが過剰に蓄積する。p62はLC3と結合することによってオートファジーによって選択的に分解されることが明らかになった。さらにAtg7とp62のダブルノックアウトマウスでは封入体形成や肝障害が抑制されたため、オートファジーによるp62の発現レベル調節が生理的に極めて重要であることが示された。また、p62のドメイン解析から、LC3と相互作用する11アミノ酸残基からなるモチーフを特定した。

(5) LC3の脂質化に必須なE2酵素であるAtg3のノックアウトマウスの解析を行い、オートファゴソーム様膜形成が起こるが完全に閉じられた小胞には至らないことを見出した。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

オートファジーの活性と特異性の双方の制御について非常に本質的な成果が得られている。また、生理的意義についてもオートフ

ァジーの初期胚発生の役割という全く新しいコンセプトを提示することができた。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 活性制御については、mTORによるULK1活性制御の分子基盤、細胞外因子によるオートファジーの制御などに研究を展開する。

(2) これまでに明らかにした特異的オートファジーを含め、オートファジー全般の生理的意義さらには癌などの病態との関連についてさらに解析を進める。

5. 代表的な研究成果

(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71件)

- ① Hosokawa, N., Hara, T., Kaizuka, T., Kishi, C., Takamura, A., Miura, Y., Iemura, S., Natsume, T., Takehana, K., Yamada, N., Guan, J.L., Oshiro, N., Mizushima, N. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol. Biol. Cell* in press
- ② Itakura, E., Kishi, C., Inoue, K., Mizushima, N. Beclin 1 Forms Two Distinct Phosphatidylinositol 3-Kinase Complexes with Mammalian Atg14 and UVRAG. *Mol. Biol. Cell* 19: 5360-5372 (2008)
- ③ Tsukamoto, S., Kuma, A., Murakami, M., Kishi, C., Yamamoto, A., Mizushima, N. Autophagy is essential for preimplantation development of mouse embryos. *Science* 321: 117-120 (2008)
- ④ Hara, T., Takamura, A., Kishi, C., Iemura, S., Natsume, T., Guan, J.L., Mizushima, N. FIP200, a ULK-interacting protein, is required for autophagosome formation in mammalian cells. *J. Cell Biol.* 181: 497-510 (2008)
- ⑤ Komatsu, M., Waguri, S., Koike, M., Sou, Y.S., Ueno, T., Hara, T., Mizushima, N., Iwata, J.I., Ezaki, J., Murata, S., Hamazaki, J., Nishito, Y., Iemura, S.I., Natsume, T., Yanagawa, T., Uwayama, J., Warabi, E., Yoshida, H., Ishii, T., Kobayashi, A., Yamamoto, M., Yue, Z., Uchiyama, Y., Kominami, E., Tanaka, K. Homeostatic Levels of p62 Control Cytoplasmic Inclusion Body Formation in Autophagy-Deficient

Mice. *Cell* 131:1149-1163 (2007).

〔学会発表〕(計31件)

〔図書〕(計2件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計2件)

名称: トランスジェニック非ヒト動物

発明者: 谷田 以誠、多田 昇弘、木南 英紀

権利者: 学校法人順天堂

種類: 特許権

番号: 【出願番号】 2006-284568

【公開番号】 2008-99600

出願年月日: 平成18年10月19日 (2006. 10. 19)

国内外の別: 国内

名称: トランスジェニック非ヒト動物

発明者: 谷田 以誠、多田 昇弘、木南 英紀

権利者: 学校法人順天堂

種類: 特許権

番号: 【出願番号】 2006-284583

【公開番号】 2008-99601

出願年月日: 平成18年10月19日 (2006. 10. 19)

国内外の別: 国内

○取得状況(計0件)

〔その他〕

新聞報道

毎日新聞(2008年7月4日)「受精卵、自分を栄養に」(水島)

読売新聞(2008年7月4日)「受精卵 栄養を自給自足」(水島)

日本経済新聞(2008年7月4日)「受精卵の着床 必要条件確認」(水島)

朝日新聞(2008年7月5日)「受精卵、自ら栄養作り着床」(水島)

日経産業新聞(2008年7月4日)「受精卵着床 たんぱく質分解し利用」(水島)

科学新聞(2008年7月18日)「哺乳類の胚発生時 オートファジーの役割」(水島)

日刊工業新聞(2007年12月14日)「封入体形成を解明」(小松)

日経産業新聞(2007年12月14日)「神経疾患起こすたんぱく質特定」(小松)

化学工業新聞(2007年12月14日)「神経変性疾患主因の細胞内異常構造体形成機構を解明」(小松)