

液-液相分離とオートファジーによる生体防御機構の解明

	研究代表者	順天堂大学・大学院医学研究科・教授 小松 雅明 (こまつ まさあき)	研究者番号：90356254
	研究課題情報	課題番号：24H00060 キーワード：液-液相分離、オートファジー、p62 body、プロテオスタシス、ストレス応答	研究期間：2024年度～2028年度

なぜこの研究を行おうと思ったのか（研究の背景・目的）

● 研究の全体像

タンパク質やRNA分子の間に働く物理的な力が、分子を互いに引き離したり引き寄せたりする場合があります。分子の濃度が特定の値に達すると、あるいは修飾により結合価が増えると液-液相分離が起こり、類似成分が集まって濃縮し、反応の速度を上げたり、望ましくない分子を隔離したりできるようになる。このような構造体は、液体様の性質を備えていることから液滴と呼ばれ、その内部は流動性と生化学反応が維持されている可逆的な構造体である。細胞内にはストレス顆粒、生殖顆粒や核小体など多数の液滴が存在しており、それらの作用により細胞は環境の変化といった外乱の影響によって変化することを阻する内的な仕組みをもつ。さらに、液滴形成責任因子の遺伝子変異あるいは発現量や修飾不全による液滴の形成異常や液滴の分解異常による液滴のゲル・凝集体化が、神経変性疾患やがんの発症に関与することが判明しつつある。

その中で代表者は、四半世紀にわたって遺伝子改変マウスを用いたオートファジーの病態生理学的解析を推進してきた。その結果、オートファジーの減弱がタンパク質凝集体や変性オルガネラの蓄積を伴った様々な疾病（腫瘍形成や神経変性）の発症原因となること、それら病態発症にはオートファジーによって「選択的」に代謝されるべき基質群の蓄積が関与することを明らかにしてきた。選択的オートファジーの基質と成り得る、変性しユビキチン化されたタンパク質は、「細胞質に濃縮される」とともに、「液体の性質からゲル状の性質に変換される」必要があると考えられている。代表者は、この濃縮、ゲル化の鍵となるタンパク質としてp62を同定するとともに、広範なストレスに応じてp62液滴（p62 bodyと呼ぶ）が生じることを見出した。また、p62 bodyの生理的役割としてストレス応答システムKEAP1-NRF2経路を活性化することを見出した。さらに、変性タンパク質を大量に含むp62 bodyは、物性変化を伴って最終的に選択的オートファジー依存的に分解されることを示してきた。すなわち、液-液相分離により形成されたp62 bodyはオートファジーと「協奏」することで、ストレスに応じたプロテオスタシス、細胞ホメオスタシスを「共創」するキープレイヤーであることが判明した（図1、2）。しかし、各種ストレスに応じたp62 bodyの形成、制御の分子基盤や病態生理学的意義は体系的には解析されていない。このとき、本研究課題の核心をなす学術的「問い」は次の3点である。

1. どのような分子が各種ストレスに応じてp62 bodyに局在化しオートファジーの選択的基質となるのか？
2. それら選択基質を含んだp62 bodyの生体応答および選択的オートファジー分解の分子基盤は？
3. それらの生体応答および分解の病態生理学的意義は何か？

これらを中心に本研究課題で答えを出したい。

図1 相分離p62 bodyによるストレス応答

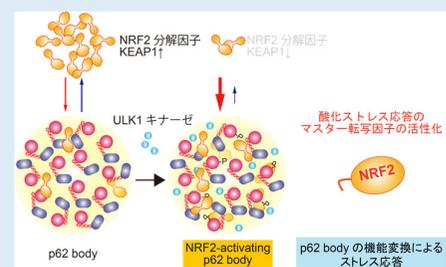
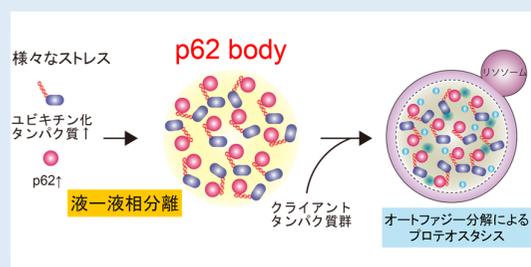


図2 相分離p62 bodyによるプロテオスタシス



この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

本研究では、代表者が独自に開発したp62 bodyを精製できる革新的手法と選択的オートファジー阻害方法（図3）を駆使し、各種ストレスに応じたp62 bodyの新規構成因子の網羅的探索を行うとともに、それら新規p62構成因子やスクリーニングにより同定した制御因子（図4）を介したp62 body依存性生体防御機構を高精度タンパク質結合予測AlphaFold-Multimerや高速原子間力顕微鏡解析などの先駆的タンパク質解析方法により解き明かす。また、p62自身、あるいは新規p62 body構成因子や制御因子の遺伝子改変マウスを作製・解析することで生体内におけるp62 body依存性生体防御の生理機能を解明する。と同時に、研究分担者とともにp62 bodyの形成や分解異常がその発症に関わると考えられている肝疾患に注目し、p62 bodyの動態を複数の肝疾患モデルマウス、ヒト三次元肝胚芽オルガノイドやヒト肝疾患検体を用いて検証する。さらに、p62 bodyを人為的に操作可能なNanobodyの開発を行う。

図3 p62 body構成因子の網羅的探索方法

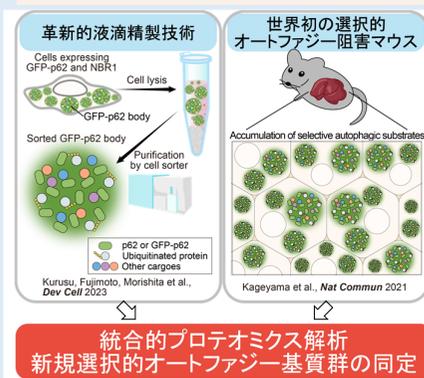
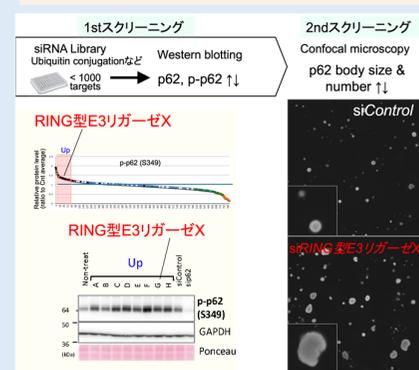
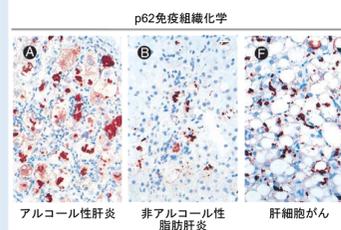


図4 p62 body制御因子スクリーニング方法



これらにより、液-液相分離とオートファジーの協奏・共創によるストレス応答システムの分子機構、生理作用とその異常による個体の機能低下のメカニズムの全貌を明らかにする（図5）。本研究から、本生体防御システムの異常が直接関与する肝疾患、肝臓がんの疾患発症機序の解明、予防・治療法の開発が期待される。

1. 各種ストレスに応じてどのようなタンパク質がp62 bodyに局在化し、どのようにオートファジーにより分解されるのか？
2. 各種ストレスに応じて変容するp62 bodyの機能は？
3. 疾患、特にp62 body (Mallory Denk body)が蓄積することが知られている肝疾患、がんにおけるp62 bodyの意義は？



液-液相分離とオートファジーの共創による生体防御システムの分子機構、生理作用とその異常による個体の機能低下のメカニズムを明らかにする

図5 研究の全体像

