

研究題目 ミクロオートファジーによる損傷リソソーム修復の分子機構解明

研究組織

研究代表者：中村 修平（奈良県立医科大学・生化学講座）

共同研究者：小迫 英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

リソソームは内部に多数の加水分解酵素をもつ酸性オルガネラであり、細胞内外の様々な成分の分解を担うと共に、多彩なシグナル伝達の司令塔としても働き、細胞、個体の生存や恒常性維持において必須の働きをもつ。リソソームは細胞内外の様々なストレスに絶えず晒されており、これがリソソーム膜の損傷につながる。特にエンドサイトーシスで運ばれる結晶物、シリカ、毒素、薬剤、脂質、細菌、アミロイドタンパク質や細胞内で生じる ROS などがリソソーム膜に傷をつけることが知られている。リソソームが損傷を受けると、酸性の内容物が漏出し、これが細胞死や慢性炎症などにつながるため、損傷を受けたリソソームは細胞にとって有害な存在となる。近年の申請者らの研究から、細胞は「損傷リソソーム応答」と総称される大きく3つの応答経路によってこの有害な損傷リソソームに対処していることが分かってきた。リソソームが損傷を受けると損傷の程度により膜修復の経路が活性化されるか、あるいは細胞内分解システム、オートファジーの一経路であるマクロオートファジーによって損傷したリソソームが丸ごと分解される。これと並行してリソソーム新生経路により新しいリソソームが作られる。申請者はこれまでマクロオートファジーによる損傷リソソームの隔離・分解の分子機構や、転写因子 TFEB の働きがリソソーム損傷後のリソソーム新生に必須であることを明らかにしてきた(Oe, [*Nakamura et al., PLoS Genet, 2021](#); [*Nakamura et al., Nat Cell Biol, 2020](#))。ごく最近はこれまで不明であった損傷リソソームの修復に関わる因子 STK38 や HKDC1 を発

見した。また本因子が‘ミクロ’オートファジーと呼ばれるオートファジーの一経路を介して膜修復を行い、個体や細胞の老化の抑制に必須の役割を持つことを明らかにした(Ogura, [Kosako, *Nakamura et al., EMBO Rep, 2023](#); Cui, [Kosako, *Nakamura et al., PNAS, 2024](#))。オートファジーの中でも特にミクロオートファジーの経路はマクロオートファジーに比べ制御機構や生理的意義の理解が圧倒的に遅れており、損傷リソソーム応答の全容理解のためには本経路の分子機構の解明が早急に必要である。本共同研究ではこの制御の鍵となる因子のインタラクトーム解析と相互作用因子同定および機能解析を通して作動原理を解明し、ミクロオートファジーによる損傷リソソーム膜修復機構の全容解明を目指す。

[1-2] 研究の方法・経過

STK38 や HKDC1 をはじめとしたいいくつかのミクロオートファジー制御のインタラクトーム解析を行い、相互作用しうる候補因子を同定した。次にこれら因子について損傷リソソームマーカー [galectin3](#) を指標としたスクリーニングから、損傷リソソーム応答に関与する因子を見いだした。さらに損傷リソソーム応答の中でもミクロオートファジーに関わる因子をスクリーニングするため、リソソーム膜タンパク質に GFP をつないだ [cleavage assay](#) を行った。またミクロオートファジーによる制御には ESCRT 複合体の機能が必要なことが分かっているため、これら因子の損傷リソソームへのリクルートへの影響を指標にスクリーニング、候補因子の絞り込みを行った。現在これらスクリーニングからミクロオートファジー制御を担う因子

を数個同定し、この詳細な機能解析を進めている。

[3-3] 成果資料等

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果
インタラクトーム解析と続く複数のスクリーニングを行い、ミクロオートファジーの新規制御因子を同定した。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

ミクロオートファジー経路を含めた損傷リソソーム応答は比較的最近明らかになってきたストレス応答経路であるが、神経変性疾患、結晶性腎症、珪肺症、感染症などリソソーム損傷を伴う多くの疾患あるいは個体や細胞老化への関与が示唆されており、本研究成果がこれら疾患の新たな治療法確立、老化抑制のシーズ創出につながる可能性があり、大きな波及効果が見込まれる。

【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表

1. Cui, M., Yamano, K., Yamamoto, K., Yamamoto-Imoto, H., Minami, S., Yamamoto, T., Matsui, S., Kaminishi, T., Shima, T., Ogura, M., Tsuchiya, M., Nishino, K., Layden B., Kato, H., Ogawa, H., Oki, S., Okada, Y., Isaka, Y., **Kosako, H.**, Matsuda, N., *Yoshimori, T., ***Nakamura, S.**
HKDC1, a novel target of TFEB, is essential to maintain both mitochondrial and lysosomal homeostasis, preventing cellular senescence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 121, e2306454120, (2024)

[3-2] 学会発表

志摩喬之、小迫英尊、吉森保、中村修平
ATG8 結合因子及びリソソーム動態に着目した
リソソーム損傷応答の分子機構解明
第 97 回日本生化学会大会
横浜
2024 年 11 月 8 日

志摩喬之、小迫英尊、吉森保、中村修平
ATG8 ファミリーおよびリソソーム動態に着目
したリソソーム損傷応答の分子機構解明
第 70 回近畿支部例会
大阪
2024 年 5 月 25 日

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

得られた因子の機能解析をさらに進め損傷リソソーム応答におけるミクロオートファジーの詳細な分子機構を解明する。またパーキンソン病や動脈硬化などリソソーム損傷を伴う疾患モデルを用いた解析から新規に同定した因子の生理的意義を明らかにする。