

東京大学大学院薬学系研究科 富田 泰輔

第24回Wakoワークショップ「オートファジー：細胞・個体機能の新たな制御機構—基礎から臨床へ」が、2008年11月6日に全電通ホールにて開催されました。出芽酵母の研究を端緒とするオートファジー研究は、近年マウス・ヒトにその広がりを見せ、新たな基礎生物学分野を切り拓いたほか、最近では様々な疾患に関連することが指摘され始めています。本ワークショップにおいては、このオートファジーに関して基礎研究から様々な応用研究まで、8人の先生が大変興味深い御講演をされました。

はじめに、本ワークショップを総合企画されました順天堂大学大学院・医学系研究科の内山安男先生より御挨拶があったのち、最初の講演者である基礎生物学研究所の大隅良典教授が「酵母に始まったオートファジーの分子メカニズムの研究」というタイトルで講演されました。いうまでもなく大隅先生は酵母を用いたオートファジーの分子遺伝学的研究を確立され、この分野を初めに世の中に知らしめるきっかけを作られた先生です。その御講演内容も1960年代に電子顕微鏡観察の記載から始まり、酵母を用いたATG遺伝子群の同定へと、オートファジー研究の歴史を感じさせるものでした。その上で、昨今のオートファジー研究における大

きな疑問点として、1) オートファジーの誘導に関する制御機構、2) 膜動態のダイナミクス、3) オートファジーによる分解の選択性、を挙げられ、これらの疑問点を解決するべく大隅研究室で進められている各ATG遺伝子産物の機能解析の最先端に関して非常にわかりやすく、解説していただきました。特に膜動態の観点から、液胞近傍に存在するPAS (Preautophagosomal structure) の重要性に始まり、VPS34 (ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ) 複合体によるPI3Pの産生とその局在化、ATG8のホスファチジルエタノールアミン化と膜脂質の融合の関係をなどを詳細に解説され、オートファジーが生体内でも非常に特異な膜系を用いたシステムであるということを示されました。また選択的なオートファジーという内容でミトコンドリアの分解に関わるmitophagyについてもご紹介され、まだまだ新しい分野を築いていくという気概を感じ、大変感銘を受けました。

引き続き東京医科歯科大学・歯学総合研究科の水島昇先生が、「オートファジーによるタンパク質代謝の生理的役割」というタイトルで、哺乳類におけるオートファジー関連遺伝子の機能解析についてご紹介されました。水島先生は大隅先生の元で酵母を用いたATG遺伝子の機能解析を始められたの

ち、哺乳類でのオートファジーの意義について解析されています。特にオートファジー「不能」にした状態を解析するためにAtg5ノックアウト (KO) マウスを、そしてオートファジー「プロセス」を可視化するためにLC3-GFPトランスジェニック (tg) マウスを用い、マウスの様々な臓器において、オートファジーが重要な役割を担っていることを報告されてきました。本シンポジウムでは特に最近報告された、受精卵におけるオートファジーについて解説されました。そして受精卵のオートファジーは発生に必須なシステムであり、生物が「生まれて初めて」体験するオートファジーであることを示されました。引き続き免疫システムにおけるオートファジーの役割についても報告され、内因性抗原を提示するためにオートファジーをうまく用いていること、その不全が自己免疫疾患につながる可能性について議論されました。さらに最近発見された、新たな哺乳類でのオートファジー関連分子hAtg14とUVRAGについて説明され、哺乳類でのAtg蛋白群が、様々な局面において多様な機能を担っていることが明らかになりつつあることを確信させる御講演でした。

次に東京都臨床医学総合研究所の小松雅明先生により、「選択的オートファジーとその生理的意義」というタイト



総合企画の内山安男先生



講演風景

Wako ワークショップ 見聞録

ルで御講演いただきました。小松先生はCre-loxPシステムを利用し、マウスの様々な臓器において特異的にオートファジー不全となるAtg7コンディショナルKOマウスを用いて解析され、それぞれの部位におけるオートファジーの重要性について解説されました。そしてオートファジー不全となった場合にp62が蓄積すること、このp62がオートファジー不全による細胞内封入体形成に必要であることを報告されました。そしてAtg7/p62ダブルコンディシ

ナルKOマウスではATG7コンディショナルKOマウスで見られる肝不全が抑制されることから、このp62がオートファジーにより代謝される現象と肝毒性の間になんらかの分子機構があることを予測され、p62結合蛋白として酸化ストレス防御機構に関わるKeap1を同定し、肝臓においてはp62がNrf2-Keap1経路に対して競合的に働くことを見出されました。この発見により、p62蓄積に伴う肝機能障害においてはNrf2の異常活性化が関与していること

を、最終的にAtg7/Nrf2ダブルコンディショナルKOマウスを用いて実証されました。一般的に細胞内封入体が生体に及ぼす影響については、毒性発揮とも防御とも言われており、その詳細な分子機構までは理解が進んでいないのが実情であるのに対し、このオートファジー不全によるp62の蓄積について丹念かつ詳細に検討された小松先生のお仕事は大変印象的でした。

午後の最初の御講演2演題は、具体的に疾患の発症プロセスに対してオートファジーがどのような分子機構により関与しているかという内容でした。初めに大阪大学大学院・医学系研究科の大津欣也先生により、「心臓におけるオートファジーの役割と病態への関与」という内容でお話いただきました。慢性心不全という社会的にも大きな問題となっている心疾患の発症機序において、オートファジーが重要な役割を担っているという御講演でした。心筋特異的なAtg5コンディショナルKOマウスを用い、オートファジーが定常状態では心筋細胞サイズや心臓の収縮力などの機能に必要であることを明らかにされました。また心臓に負荷がかかった場合には、このKOマウスでは心不全になりやすいこと、すなわちオートファジーに保護作用があることを示されました。実際に心不全患者の心筋において、オートファジーの活性化は重症度に反比例することを明らかにされ、オートファジーの活性化というストラテジーが新しい心不全治療法となる可能性を示されました。次に大阪大学・免疫学フロンティア研究センターの齊藤達哉先生により、「自然免疫応答とオートファジー」というタイトルで御講演いただきました。炎症性腸疾患であるクローン病の発症に関連が指摘されているAtg16L1遺伝子を欠損させたKOマウスを用い解析したところ、この変異マウス由来のマクロファージではグラム陰性菌エンドトキシンに過剰に反応し、大量のIL-1 β 、IL-18などの炎症性サイトカインを産生し強い炎症反応を引き起こす



大隈良典先生



水島昇先生



小松雅明先生



大津欣也先生



齊藤達哉先生



柚崎通介先生



木南英紀先生

第24回 Wako ワークショップ オートファジー 細胞・個体機能の新たな制御機構 - 基礎から臨床へ -

開催日：平成20年11月6日(木) 10:00~17:10
 開催場所：全電通ホール 東京都千代田区神田駿河台3-6
 総合企画：順天堂大学大学院 医学研究科神経機能構造学
 教授 内山 安男先生
 オーガナイザー：順天堂大 木南 英紀先生
 岡崎基礎生物研 大隅 良典先生
 東医歯大院・医 水島 昇先生
 順天堂大院・医 内山 安男先生

講演プログラム

はじめに	順天堂大院・医	内山 安男
酵母に始まったオートファジーの分子メカニズムの研究	岡崎基礎生物研	大隅 良典
オートファジーによるタンパク質代謝の生理的役割	東医歯大院・医	水島 昇
選択的オートファジーとその生理的意義	臨床医学総研	小松 雅明
心臓におけるオートファジーの役割と病態への関与	阪大院・医	大津 欣也
自然免疫応答とオートファジー	阪大・免	齊藤 達哉
神経細胞におけるオートファジーの生理と病理	慶大・医	柚崎 通介
オートファジーと細胞死	順天堂大院・医	内山 安男
“オートファジー”を考える	順天堂大・医	木南 英紀
おわりに	順天堂大院・医	内山 安男

ことを示されました。その分子機構として、特にこの変異マウス由来マクロファージではToll like receptor (TLR) 4の活性化に引き続き起こる K^+ イオンの流出や活性酸素種の産生に異常がみられ、最終的にIL-1 β の分泌に関与する「インフラマソーム」形成が行進していること、さらにAtg7ノックアウトマウス由来マクロファージにおいても同様の現象が観察されることなどから、オートファジーがインフラマソームを介した炎症性サイトカイン産生に対して抑制的に働いていること、オートファジーの異常がこれらサイトカイン産生に影響を与えることで最終的に炎症性腸炎に対して高感受性をもたらしていることを報告されました。両先生ともに最終的に生体においてオートファジーを時期・部位特異的に自在にコントロールするというのが新規創薬につながる可能性があるという御講演内容で、今後の人類の健康に必ず貢献するものであると確信しました。

続いての御講演「神経細胞におけるオートファジーの生理と病理」では、慶應義塾大学・医学部の柚崎通介先生が、1)興奮性神経細胞死モデルのlurcher変異マウス、2)小脳プルキンエ細胞特異的Atg5コンディショナルKOマウス、3)極性輸送に関わるAP-4 KOマウス、の三種類の変異マウスの解析を通じ、神経系におけるオートファジーという観点で先生の研究を紹介されました。いずれのマウスにおいても神経細胞軸索のswellingが起こることとオートファジー経路の異常が指摘されていることから、神経細胞における膜動態の異常と蛋白蓄積が神経細胞死において何らかの役割を果たしている可能性について議論されました。分化が終了した神経細胞は分裂しないという特色の他に、様々な突起を伸張させ各神経細胞間シナプスで複雑なコミュニケーションを行うという性質から、非常に大きな膜成分をもっています。さらに可塑性という観点からもその膜脂質および膜蛋白のダイナミクスが重要と考

えられていますが、柚崎先生の御講演はそのダイナミクスにオートファジーが非常に重要な生理機能を果たし、その破綻が神経変性疾患につながる可能性を指摘され、新しい神経疾患創薬につながる可能性を感じさせました。

コーヒーブレイクのあとは、オートファジーされた分子が最終的に分解される細胞内小器官リソソームに関連した御講演でした。Atgに関する研究がオートファジーの側から蛋白分解という現象を見ているのに対して、オートファジーの最終ステップ、蛋白分解の場であるリソソームの側からオートファジーを考えていく、という観点で、本ワークショップのプログラムとしても最後を飾るにふさわしい内容でした。まず本ワークショップを総合企画された内山安男先生が、「オートファジーと細胞死」というタイトルで御講演されました。細胞が死ぬ、という病理学的に最も基本かつ重要な局面において、オートファジー・リソソームが細胞質に充満する形で死に至る2型細胞死と呼ばれる形態が古くから知られていることから、そのプロセスがどういった生理学・病理学的な意義を持つのかについて、培養細胞や虚血モデルを用いて検討された結果を御発表されました。特に様々な遺伝子改変マウスを用い、成体および新生児において異なる分子プロセスにより2型細胞死が惹起されている可能性を提起されました。また2型細胞死の下流はいわゆる細胞死実行酵素であるカスパーゼに非依存性の細胞死過程が存在すること、その過程においては特にリソソームに含まれるプロテアーゼであるカテプシン類がその中で大きな役割を担っている可能性について指摘されました。そしてワークショップの最後を飾ったのは、順天堂大学・医学部の木南英紀先生による「“オートファジー”を考える」という御講演でした。まずリソソームにおける分解酵素カテプシンに関わる研究の歴史とその多様性に触れられたのち、様々

なカテプシン・リソソーム関連疾患において蓄積物が観察され、その中には疾患特異的に蛋白、糖、脂質が蓄積するということから、リソソームに「共通性」のみならず「特異性」があるということを詳細に解説していただきました。またAtg7ノックアウトマウスを用い、絶食時に見られるアミノ酸バーストが肝臓におけるオートファジー、そして血糖値の維持に関連している可能性について指摘されました。このように各臓器特異的なオートファジーの生理的役割というのは、最終的にはリソソームの機能・特異性・組織化によって最終的に担われている、という両先生の御発表は、これまでオートファジー関連分子の側からしか見ていなかった自分の勉強不足を感じるとともに、単一の分子に注目するのではなく、Biological processすべてを俯瞰した視野を持つことの大切さを改めて実感させられました。

Atg分子群の発見以来、オートファジーはホットピックとして急激に注目を浴びており、そして実際にその生物学的重要性が様々な局面において明らかにされていますが、本ワークショップではその最先端の研究をなさっている諸先生方の御講演をまとまって拝聴させていただくことができました。またそれぞれの御講演が研究背景から現状、そして問題点に至るまで非常にわかりやすく解説していただいたので、大変勉強になりました。私ごとになりますが、自分の専門であるアルツハイマー病研究においても蓄積物の形成というのは「なぜ」形成され「どのように」病態に関わっていくのか、ということが重要であると考え研究を続けておりました。そういった経緯で内山先生に知己を得てこの見聞録を書かせていただくことになりました。大変感謝しております。また御講演された諸先生方と和光純薬の皆様は厚く御礼申し上げます。