



「眼の水晶体が透明になる仕組みの解明 ～新たな細胞内分解システムの発見～」

1.. 発表者：

森下 英晃（研究当時：東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 分子生物学分野 助教、現：同客員研究員、順天堂大学大学院医学研究科生理学第二講座 講師）
江口 智也（東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 分子生物学分野 特任助教）
水島 昇（東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 分子生物学分野 教授）

2. 発表のポイント

- ◆水晶体（注1）の細胞ではミトコンドリアや小胞体などのすべての細胞小器官（注2）が分解されるが、その仕組みや意義は不明であった。
- ◆水晶体細胞に存在する脂質分解酵素（PLAATファミリー）が細胞小器官を分解していることを発見し、この酵素が働かないと水晶体の透明化が損なわれることを見いだした。
- ◆一般的に細胞小器官はオートファジー（注3）によって分解されると考えられてきたが、本研究による新しい仕組みの発見は、細胞内分解システムの多様性の理解につながることを期待される。

3. 発表概要：

東京大学大学院医学系研究科の森下英晃助教（研究当時；現・同大学大学院研究科客員研究員／順天堂大学大学院医学研究科 講師）、水島昇教授らの研究グループは、眼の水晶体を透明にする仕組みとして、新たな細胞内分解システムを発見しました。

眼の水晶体の細胞の成熟過程では、核やミトコンドリアなどの細胞小器官が分解されることが100年以上前から知られています。しかし、その仕組みや意義はほとんど解明されていませんでした。一般の細胞では、細胞小器官は主としてオートファジーによって分解されますが、水晶体細胞ではオートファジーによらないことがわかっていました。

今回、本研究グループは、生きたままのゼブラフィッシュの水晶体で、細胞小器官が分解される様子を捉えることに成功しました。さらに、小胞体、ミトコンドリア、リソソームなどの細胞小器官が、サイトゾル（注4）に存在する脂質分解酵素（PLAATファミリー酵素）によって分解されることを明らかにしました。この新しい細胞小器官分解システムはマウスの水晶体にも備わっており、ゼブラフィッシュ、マウスのいずれでも水晶体の透明化に必要なことがわかりました。本研究成果は、水晶体細胞の分化（注5）のメカニズムを明らかにするとともに、細胞内分解システムの多様性の理解につながると考えられます。

本研究は、科学技術振興機構（JST） 戦略的創造研究推進事業 総括実施型研究（ERATO）「水島細胞内分解ダイナミクスプロジェクト」（研究総括：水島昇）などの支援を受けて行われました。

本研究成果は、2021年4月14日（英国夏時間16時）に科学誌「Nature」のオンライン版で公開されました。

4. 発表内容：

人間の体は約30兆個の細胞で構成されています。その個々の細胞には、核、ミトコンドリア、小胞体などの膜に覆われた細胞小器官が備わっており、細胞の機能に重要な役割を果たしています。しかし、眼の水晶体では、その成熟の過程で細胞内のすべての細胞小器官が消失す

ることが知られています。水晶体は光を網膜に集める機能を担う透明な組織です。水晶体で起こる大規模な細胞小器官の分解は、水晶体の機能獲得に重要な役割を果たしていると考えられています。しかし、その詳細な仕組みや意義はほとんど明らかにされていません。

水晶体は上皮細胞とそれから分化した線維細胞によって構成されています。細胞小器官の分解は、線維細胞への分化の最終段階で起こります（図1）。これまでに、核DNAを分解する酵素は同定されていましたが、その他の細胞小器官（ミトコンドリア、小胞体、リソソームなど）の分解の仕組みは不明でした。本研究グループはこれまでに、通常の細胞で細胞小器官の分解を担うオートファジーは水晶体の細胞小器官の分解には必要がないことを見いだしていました（図1）。このことから、水晶体にはオートファジーとは異なる新しい細胞小器官分解システムが存在することが予想されていました。

本研究グループは水晶体の細胞小器官の分解の仕組みを解析するため、遺伝子が改変しやすく、生きた状態で細胞や組織を観察しやすいゼブラフィッシュをモデルとして用いました。まず、各細胞小器官を蛍光たんぱく質で可視化したゼブラフィッシュを作製し、生きたまま水晶体の細胞小器官を観察しました。その結果、実際に細胞小器官が分解され、それらの内容物がサイトゾルへ拡散していく様子を捉えることに成功しました。次に、ゼブラフィッシュの水晶体で高発現している遺伝子など約60種類の候補遺伝子群を対象として、CRISPR/Cas9（クリスパー・キャスナイン）システム（注6）を用いた遺伝子破壊スクリーニングを実施しました。その結果、細胞小器官の分解には脂質分解酵素の一種のホスホリパーゼAファミリーに属するPlaat1（注7）が必要であることがわかりました（図2）。Plaat1は普段はサイトゾルに存在しており、細胞小器官の分解直前にそれらの膜へ移行します（図3）。膜への移行には、Plaat1の疎水性領域が必要であり、ミトコンドリアやリソソームの膜が部分的に損傷を受けるとPlaat1が膜に移行することもわかりました（図4）。この膜の部分的損傷およびPlaat1の膜移行には、水晶体の発生に必要な転写調節因子Hsf4（注8）が必要であることが明らかになりました。

PLAATファミリー酵素は哺乳動物を含めた脊椎動物に広く備わっており、マウスではPLAAT3が水晶体細胞の細胞小器官分解に必要であることがわかりました。Plaat1欠損ゼブラフィッシュおよびPLAAT3欠損マウスの水晶体では、白内障（水晶体の混濁）や光の屈折異常が見られたことから（図5）、PLAATファミリー酵素による大規模な細胞小器官分解は、水晶体の透明化に必要であると考えられました。

100年以上前から不明であった水晶体における細胞小器官分解の仕組みが世界で初めて解明されるとともに、脊椎動物には従来のオートファジーだけでなく、サイトゾルのリパーゼを用いた細胞小器官分解システムも存在することが明らかになりました（図1）。

本研究成果は、細胞生物学や発生学に残されていた重要な課題の一つ、「大規模な細胞小器官分解の仕組みとその意義」を解明した画期的な成果です。PLAATファミリー酵素は、水晶体以外のさまざまな組織でも発現しており、細胞内環境の改変や恒常性維持などに寄与している可能性が考えられます。今後、この新しい細胞小器官分解システムの詳細な分子機構や機能、そしてオートファジーやユビキチン・プロテアソームシステムなどの他の細胞内分解システムとの違いや関係性が解明されることで、細胞内分解システムの包括的理解につながることを期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*Nature*

論文タイトル：“Organelle degradation in the lens by PLAAT phospholipases”

著者： Hideaki Morishita*, Tomoya Eguchi, Satoshi Tsukamoto, Yuriko Sakamaki,
Satoru Takahashi, Chieko Saito, Ikuko Koyama-Honda, Noboru Mizushima*
(*共同責任著者)

DOI 番号： 10.1038/s41586-021-03439-w

アブストラクト URL： <https://dx.doi.org/10.1038/s41586-021-03439-w>

6. 問い合わせ先：

<研究に関すること>

東京大学 大学院医学系研究科

教授 水島 昇 (ミズシマ ノボル)

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Tel： 03-5841-2862 Fax： 03-3815-1490

E-mail： nmizu@m.u-tokyo.ac.jp

<JST の事業に関すること>

科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部

調査役 内田 信裕 (ウチダ ノブヒロ)

〒102-0076 東京都千代田区五番町 7 K's 五番町

Tel： 03-3512-3528 Fax： 03-3222-2068

E-mail： eratowww@jst.go.jp

7. 用語解説：

注1) 水晶体

眼の中にある透明な無血管組織。水晶体の外側に位置する角膜とともに、外界から入ってきた光を透過、屈折させ、網膜に集光し結像させる役割を果たす。水晶体線維細胞の分化過程では、新たに分化した線維細胞は古い細胞の外側に積み重なっていくため、水晶体の内側には過去に作られたすべての細胞が存在している。

注2) 細胞小器官

オルガネラとも呼ばれる。真核生物の細胞の内部において膜などで区画された状態で存在し、細胞機能を分担する構造単位。核、ミトコンドリア、小胞体、ゴルジ体、リソソーム、ペルオキシソームなどがあり、各々異なる機能をもつ。

注3) オートファジー

真核生物の細胞に備わっている細胞内分解システムの一つで、細胞内の成分を取り囲むオートファゴソームと分解酵素を含むリソソームが融合することで内容物を分解する仕組み。2016年のノーベル医学生理学賞受賞（大隅良典博士）の対象となったことで知られる（図1左下）。

注4) サイトゾル

細胞質基質とも呼ばれる。細胞質（細胞内の核以外の部分）のうち、細胞小器官や細胞骨格

などの大型の構造を除いた可溶性の部分を目指す。

注5) 分化

細胞が形態的・機能的に変化し、役割の特異性が確立していく現象。水晶体では、さまざまな転写因子などが協調的に働くことで、上皮細胞が線維細胞に分化する。その初期段階では細胞の伸長、形態変化、水晶体に高濃度に存在するクリスタリン（他のたんぱく質の凝集を抑制し、水晶体の透明性を維持するたんぱく質）などの合成が誘導され、最終段階ではすべての細胞小器官が分解される。

注6) CRISPR/Cas9 システム

細胞内でゲノム DNA を切断し、遺伝子の破壊（ノックアウト）や外来遺伝子の挿入を誘導するゲノム編集技術の一つ。DNA 切断酵素の Cas9 たんぱく質と標的配列に結合するガイド RNA から構成される。CRISPR/Cas9 システムの登場によって、任意の遺伝子を正確に破壊することが非常に容易になった。

注7) *Plaat*

Phospholipase A and acyltransferase の略。HRASLS (HRAS-like suppressor) とも呼ばれる。生体膜を構成するグリセロリン脂質などを分解する脂質代謝酵素で、脊椎動物では数種類からなるファミリーを形成している。ゼブラフィッシュでは *Plaat1* が、マウスでは *PLAAT3* が水晶体の細胞小器官分解に必要であることがわかった。慣例に従い、ゼブラフィッシュのたんぱく質は *Plaat1*（一文字目のみ大文字）、遺伝子は *plaat1*（すべて小文字のイタリック体）、マウスのたんぱく質は *PLAAT3*（すべて大文字）、遺伝子は *Plaat3*（一文字目だけ大文字のイタリック体）と表記している。

注8) Hsf4

Heat shock factor protein 4 の略。ヒトの遺伝性白内障の原因遺伝子であり、水晶体中心部において高発現する転写調節因子。水晶体に高濃度に存在するクリスタリンの一部や DNA 分解酵素などの遺伝子発現を誘導することが知られる。

8. 添付資料：

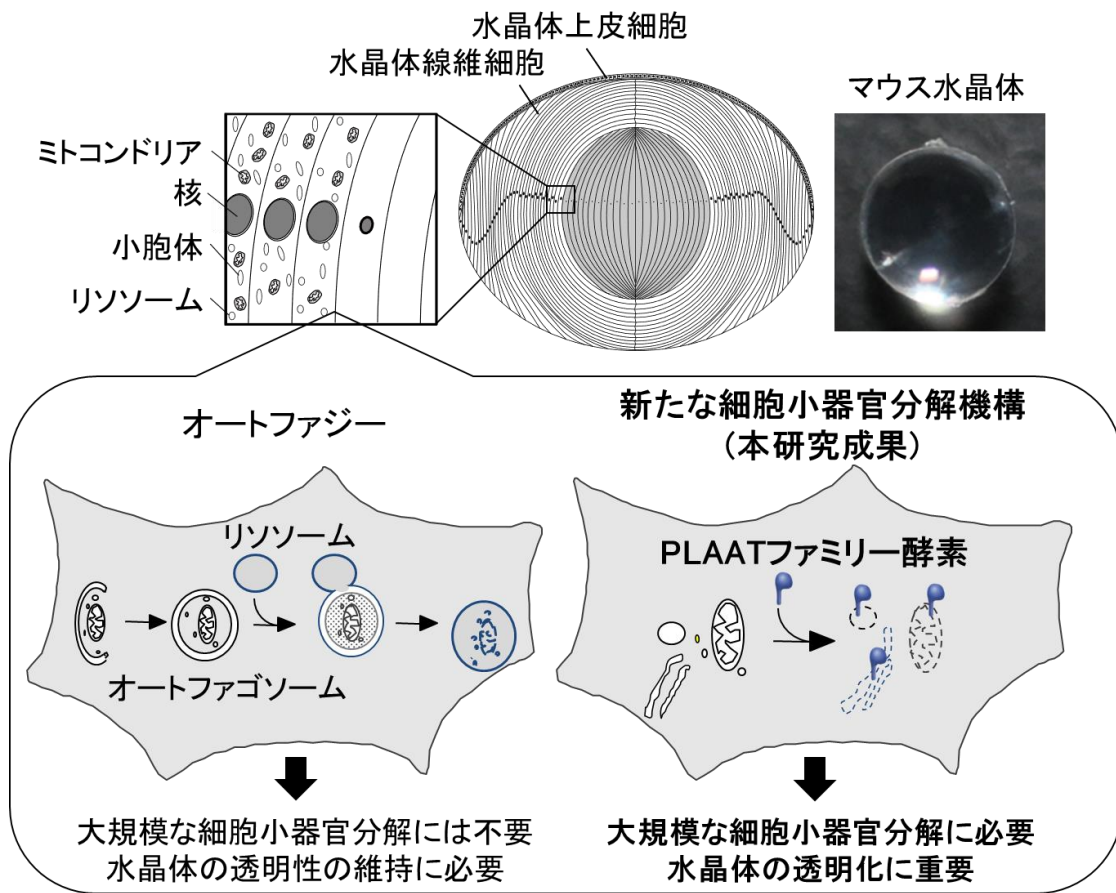


図1 水晶体における大規模な細胞小器官分解の模式図と、本研究によって解明されたオートファジー非依存的な細胞小器官分解システムの概要

水晶体は上皮細胞とそれらが分化した線維細胞から構成されている。線維細胞の最終分化過程では、膜に覆われた細胞小器官がすべて分解される（上）。これまでに本研究グループは、オートファジー（左下）は細胞小器官分解には必要ないことを明らかにしていた。本研究により、水晶体の細胞小器官分解はサイトゾルに存在する脂質分解酵素 PLAAT ファミリーによって起こること、この新規分解システムは水晶体の透明化に重要であることが明らかになった（右下）。

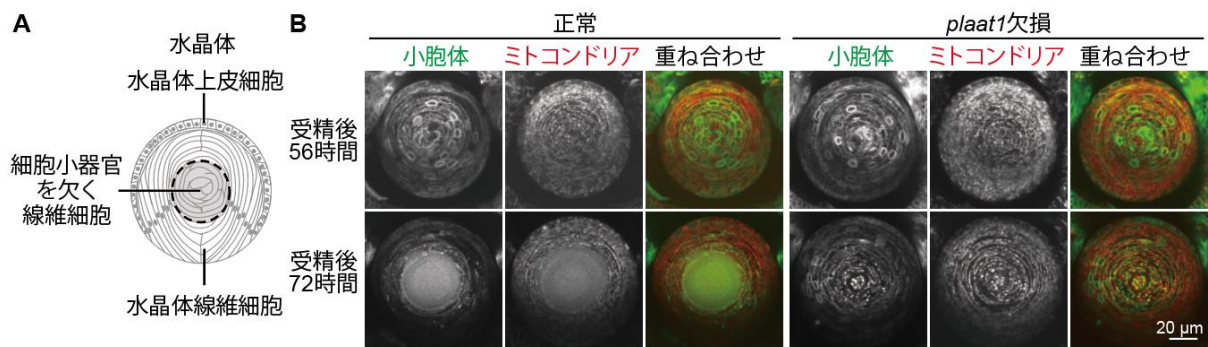


図2 ゼブラフィッシュ水晶体における大規模な細胞小器官分解には脂質分解酵素 *Plaat1* が

必須である

- A. ゼブラフィッシュ（受精後 62 時間前後）の水晶体のモデル図。
- B. 小胞体（緑色）とミトコンドリア（赤色）の内部に蛍光たんぱく質（レポーターたんぱく質）を発現させたゼブラフィッシュの水晶体のライブイメージング解析。正常なゼブラフィッシュでは受精後 72 時間で小胞体やミトコンドリアの内容物がサイトゾルへ拡散する。*plaat1* 欠損ゼブラフィッシュでは、受精後 72 時間も水晶体中心部の線維細胞に、粒状の輝点（小胞体やミトコンドリア）が残る。

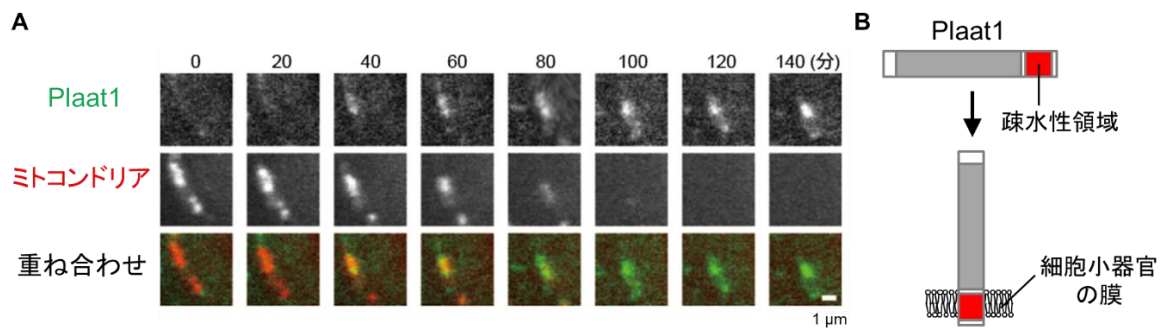


図3 ゼブラフィッシュ水晶体において Plaatz1 がミトコンドリアを分解する過程のライブイメージング

- A. ゼブラフィッシュ水晶体において、Plaatz1 がミトコンドリアに局在すると、数十分でミトコンドリアが分解される。生きたゼブラフィッシュの水晶体のライブイメージング画像。
- B. Plaatz1 はその疎水性領域を介して細胞小器官の膜へ局在化すると考えられる。

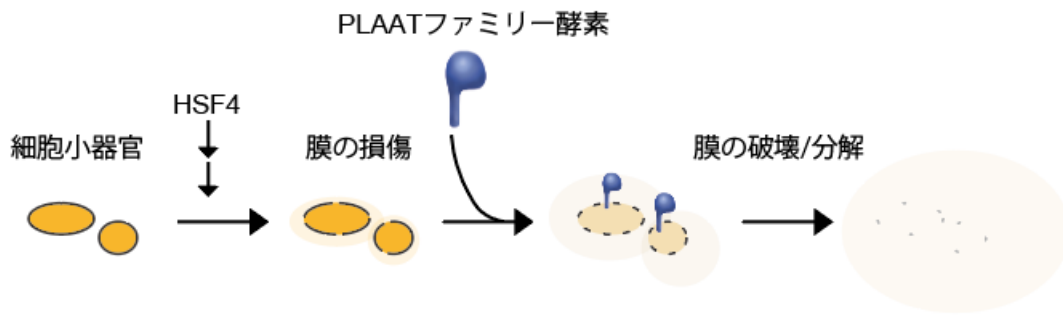


図4 PLAATは分解直前に細胞小器官の膜へ移行する

PLAATファミリー酵素は通常サイトゾルに存在する。HSF4発現後に起こる細胞小器官膜上の損傷を認識して、サイトゾルから膜へと移行し、オルガネラ膜の破壊や分解を引き起こす。

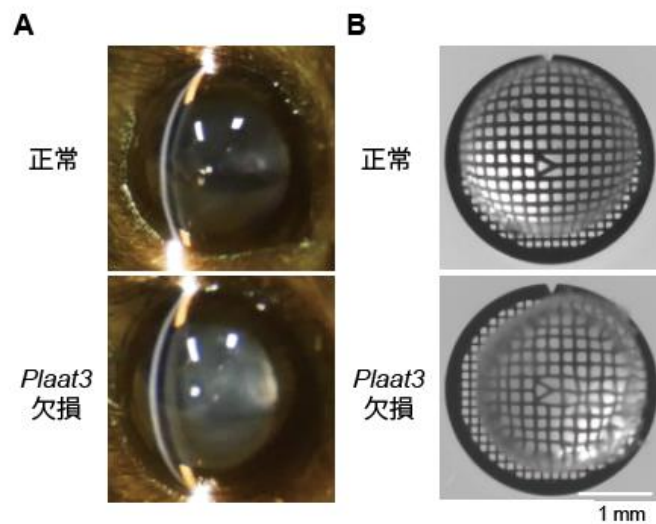


図5 *Plaatz*欠損マウスの水晶体は白内障と屈折異常を示す

- A. 9カ月齢のマウスの水晶体の外観。*Plaatz*欠損マウスの水晶体は白内障の症状を示しているのがわかる。
- B. 9カ月齢のマウスの水晶体のグリッド上での明視野像。*Plaatz*欠損マウスの水晶体では、グリッドパターンのゆがみ、すなわち屈折異常が生じているのがわかる。