

細胞内リサイクルシステム“オートファジー”を起こせないマウスの新生仔死因を解明 ～新しいマウスモデル作製により全身解析が可能に～

1. 発表者:

吉井 紗織 (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 特任研究員)
久万 亜紀子 (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)
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:

- ◆細胞内リサイクルシステムである「オートファジー」を全身で起こせなくした遺伝子改変マウスは生後1日で死亡しますが、その主な原因が神経機能異常による母乳摂取不全であることを明らかにしました。
- ◆神経細胞のオートファジー活性を回復させたオートファジー不全マウスは、成獣までの生存が可能になりました。これにより、全身(神経以外)のオートファジー不全の影響を成獣で調べることができるようになりました。
- ◆今回の全身観察により、オートファジー不全マウスは鉄吸収不全による貧血や性ホルモン低下を伴う性腺委縮を呈することが分かりました。

3. 発表概要:

細胞の中では、生体成分が常にリサイクルされています。この細胞内リサイクルを担う仕組みの一つがオートファジー(注1)(図1)です。東京大学大学院医学系研究科の水島昇教授らの研究グループは、オートファジーを起こすことができない遺伝子改変マウスを作製し、このマウスが生後約12時間で死亡することを報告しています。しかし、その死因は長らく不明でした。今回、新生仔死亡の原因として神経異常による吸啜障害(注2)を疑い、全身でオートファジーをおこせない遺伝子改変マウスの神経細胞でのみオートファジーを回復させたマウスを作製しました(図2)。その結果、従来、新生仔死亡であったオートファジー遺伝子改変マウスが成獣まで生存できるようになりました。よって、オートファジー遺伝子改変マウスの死因は、神経異常にあることがわかりました。また、全身におけるオートファジー不全の影響を成獣で調べることが可能となりました。全身観察の結果、このマウスは鉄吸収不全による貧血や性ホルモン低下を伴う性腺委縮を呈することが分かりました。この新しいマウスモデルの解析から得られた知見は、今後、オートファジーの生理機能の理解に役立つことが期待されます。

4. 発表内容:

(1) 研究の背景

細胞の中では、常に生体成分の合成と分解が繰り返され、細胞の機能や健康が保たれています。また飢餓などのストレス状況下では、細胞はより分解を亢進させることで環境変化への適応を図ります。この細胞内の分解を担う仕組みの一つがオートファジーです。オートファジーに関わる遺伝子の一つである *Atg5*(注3)を欠損させた遺伝子改変マウスは、オートファジーを起こすことができません。このマウスは、外見はほぼ正常に生まれますが、生後約12時間で死亡します。このマウスは母乳を飲むことができないという異常(吸啜障害)がありますが、母乳を飲まない条件で比較しても正常マウスよりも早く死亡します。生まれた直後の新生仔マウスでは、母親からの胎盤を介した栄養供給が突然遮断されるため一時的な飢餓状態となります。解析の結果、正常の新生仔マウスはオートファジーによる細胞内分解を活性化することで、分解産物を栄養素として利用していることがわかりました。一方、オートファジーを起こすことができない *Atg5* 欠損マウスはアミノ酸濃度低下などの栄養不良状態となります。この先行研究により、出生に伴うオートファジーの栄養供給における重要性が明らかとなりました(Kuma *et al.* Nature 2004)。しかし、*Atg5* 欠損マウスの死因について不明のままでした。今回、その

死因として *Atg5* 欠損新生仔マウスの神経機能が異常となり、それによって吸啜障害を呈している可能性を疑いました。

(2) 研究内容

本研究グループは、*Atg5* 欠損マウスの死因が神経機能異常にあることを確かめる目的で、*Atg5* 欠損マウスの神経細胞にのみ *Atg5* 遺伝子を再導入してオートファジー活性を回復させたマウスを作製しました(神経特異的 *Atg5* 回復マウス)。その結果、従来、生後約 12 時間で死亡した *Atg5* 欠損マウスが成獣まで生存できるようになりました。よって、*Atg5* 欠損マウスの新生仔期における死因は神経異常にあったことがわかりました。「出生に伴い活性化するオートファジーは、生後直後の飢餓状態において栄養供給システムとして働く」という以前の研究結果と考え合わせると、*Atg5* 欠損マウスは神経異常による吸啜障害のために飢餓状態が続き、かつ、出生に伴うオートファジーによる栄養供給もない、という2つの理由によって重篤な栄養不足状態となり、早期死亡に至ると考えられます。

この神経特異的 *Atg5* 回復マウスが新生仔期の死亡を回避して成獣まで育つことから、全身(神経以外)の *Atg5* 欠損による影響を成獣で解析することが可能となりました。このマウスは体が小さく、体重が正常マウスの 2/3 ほどです。肝臓や脾臓の肥大、骨格筋や脂肪組織の委縮、性腺委縮、様々な臓器における炎症などの異常が認められます。また、一般に、オートファジー不全により分解が滞ると、細胞内に品質不良タンパク質が蓄積することが知られていますが、今回全身臓器を調べたところ、特に肝臓・心臓・骨格筋・脾臓において品質不良タンパク質が蓄積しやすいことがわかりました。さらに、このマウスは鉄吸収不全による貧血や性ホルモン低下を伴う性腺委縮を呈することがわかりました。この新しいマウスモデルから得られた知見は、今後、オートファジーの生理機能の理解に役立つことが期待されます。

(3) 社会的意義

オートファジーは、細胞内浄化、神経変性抑制、抗腫瘍作用、初期胚発生、細胞内侵入細菌の除去などさまざまな生理現象に関わることが分かっています。また、米国ではオートファジー阻害効果のある薬剤の抗がん剤としての臨床試験が行われています。よって、オートファジーの生体内における機能およびこれが破綻したときの状態を知ることは非常に重要です。これまでも、特定の組織でオートファジーを起こらなくした遺伝子改変マウスの解析が国内外で行われてきましたが、今回作製したマウスは、全身(神経以外)におけるオートファジー不全の影響を調べることのできる新しいマウスモデルです。この新しいモデルから得られた知見は、オートファジーの生理機能やオートファジーが関与する病態の理解に役に立つことが期待されます。

本研究は科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業 個人型研究(さきがけ)、日本学術振興会 科学研究費助成事業などの一環で行われました。

本研究は、以下に示す研究グループとの共同研究で行われました。

東京医科歯科大学医歯学総合研究科 (江石義信教授)

公益財団法人 東京都医学総合研究所 基盤技術研究センター(設楽浩志研究員)

5. 発表雑誌:

雑誌名: *Developmental Cell* (2016年9月29日米国東部時間 オンライン版)

論文タイトル: Systemic analysis of *Atg5*-null mice rescued from neonatal lethality by transgenic ATG5 expression in neurons

著者: Saori R. Yoshii¹, Akiko Kuma¹, Takumi Akashi, Taichi Hara, Atsushi Yamamoto, Yoshitaka Kurikawa, Eisuke Itakura, Satoshi Tsukamoto, Hiroshi Shintara, Noboru Mizushima* (¹ equal contribution, *corresponding author)

DOI 番号: <http://dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2016.09.001>

アブストラクト URL: [http://www.cell.com/developmental-cell/fulltext/S1534-5807\(16\)30597-4](http://www.cell.com/developmental-cell/fulltext/S1534-5807(16)30597-4)

6. 問い合わせ先:

<本研究に関するお問い合わせ>

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 水島 昇(みずしま のぼる)

Tel : 03-5841-3440、Fax : 03-3815-1490

E-mail : nmizu@m.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説:

(注1) オートファジー

細胞に備わっている細胞質成分を分解するための仕組みの1つ。細胞質成分を膜で取り囲んでリソソーム(様々な分解酵素を含む細胞内小器官)に運び込み分解する(図1参照)。

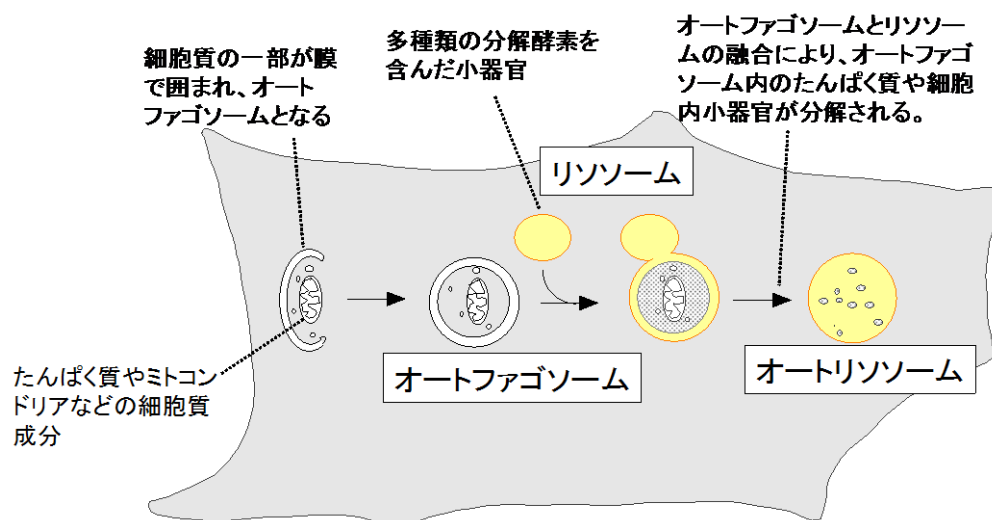
(注2) 吸啜障害

神経異常や口蓋異常などの様々な原因により、出生マウスが母乳を飲まない状態。

(注3) *Atg5*

オートファジーを起こすために必要な遺伝子群のうちの1つ。*Atg5* 遺伝子を働かなくした遺伝子改変マウスは、オートファジーを起こすことができない。

8. 添付資料:



(図1) オートファジーのしくみ

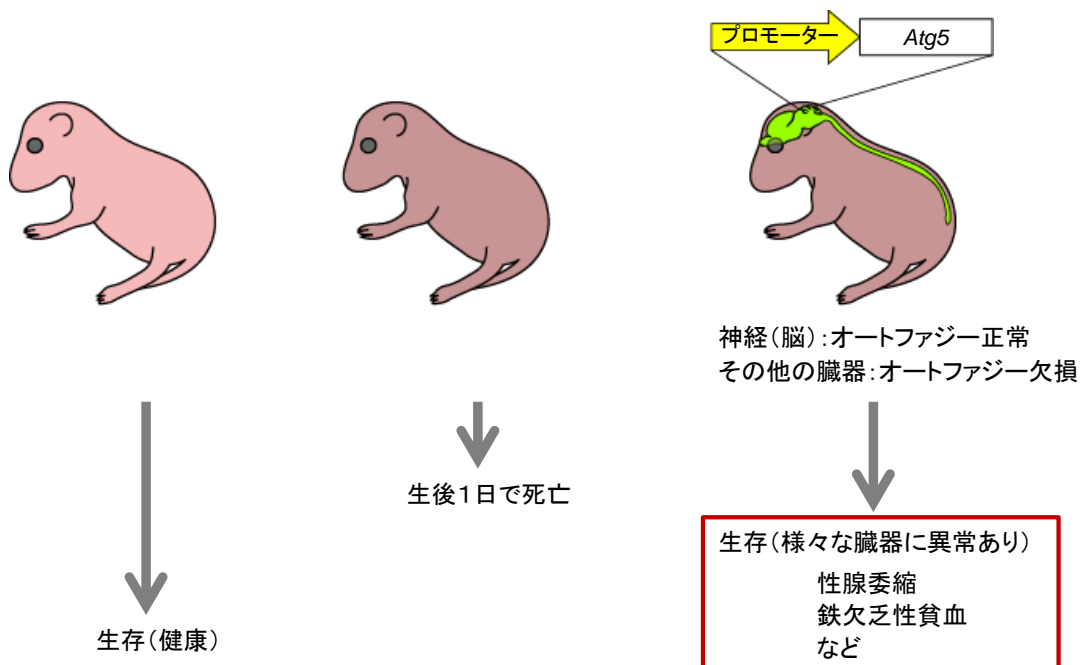
オートファジーが誘導されると隔離膜が細胞質成分を取り囲みながら伸長し、オートファゴソームを形成します。続いてオートファゴソームはリソソームと融合し、オートファゴソームで囲んだ細胞質成分が分解されます。細胞質成分の分解により生じたアミノ酸などの分解産物は再利用されます。

正常マウス

*Atg5*欠損マウス

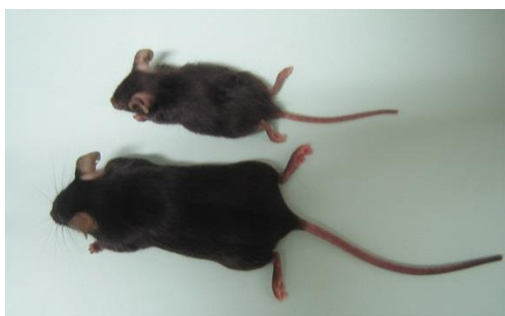
神経特異的*Atg5*回復マウス

*Atg5*欠損マウスの神経にのみATG5タンパク質
を作らせる細工を施したマウス



(図2) 神経特異的 *Atg5* 回復マウス模式図

オートファジーを起こすことができない *Atg5* 遺伝子欠損マウスは、生後 1 日で死亡しますがその原因は不明でした。このマウスの神経にのみ ATG5 タンパク質を発現させて、神経(脳)におけるオートファジー活性を正常にしたところ、成獣までの生存が可能になりました。よって、*Atg5* 遺伝子欠損マウスの死因は神経異常にあることが分かりました。また、全身(神経以外)のオートファジー不全の影響を成獣で調べることができるようになりました。



(図3) 神経特異的 *Atg5* レスキューマウス(上)と正常マウス(下)。

神経特異的 *Atg5* レスキューマウスは体が小さく、体重は正常マウスの 2/3 ほどです。肝臓や脾臓の肥大、骨格筋や脂肪組織の委縮、性腺委縮、複数の臓器における炎症、鉄欠乏性貧血など、様々な異常が認められます。オートファジーが正常に機能することが生体維持に重要であることがわかります。