

オートファゴソームはPI合成酵素が濃縮されている部位から形成される
— オートファゴソーム形成初期過程の分子機構の一端を解明 —

1. 発表者：

西村 多喜（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：
研究当時、University College London, MRC-LMCB, Research Fellow、日本学術振興会 海外学振特別研究員：現所属）

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：

- ◆オートファジーでは、オートファゴソームによって取り囲まれた細胞の一部が分解されます。
- ◆本研究では、オートファゴソームが小胞体近傍のリン脂質合成酵素の濃縮する部位から形成されることを明らかにしました。
- ◆本発見は、オートファゴソーム形成初期過程の分子機構の全容解明の糸口になることが期待されます。

3. 発表概要：

オートファジー（注1）は細胞内の代表的な分解システムです。オートファジーが誘導されると、オートファゴソーム（注2）と呼ばれる二重膜構造体が細胞質の一部を取り囲みます（図1）。今回、東京大学大学院医学系研究科の水島昇教授、西村多喜助教（研究当時）らの研究グループは、オートファジー関連タンパク質群（ATGタンパク質群）の最上流に位置するULK複合体が、まず小胞体膜に局在し、次にホスファチジルイノシトール（PI）3-キナーゼ依存的にATG9A陽性の隔離膜構造体に局在することを明らかにしました（図2）。さらに、ULK複合体が局在する小胞体膜上には、PI合成酵素が豊富に存在していることを見出しました。PIを分解させるとオートファゴソーム形成が阻害されたことから、小胞体膜上のPI合成酵素を含む部位がオートファゴソーム形成に重要であることが示唆されました（図2）。本発見は、オートファゴソーム形成初期過程の分子機構の全容解明の糸口になることが期待されます。

本研究は日本学術振興会 新学術領域研究「オートファジーの集学的研究」（領域代表：水島昇）、若手研究（A）「オートファゴソーム膜供給機構の解明」（研究代表：西村多喜）の一環で行われました。

本研究は東京大学大学院薬学系研究科衛生化学研究室 新井洋由教授との共同研究で行われました。

本研究成果は、2017年5月11日に国際科学誌「*EMBO Journal*」でオンライン *Latest Online* にて公開されました。

4. 発表内容：

（1）研究の背景

オートファジー関連タンパク質群（ATGタンパク質群）によるオートファゴソームの形成機構は、酵母や動物細胞を用いた解析から、その全貌が明らかになりつつあります。一方で、

オートファゴソーム形成の初期過程に関しては、まだ未解明な点が数多く残されています。これまでの形態学的な解析から、動物細胞では、オートファゴソーム初期構造体が小胞体近傍で出現し、小胞体膜と近接した状態で伸張していくことが明らかになっています。しかしながら、初期過程で機能する ATG 分子と小胞体の関係性や、その小胞体のオートファゴソーム形成における役割は、まだ良く分かっていません。

(2) 研究の内容

本研究で私たちは、まず、ATG 因子群の最上流に位置する ULK 複合体が局在する膜構造体を、生化学的手法で調べました。その結果、オートファジー誘導の初期段階では、ULK 複合体はまず小胞体膜に局在し、その後、ホスファチジルイノシトール (PI) 3-リン酸 (PI3P) が形成された段階では ATG9A 陽性の隔離膜構造体に局在することが分かりました (図 2)。PI3P が形成される以前の ULK 複合体は小胞体に局在するにも関わらず、小胞体特有の網目状構造ではなく、ドット状の局在を示します。そこで ULK 複合体は小胞体膜上に一様に存在するのではなく、特定のドメインに限局するという仮説を立て、小胞体上の ULK 複合体と共局在する分子を探索しました。その結果、PI 合成酵素など、一部のリン脂質 *de novo* 合成に関与する酵素群が、ULK 複合体と共局在することを見出しました。PI 合成酵素はオートファゴソーム形成に必須な PI3P の前駆体である PI を合成する酵素で、最近、小胞体膜上でドット状の局在を示し、特殊なドメインを形成しているという報告がありました。実際、超解像顕微鏡による解析や生細胞解析から、ULK 複合体のドット状構造体が、PI 合成酵素が存在する構造体上から高頻度で出現する様子を確認することが出来ました。

最後に、オートファゴソーム形成における小胞体の役割を調べました。小胞体上の PI 合成酵素が存在するドメインではその産物である PI が豊富に存在することが想定されることから、PI 分解による影響を調べました。バクテリア由来の PI 分解酵素 (PI-PLC) を PI 合成酵素の存在するドメインに強制的に発現させて、小胞体膜上の PI を分解させたところ、オートファゴソーム形成が強く阻害されることが分かりました。以上の結果から、小胞体膜上の PI がオートファゴソーム形成に重要であることが示唆され、小胞体はオートファゴソーム形成過程に必要な PI や PI3P などの脂質を初期構造体に供給する重要な役割を果たしていると考えられます (図 2)。

(3) 社会的意義

オートファジーの疾患との関連については近年急速に研究が進んでいますが、オートファジーの分子機構については未だ解明されていない点が多く、オートファジー関連疾患の特定や、オートファジーをターゲットとした治療戦略にとって障壁になっています。今回の研究で、オートファゴソーム形成初期過程の分子機構の一端を明らかにしたことで、その分子機構の全容解明の糸口になることが期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名： *EMBO Journal* (オンライン版 *Latest Online* : 5月11日)

論文タイトル： Autophagosome formation is initiated phosphatidylinositol synthase-enriched ER subdomains

著者： Taki Nishimura*, Norito Tamura, Nozomu Kono, Yuta Shimanaka, Hiroyuki Arai, Hayashi Yamamoto and Noboru Mizushima* (*co-corresponding author)

DOI 番号： 10.15252/embj.201695189

アブストラクト URL :

<http://emboj.embopress.org/content/early/2017/05/11/embj.201695189>

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 :

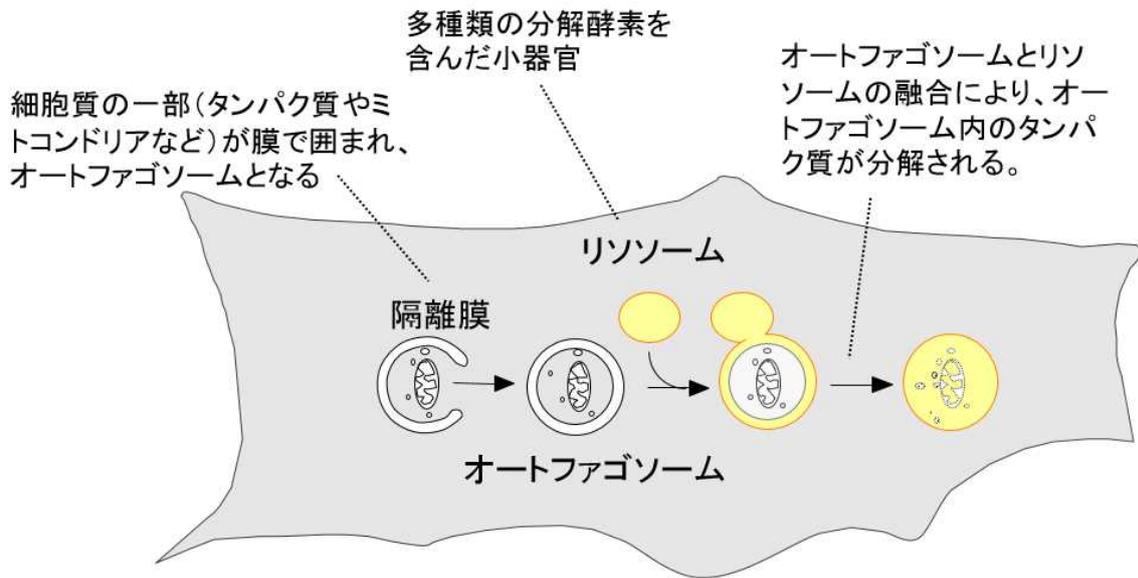
(注1) オートファジー

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 (さまざまな分解酵素を含む細胞内小器官) に運び込み分解します (図1)。近年、オートファジーは飢餓適応や細胞内品質管理などのさまざまな役割を担うことが分かってきており、その破たんは神経変性疾患などに関連することが報告されており、創薬ターゲットとしても注目されています。

(注2) オートファゴソーム

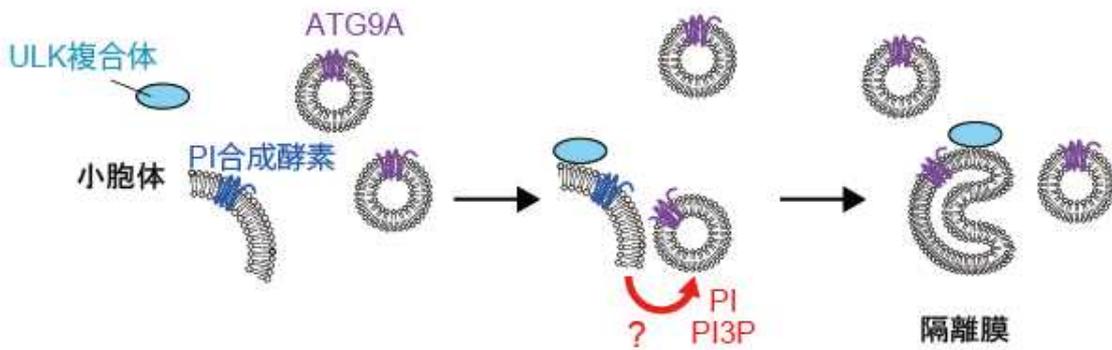
オートファジーが誘導されると形成される、二重の膜 (内膜と外膜) からなる小胞 (図1)。内部に細胞質成分 (タンパク質やミトコンドリアなど) を包み込む。オートファゴソームが完成すると、外膜にリソソームが融合し、内膜とともに内容物が分解される。

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。



(図2) オートファゴソーム形成の初期過程のモデル図

ULK 複合体は、まず、小胞体上の PI 合成酵素が豊富に存在するドメインに局在し、PI3P が形成されると ATG9A 陽性の隔離膜に局在するようになる。小胞体膜上の PI がオートファゴソーム形成に必要であることから、小胞体はオートファゴソーム形成過程に必要な PI や PI3P などの脂質を初期構造体に供給する重要な役割を果たしていることが推察される。