

## 平成 27 年度 全体研究開発報告書

## 1. 研究開発領域：革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ

「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく最適医療実現のための技術創出」

## 2. 研究開発課題名：恒常性維持機構オートファジーに着目した栄養素過剰摂取に起因する

疾患の原因解明と治療法確立

## 3. 研究開発代表者：吉森 保（大阪大学生命機能研究科）

## 4. 研究開発の成果

栄養のとりすぎは、内分泌・代謝・免疫系が織りなすネットワークにより維持される生体の恒常性を損ない、糖尿病などの生活習慣病の発症や合併症のリスク上昇につながる。そこで私たちは、栄養素過多の環境でかかる過度のストレスにより「オートファジー」という細胞内浄化機構の活性が低下・不足し、臓器間ネットワークが障害されることに着目した。本研究ではそのメカニズムを解明し、オートファジー活性制御に基づく疾患症状緩和手法の開発など、生活習慣病の新規治療法確立を目指している。平成 27 年度は以下の成果を得た。

1) 生活習慣病を抑制するリソファジー（損傷リソソームを除去するオートファジー）の分子機構について、損傷リソソームを認識するために必要なユビキチン化をおこす E3 リガーゼの候補を同定した。また過栄養摂取がオートファジーを抑制するメカニズムとして、高脂肪食及びパルミチン酸が、あるオートファジー抑制因子の分解を阻害し、その結果当該抑制因子量が増加しオートファジーを抑制することを明らかにした。またその抑制因子の増加が肝疾患の発症の主要因になりうることを、マウスを用いた実験で明らかにした。オートファジーを制御する低分子化合物のスクリーニングのため、アッセイ系を確立した。それを用いたスクリーニングから、オートファジー促進効果のある化合物を複数同定した。

2) オートファジーと生活習慣病である動脈硬化の関係について研究を進めた。脂質代謝に関わる遺伝子 X と、オートファジーに関わる遺伝子 Y を平滑筋特異的に欠損したダブルノックアウトマウスは栄養過剰摂取下において有意に生存率の低下を認めたが、死亡症例の一部で下行大動脈において動脈瘤の破裂を認め、細胞死の増加、マクロファージの浸潤、平滑筋細胞数の低下を伴う動脈硬化層の著明な増加を認めた。すなわち、平滑筋細胞のオートファジーは細胞死の制御により動脈硬化症進展に対して保護的に働いていることが明らかとなった。オートファジーのバイオマーカーの探索を行い、*in vitro* 系において、オートファジー低下  $\beta$  細胞株の上清中に有意に増加する蛋白質をプロテオミクス解析により複数同定した。

3) 過栄養摂取により蓄積する尿酸塩結晶やコレステロール結晶などの刺激性粒子は、マクロファージなどの免疫細胞を強く刺激し、炎症応答を誘導する。過度の炎症は組織障害を惹起し、痛風、動脈硬化など生活習慣病の発症要因となる。(a) 尿酸塩結晶などの刺激性粒子に応じて活性化し、炎症による疾患発症を惹起する自然免疫機構である NLRP3 インフラマソームを阻害する化合物を複数同定した。オートファジー活性に影響を与える化合物も含まれていた。(b) 刺激性粒子によるオートファジーの誘導には、あるオートファジー関連因子が不要であることを見出した。(c) ショットガンプロテオミクスにより、刺激を受けたマクロファージが細胞外に放出するタンパク質を約 400 種類同定した。同定したタンパク質には、オートファジー関連因子である ATG7 依存的に放出されるものが含まれていた。