

病原細菌を標的としたオートファジーにおける新規認識機構の発見

1. 発表者： 小川道永（東京大学医科学研究所・細菌感染分野・助教）
 笹川千尋（東京大学医科学研究所・細菌感染分野・教授）

2. 発表概要：

オートファジーは細胞内のダメージを受けた器官、変性タンパク質、病原体を異物として認識・分解する機構である。東京大学医科学研究所 小川道永助教（細菌感染分野）と笹川千尋教授（細菌感染分野、感染症国際研究センター）は宿主細胞が細胞内に侵入した赤痢菌を特異的に認識しオートファジーによって分解するために必要な新規タンパク質 Tecpr1 (Tectonin domain-containing protein) を発見した。さらに、Tecpr1 は赤痢菌だけではなく、サルモネラ菌、A群連鎖球菌等の病原細菌(図1参照)、変性タンパク質やダメージを受けたミトコンドリアに対する広く一般的な選択的なオートファジーにも関与することを見出した(図2参照)。本研究の成果は病原細菌を標的とするオートファジーの選択的な認識機構の解明のみならず、変性タンパク質の蓄積によるハンチントン病(注1)等の神経変性疾患や異常ミトコンドリア蓄積による若年性パーキンソン病(注2)の発症機序の解明や治療薬の開発にも重要な手がかりを与えるものと考えられる。

3. 発表内容：

オートファジーは細胞が栄養飢餓状態に陥ったときやストレスに曝された場合に細胞内小器官をまとめて非選択的に分解する現象であることが知られていた。しかし近年の研究から、オートファジーは、ダメージを受けた小器官や変性タンパク質からなる凝集体を特異的に異物として認識し分解する重要な恒常性維持システムであり、オートファジーの機能異常は、不要物の蓄積により細胞の恒常性維持、細胞寿命、発生・分化、癌など多岐に影響し、さまざまな変性性疾患の一因となることが分かってきた。さらに、最新の研究から、オートファジーは(1)細胞内に侵入した病原細菌を特異的に異物として認識・分解殺菌すること、(2)宿主自然免疫システムのセンサーとして機能し炎症反応を誘導することで菌の排除を促進することが明らかになってきており、その異物認識機構の解明は感染制御の面からも極めて重要な課題となっていた。本研究の成果である Tecpr1 によるオートファジー認識機構の発見は「オートファジーによる選択的な基質認識」研究に非常に大きなインパクトを与えることが予想される。

赤痢菌は細菌性赤痢の原因菌であり、発展途上国では乳幼児を中心に年間1億人以上が細菌性赤痢に感染し、死者は年間約20万人にもものぼる。2005年に、我々は(1)赤痢菌の菌体表面にあるVirGタンパク質(注3)がオートファジー関連タンパク質であるAtg5(注4)と直接結合することによってオートファジーが誘導されること、(2)それに対し赤痢菌はIcsBタンパク質(注5)を分泌し、Atg5とVirGタンパク質との結合を競合的に阻害することで菌体のオートファジーによる認識を回避していることを明らかにし、**Science**に報告している。我々はこれらの研究をさらに発展させ、Atg5結合性新規タンパク質としてTecpr1を見出した。Tecpr1は細胞質内でオートファジーに必須のAtg12-Atg5-Atg16L1(注6)と複合体を形成し、赤痢菌、サルモネラ菌、A群連鎖球菌、さらには変性タンパク質からなる凝集体やダメージを受けたミトコンドリアを標的とするオートファゴソームに選択的に局在することが明らかになった(図1、図2参照)。Tecpr1遺伝子を欠損させたノックアウトマウス(Tecpr1^{-/-})を作製し、そこから得られたMEF(mouse embryonic fibroblast)細胞を用いて解析を行った結果、非選択的なオートファジーはほとんど影響を受けなかったにも関わらず、オートファジー感受性赤痢菌(Δ IcsB株)に対するオートファジーが低下し、赤痢菌の細胞内での増殖性が顕著に上昇した。さらに興味深いことに、Tecpr1^{-/-} MEF細胞では変性タンパク質からなる凝集体やダメージを受けたミトコンドリアなど選択的なオートファジーの標的となる基質の蓄積が認められた。これらの結果はTecpr1^{-/-} MEF細胞では選択的なオートファジーの機能が低下していることを示しており、Tecpr1が選択的なオートファジーにおいて重要な役割を果たしていることを示唆している。

さらに、Tecpr1による選択的なオートファジーのメカニズムを詳細に解析した結果、形成初期のオートファゴソーム上に局在するPI(3)P(注7)と結合することが知られているWIPI-2(注8)とTecpr1が結合することでTecpr1がオートファゴソーム上にリクルートされ、オートファゴソームの形成に必要な因子が標的となる菌体の近くに集積されることを見出した(図1参照)。

本研究の成果から、選択的なオートファジーにおいてWIPI-2-Tecpr1-Atg5という基質認識のための新たなカスケードが存在することが明らかになった。本研究の成果は病原細菌を標的とするオートファジーの選択的な認識機構の解明のみならず、変性タンパク質の蓄積によるハンチントン病(注1)等の神経変性疾患や異常ミトコンドリア蓄積による若年性パーキンソン病(注2)の発症機序の解明や治療薬の開発にも重要な手がかりを与えるものと考えられる(図2参照)。

4. 発表雑誌：

「Cell Host & Microbe」(Cell press)

2011年5月19日(米国東部夏時間12:00)のオンライン版に掲載

“A Tecpr1-Dependent Selective Autophagy Pathway Targets Bacterial Pathogens”

Michinaga Ogawa, Yuko Yoshikawa, Taira Kobayashi, Hitomi Mimuro, Makoto Fukumatsu, Kotaro Kiga, Zhenzi Piao, Hiroshi Ashida, Mitsutaka Yoshida, Shigeru Kakuta, Tomohiro Koyama, Yoshiyuki Goto, Takahiro Nagatake, Shinya Nagai, Hiroshi Kiyono, Magdalena Kawalec, Jean-Marc Reichhart and Chihiro Sasakawa

5. 問い合わせ先：

笹川千尋 教授

〒108-8639 東京都港区白金4-6-1

東京大学医科学研究所 感染・免疫部門 細菌感染分野

6. 用語解説：

(注1) ハンチントン病

舞踏運動などの不随意運動、行動異常、認知障害などの症状が現れる遺伝性の神経変性疾患。*huntingtin* 遺伝子に原因となる変異を持つ場合には Huntingtin タンパク質に含まれるグルタミンの繰り返しの回数が異常に増加するために易凝集性になった Huntingtin タンパク質が細胞質や核内に異常蓄積することで起きると考えられている。

(注2) パーキンソン病

ふるえ、動作緩慢、小刻み歩行などを主な症状とする病気で、中脳黒質緻密質のドーパミン分泌細胞の変性が主な原因である。そのほとんどについて神経変性の原因は不明だが、いくつかの病因遺伝子が同定されている。その中の一つにミトコンドリアを標的とするオートファジーに関与している PARK2 遺伝子がある。

(注3) VirG

赤痢菌の菌体表面に存在する外膜タンパク質であり、菌の増殖と共に菌体の一極に局在する。F-アクチンの重合を司り、赤痢菌の細胞内運動性に必須の病原因子である。

(注 4) Atg5

初期オートファゴソームである phagophore に局在しているタンパク質である。Atg12 と共有結合することで生成された Atg12-Atg5 はオートファゴソーム膜の伸張に必要であることが報告されている。

(注 5) IcsB

赤痢菌の III 型分泌機構から分泌される病原因子である。VirG と結合することによって VirG と Atg5 が結合することを競合的に阻害しており、赤痢菌のオートファジー回避に必須の病原因子である。Δ IcsB 株は高頻度にオートファゴソームに貪食されることを報告している。

(注 6) Atg12-Atg5-Atg16L1

Atg12-Atg5 は Atg16L1 と結合し複合体を形成する。この複合体はオートファゴソームの形成に必要な LC3-II の生成反応に関与していることが報告されている。

(注 7) PI(3)P (ホスホイノシチド 3-リン酸)

クラス III PI3 キナーゼ Vps34 により生成されるリン脂質で、オートファジーの活性化には必須である。

(注 8) WIPI-2

酵母の Atg18 のホモログである。PI(3)P に結合し、オートファゴソームに局在することが報告されている。

7. 添付資料：

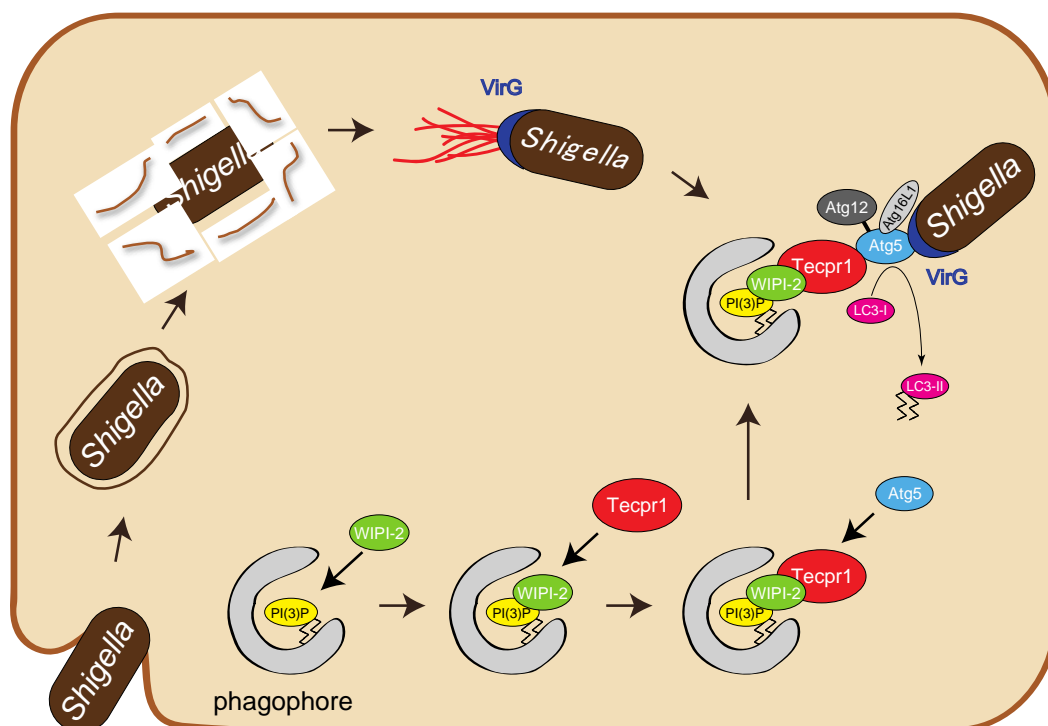


図1 WIPI-2-Tecpr1-Atg5による赤痢菌の認識機構

オートファジーが誘導されると、タイプ III の PI3K 複合体によって生成された PI(3)P が phagophore にリクルートされる。引き続き WIPI-2、Tecpr1、Atg5 の順に phagophore にリクルートされる。Atg5 と Tecpr1 の相互作用により Atg12-Atg5 生成反応が加速され、LC3-II 生成およびオートファゴソーム形成が促進される。一方で、細胞内に侵入した赤痢菌は、増殖に伴い表面タンパク質 VirG を赤痢菌の菌体の一極に局在させる。オートファジー感受性である Δ IcsB 株感染細胞では、VirG が phagophore 上の Atg5 に結合し、菌体が WIPI-2-Tecpr1-Atg5 経路によって認識されて、最終的にオートファゴソームに包まれ殺菌される。

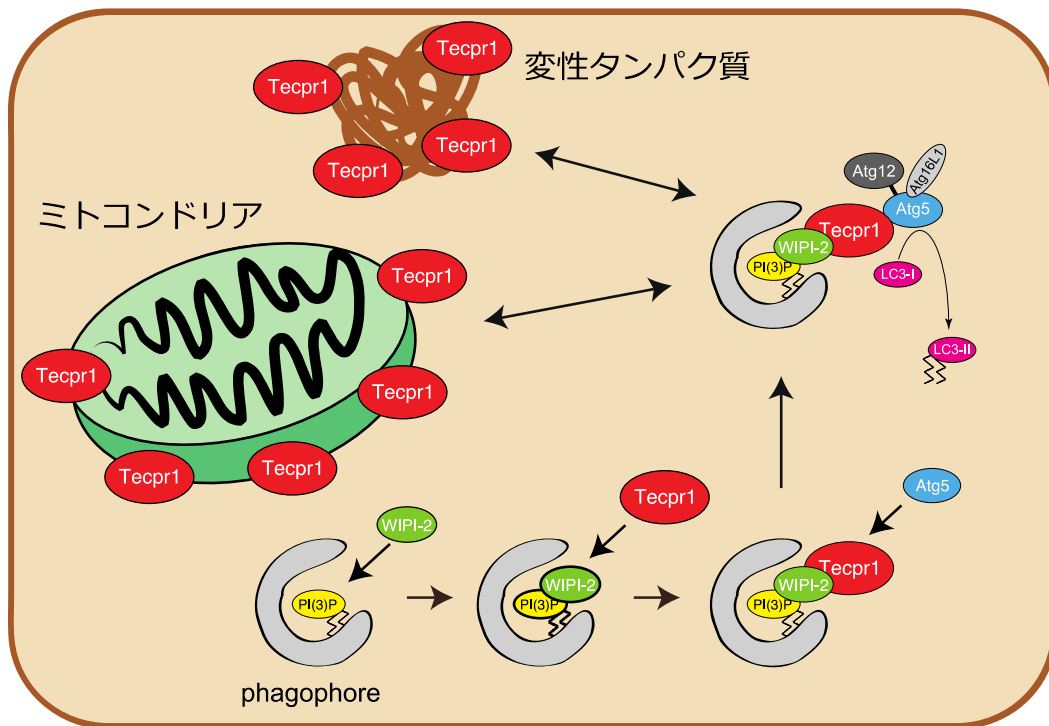


図2 Tecpr1による凝集体およびダメージを受けたミトコンドリアの認識
 変性タンパク質からなる凝集体や、活性酸素を産生するダメージを受けたミトコン
 ドリアは宿主細胞にとって毒性があるため、これらは異物として速やかにオートフ
 ァジーで認識・分解される必要がある。我々の研究から凝集体やダメージを受けた
 ミトコンドリアが Tecpr1 により標識され、オートファゴソームに捕捉されることが
 明らかになった。Tecpr1 を欠失させた細胞では凝集体やダメージを受けたミト
 コンドリアの蓄積が認められた。