

オートファジーとライソゾーム病の関連について

分担研究者： 柳澤 比呂子（脳神経疾患研究所 先端医療研究センター & 遺伝病研究所 研究員）

研究要旨

ライソゾーム病は、病理学的観察、及び分子生物学に基づいた研究成果により、オートファジーとの関連が報告されている。ニーマン・ピック病C型、及びファブリー病の患者由来繊維芽細胞を用いて、オートファジー不全を LC3 turnover assay により、明らかにした。さらに治療薬の効果について、検討した。

研究協力者氏名

確認した。

所属機関名及び所属機関における職名

A．研究目的

ニーマン・ピック病、ファブリー病のオートファジー動態を解析し、有効な治療薬をオートファジー flux から探索する。

B．研究方法

ニーマン・ピック病、ファブリー病患者由来繊維芽細胞を用いて、オートファジー動態に関わる因子の発現量をウエスタンブロット、またライソゾームの大きさを免疫細胞染色により解析した。

（倫理面への配慮）

細胞は連結可能な匿名化を行った。

C．研究結果

ニーマン・ピック病患者由来繊維芽細胞を血清飢餓にすると、ライソゾームの増大やオートファジー基質であるp62の蓄積が観察された。ロイシン添加により、これらの減少が軽減された。また、LC3 turnover assayにより、オートファジー不全を明らかにした。

ファブリー病の患者由来繊維芽細胞を血清及びアミノ酸飢餓にし、LC3 turnover assayにより、オートファジー不全を明らかにした。また、酵素補充薬の効果を検討し、オートファジー不全が改善されたことを

D．考察

ニーマン・ピック病患者由来繊維芽細胞を用いた実験により、ロイシン添加によるオートファジー不全の改善を示唆する事ができた。さらに、ロイシンとオートファジーとの関連について研究を進め、他の治療薬の効果についても今後の課題とする。

ファブリー病の患者由来繊維芽細胞を用いた実験により、オートファジー flux を解析する事により、治療薬効果の指標となり得ることがわかった。

E．結論

ライソゾーム病をオートファジー不全という観点から、解析する事により、今後の治療薬開発や既存の治療薬効果の検証に有用であると示唆された。

F．研究発表

1. 論文発表

- 1) Neonicotinoid Insecticides Alter the Gene Expression Profile of Neuron-Enriched Cultures from Neonatal Rat Cerebellum. Kimura-Kuroda J, Nishito Y, Yanagisawa H, Kuroda Y, Komuta Y, Kawano H, Hayashi M.

Int. J. Environ. Res. Public Health 13:987.

(2016)

- 2) Involvement of oxidative stress and impaired lysosomal degradation in amiodarone induced schwannopathy. Niimi N, Yako H, Tsukamoto M, Takaku S, Yamauchi J, Kawakami E, Yanagisawa H, Watabe K, Utsunomiya K, Sango K. *Eur J Neurosci.* 44:1723-33. (2016)
- 3) The severe clinical phenotype for a heterozygous Fabry female patient correlates to the methylation of non-mutated allele associated with chromosome 10q26 deletion syndrome. Hossain MA, Yanagisawa H, Miyajima T, Wu C, Takamura A, Akiyama K, Itagaki R, Eto K, Iwamoto T, Yokoi T, Kurosawa K, Numabe H, Eto Y. *Mol Genet Metab.* 17:30012-4. (2017)

2. 学会発表

- 1) ニーマンピック病 C 型におけるオートファジー不全を改善する因子の解析
柳澤比呂子、秋山けい子、石井智裕、渡部和彦、河上江美子、遠藤堅太郎、山元大輔、衛藤義勝。第 58 回日本先天代謝異常学会 2016 年（新宿）
- 2) ニーマンピック病 C 型における治療効果をオートファジー不全から探る
柳澤比呂子、秋山けい子、石井智裕、河上江美子、遠藤堅太郎、山元大輔、渡部和彦、衛藤義勝。第 30 回日本小児脂質研究会 2016 年（品川）
- 3) オートファジーの視点による Fabry 病治療効果
柳澤比呂子、ホセイン・モハンマド・アリフ、宮島任司、秋山けい子、五十嵐純子、衛藤義勝。第 39 回日本分子生物学会 2016 年（横浜）

G . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他