

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
分担研究報告書
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型の患者由来繊維芽細胞を用いて、オートファジー不全と SPNS1 との関連を示唆し、さらにファブリー病の患者由来繊維芽細胞におけるオートファジー不全とメチル化との関連を見出した。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

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、オートファジー不全の機序と関わる因子を探索する。

メチル化とオートファジー不全との関連を見出した。

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が、GFPSNS1の発現細胞株では、これらの現象が軽減された。また、ニーマン・ピック病患者由来繊維芽細胞ではSPNS1の発現が低く、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、ファブリー病女性患者の

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、SPNS1がオートファジー不全の改善に寄与する事が明らかになった。さらに、ロイシンとSPNS1、オートファジーとの関連について研究を進め、治療薬の発見を今後の課題とする。

ファブリー病の女性患者由来繊維芽細胞を用いた実験により、オートファジー不全とメチル化との相関が見いだせた。つまり、ファブリー病の女性患者の予後診断にオートファジー不全であるか否かの知見が有用な指標となる可能性が得られた。

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、新たな因子が同定され、ライソゾーム病のオートファジー不全となる機構が示唆された。

F．健康危険情報

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yanagisawa H, Ishii T, Endo K, Kawakami E, Nagao K, Miyashita T, Akiyama K, Watabe K, Komatsu M, Yamamoto D, Eto Y. L-leucine and SPNS1 coordinately ameliorate dysfunction of autophagy in mouse and human Niemann-Pick type disease. *Sci. Rep.* 7:15944. doi: 10.1038/s41598-017-15305-9. PMID: 29162837 (2017) (査読あり)
- 2) Wu C, Iwamoto T, Igarashi J, Miyajima T, Hossain MA, Yanagisawa H, Akiyama K, Shintaku H, Eto Y. Application of a diagnostic methodology by quantification of 26:0 lysophosphatidylcholine in dried blood spots for Japanese newborn screening of X-linked adrenoleukodystrophy. *Mol Genet Metab Rep.* 12:115-118. doi: 10.1016/j.ymgmr.2017.06.004. eCollection (2017) (査読あり)
- 3) 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. The severe clinical phenotype for a heterozygous Fabry female patient correlates to the methylation of non-mutated allele associated with chromosome 10q26 deletion syndrome. _

Mol Genet Metab. 120:173-179. doi:

10.1016/j.ymgme.2017.01.002. Epub

(2017) (査読あり)

2. 学会発表

- 1) 女性ヘテロ接合体ファブリー病患者細胞におけるオートファジーとメチル化との関連
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、衛藤義勝
第 59 回日本先天代謝異常学会 2017 年 (ウエスタ川越)
 - 2) SPNS1 は、ニーマンピック病 C 型のオートファジー不全と関連している
柳澤比呂子、秋山けい子、石井智裕、渡部和彦、遠藤堅太郎、河上江美子、小松雅明、山元大輔、衛藤義勝
第 40 回日本分子生物学会 (2017 年度生命科学合同年次大会) 2017 年 12 月 7 日発表 (神戸ポートアイランド)
- H . 知的財産権の出願・登録状況
- 特になし
 1. 特許取得
特になし
 2. 実用新案登録
特になし
 3. その他