

27V-am09S

リソソーム病におけるオートリソソーム形成異常メカニズムの解明

○田中 裕大¹, 辻 大輔^{1,2,3}, 本窪田 絢加¹, 山口 沙恵香², 渡邊 綾佑¹, 宇野 マイケル 新太郎¹, 杉崎 圭², 伊藤 孝司^{1,2,3} (¹徳島大薬・創薬生命工学分野, ²徳島大院薬・創薬生命工学分野, ³AMED,ACT-M)

リソソーム病は、リソソームに存在する糖鎖加水分解酵素及びその関連因子の遺伝的欠損により発症する先天性代謝異常症である。近年、リソソームが関連する生理機構であるオートファジーが神経変性疾患等の病態に関わっていることが報告されており、リソソーム病においてもその病態とオートファジーとが関係している可能性がある。そこで本研究では、蓄積する基質の異なるリソソーム病間において、オートファジーフラックスについて比較解析を行った。

まず、正常細胞及びリソソーム酵素欠損細胞において、オートファジー誘導後、オートファゴソームとリソソームの共染色をおこなった。その結果、その共局在の割合は正常細胞では約 65%であったのに対し、リソソーム酵素欠損細胞では蓄積基質の種類に関わらず、約 20-30%程度であった。

次に細胞総抽出液と免疫沈降法により単離したリソソーム画分を用いて、免疫染色法及び Western Blot 法により SNARE(soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptor)タンパク質(VAMP8、STX7、STX17、YKT6 及び SNAP29)の発現解析を行った。オートリソソーム形成に関与する SNARE タンパク質については、リソソーム膜タンパク質の LAMP1 と共局在する VAMP8 及び STX7 の免疫蛍光がリソソーム酵素欠損細胞で減少していた。一方、オートファゴソーム膜や細胞質に局在する STX17、YKT6、SNAP29 に関しては、正常細胞と差は認められなかった。さらに Western Blot 法での解析により、リソソーム酵素欠損細胞において、リソソーム画分で VAMP8 及び STX7 の発現が減少していることが示された。以上のことから、リソソーム病では SNARE タンパク質のリソソーム膜上への提示が減少し、オートリソソーム形成が抑制されている可能性が示唆された。