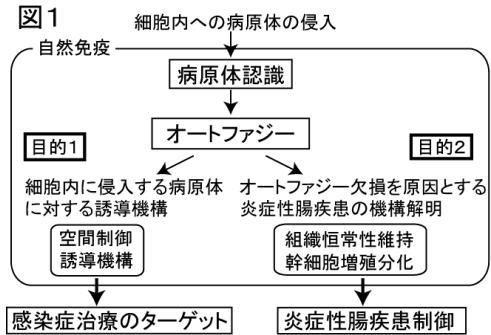


最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	自然免疫におけるオートファジー誘導と組織恒常性維持の分子機構解析
研究機関・部局・職名	東北大学・大学院薬学研究科・准教授
氏名	矢野 環

【研究目的】

ほとんど全ての多細胞生物は自然免疫という免疫システムにより生体内に侵入した病原体に対抗している。自然免疫シグナル経路と応答は、ヒトを含むほ乳類とショウジョウバエで非常に類似しており、ショウジョウバエにより先駆的な自然免疫研究がなされてきた。ショウジョウバエは遺伝学的手法、分子・細胞生物学的手法を容易に扱え、分子・細胞レベルから個体レベルまでをシームレスに研究できる優れたモデル生物である。我々はこれまでに、ショウジョウバエをモデル生物として用い、細菌の細胞壁成分であるペプチドグリカンを認識して自然免疫シグナルを活性化する因子 PGRP-LE を同定し、これが細胞内に侵入して増殖する細胞内寄生細菌の認識に機能し、オートファジーを菌周辺に誘導することで菌の排除に機能していることを明らかにしている。病原体感染によるオートファジー誘導は、ショウジョウバエのみならずヒト細胞においても保存されており、その機構解明は新たな感染症治療開発にきわめて重要である。本研究は、細胞の恒常性維持に機能する細胞内分解系で、基底状態では自己成分の分解に働くオートファジーが、細胞内に侵入した病原体に対して分解系としてその排除に自然免疫応答として機能することに注目し、以下の2つを研究目的として設定した(図1)。



目的1. 病原体認識依存的なオートファジー誘導とその空間的制御の分子機構解明

目的2. オートファジー破綻を遺伝的背景とした炎症性腸疾患の分子機構解析

目的1: オートファジーは細胞内寄生細菌、ウイルス、原虫と様々な病原体に対して選択的に誘導され、その排除に機能する。細胞内寄生細菌にはリステリア菌、赤痢菌、結核菌のようにヒトや家畜に重篤な疾患をもたらすものが多く、また、原虫は治療に有効な薬剤が得難い病原体が多く、オートファジーの制御はこれらによる疾患制御の有力で新たなツールとなる。しかしながら、基底状態で自己成分の分解に機能するオートファジーの非選択的な誘導の過剰亢進は宿主細胞に損傷を与えるため、病原体の周囲に選択的に誘導される機構の解明が重要である。本研究においては、我々がこれまでに見出した病原体認識分子 PGRP-LE をトリガーとした病原体認識依存的オート

ファジー誘導において、その機構を明らかにする。また、我々はこの病原体認識選択的オートファジー誘導において、microRNA がその空間的制御に機能していることをこれまでに見出している。これは、microRNA がオートファジー制御薬のシードとなり得る可能性を示唆している。そこで、本研究ではリステリア菌感染時に宿主細胞に発現する microRNA を網羅的に解析し、その機能を明らかにする。

目的2：腸管炎症性疾患であるクローン病は、その原因の分子機構が不明なため根治療法が未だなく、難治性特定疾患として指定されている。これまで、その病因として遺伝的要因と環境要因が指摘されているが、近年、原因遺伝子座の解析によりオートファジー関連遺伝子である Atg16L1, IRGM、さらに細胞内細菌認識分子である NOD2 における変異が示され、Atg16L1 ノックアウトによるモデルマウスでは腸管恒常性が異常であることが明らかとなっている。しかしながら、これらの解析では、病態がオートファジー破綻（遺伝的要因）とそれに加え腸内細菌や腸管感染性ウイルス（環境要因）により小腸パネート細胞からの分泌異常や血球細胞からの炎症性サイトカイン過剰分泌がおきることは明らかであるが、病態の起きる機構が全く不明である。また、マウスを使用した系では自然免疫に加え、獲得免疫が炎症に関与しており、オートファジー破綻により自然免疫で初めに起きる病因を追求するのが困難である。そこで本研究では、モデル動物であるショウジョウバエの利点を生かし、オートファジー破綻により起きる腸管恒常性異常に関与する遺伝子のゲノム網羅的なスクリーニングによる同定を行い、それらの機能を総合的に細胞、組織学的、さらには個体レベルで解析して、炎症性腸疾患の病態の起きる自然免疫における分子機構を明らかにする。

【総合評価】

	特に優れた成果が得られている
	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
○	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

研究の着想として、ヒト疾患モデルをショウジョウバエで模して解析することは、その解析スピードが速いこと、さらには網羅的な解析が容易である、という点で期待できるものである。しかしその最大のメリットが活かされていないために期待外れの感が拭えない。他の NEXT 研究課題と比較しても極めて貧弱な研究成果しか挙げられていないように思われる。その原因と考えられる一つは、本研究成果に関して公表された研究成果が一件しかなく、実施状況報告書等書かれていることが客観的に評価できないことに起因する。さらに、当初の掲げられた目的1は研究支援者の妊娠により日和見感染を起こす病原体の使用ができなくなったこと、出産に伴う退職後の人員補充ができなかったことにより一部しか達成できなかった。また、全体として研究グ

ループが小さくこれだけのマンパワーではすべての目的が達成できないのは当初から明らかであり、ポストクの雇用や共同研究の積極的な推進などを考えるべきであったが、それができなかったのはマネジメント力の不足から来ていると考えざるを得ない。

② 目的の達成状況

・ 所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

項目 1 (目的 1) 「病原体認識依存的なオートファジー誘導とその空間的制御の分子機構解明」については研究スタート時に存在が示されていた病原体認識分子 PGRP-LE とオートファジー関連分子 Atg8 に相互作用する因子として、Ref(2)P との複合体形成や相互作用ドメインを見出し、同時に発現する microRNA をスクリーニングした。しかし、上記の理由により細胞、個体レベルでの解析は途中でストップした。

項目 2、3 (目標 2) 「オートファジー破綻を遺伝的背景とした炎症性腸疾患の分子機構解析」についても、ショウジョウバエを用いた慢性腸炎モデルを作成し、少なくとも 3 遺伝子に重要な役割を見出しつつあるように記されているが、客観的な評価を経た研究報告が一切なされていないため詳細は判断できない。

いずれの研究テーマに関しても、大震災からの復興が研究の進展を阻害したという要因を加味しても、研究は計画に比べて大幅に遅れているように思われ、最終報告時までにそれぞれの論文発表が適切になされるべきであるとの指摘を受けたが、最終報告においても研究継続のための科学研究費(新学術研究)を取得済みとの記載はあるが、論文については準備中としか書かれていない。

③ 研究の成果

・ これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・ 当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

現時点ではいずれの研究計画に対しても、網羅的な解析を行い、スクリーニングでヒットした「候補」分子を得たにすぎない。本格的な研究のスタートラインに立った時点のように思われ、先進性や優位性のある発見や技術が得られたようには判断できない。

現時点ではいずれの研究計画に対しても研究報告がなされていないために、網羅的な解析で得られた候補分子が真にブレークスルーを呼ぶものか、また、項目 2 に関しての慢性腸炎モデルでのオートファジーの関与や腸内細菌の関与がヒト疾患においても普遍的な意味をもつのかどうか等は、希望的な推測に過ぎないのではないかと。

ショウジョウバエ microRNA の網羅的な解析が可能になったとあるが、解析が行われていないために判断できない。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

ショウジョウバエをモデル動物とする研究においては、オートファジーの分子機構に対して一定の寄与が見込まれると思われる。

腸管上皮特異的オートファジー欠損個体の DSS 感受性を回復させる遺伝子欠損のゲノム網羅的スクリーニングを行い、常染色体すべてについて完了、同定した遺伝子の解析から、腸管におけるオートファジー不全がもたらす個体死に腸管上皮細胞極性を規定する遺伝子が関与していることを明らかにした。また、すでに分化した上皮細胞におけるオートファジー不全が、上皮細胞からのサイトカインの分泌異常を介して幹細胞の異常増殖を引き起こすことで上皮細胞における細胞極性の異常を生じさせ、腸管恒常性を破綻させていることを明らかにした。これらの成果がクローン病などのヒト疾患機序解明とどのように関連するのかをもっと積極的に明らかにする必要がある。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

本研究課題に関する学会発表はあるものの論文発表はない。知的財産権の出願・取得は行われていない。数名の研究グループでの実施体制では研究の進展が限られる。もっと積極的な共同研究体制を敷くべきであった。