

## ニーマンピック病 C 型タンパク質の新しい機能の解明 ～リソソーム膜に特殊な領域を形成し、脂肪滴の 取り込み・分解を促進する～

名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長 門松 健治）分子細胞学分野の辻 琢磨（つじ たくま）助教、藤本 豊士（ふじもと とよし）教授らの研究グループは、出芽酵母を用いた実験により、ニーマンピック病 C 型（NPC 病）タンパク質の新たな機能を明らかにしました。NPC 病はリソソーム内にコレステロールが異常蓄積し全身に症状が現れる遺伝性疾患ですが、有効な治療法は見つかっていません。

研究グループはまず急速凍結・凍結割断レプリカ法という特殊な電子顕微鏡法を用いて、出芽酵母の液胞（リソソームに相当する）膜にステロールの豊富な領域「ラフト」が形成され、「ラフト」が拡大することによって脂肪滴を包み込み、液胞の中で分解するマイクロオートファジー（オートファジーの一つのタイプ）という現象を起こすことを明らかにしました。さらにこの「ラフト」の拡張に必要なステロールの輸送が NPC タンパク質によって行われることを見出しました。

NPC 病では細胞内の脂質代謝全般に障害が起こることが分かっていますが、今回の研究により NPC タンパク質の異常がリソソーム膜の機能に直接的な障害を与えることが明らかになりました。また、これまでよく分からなかったマイクロオートファジーが起こる仕組みについても、その分子機構の一端が分かったこととなります。ヒトと出芽酵母の NPC タンパク質は非常によく似ているため、ヒトの NPC 異常でもリソソーム膜に同様の異常が生じている可能性があります。今後は、NPC 病の病態解明や治療法開発の研究にも寄与することが期待されます。

本研究成果は、国際総合学術誌である eLife（英国時間 2017 年 6 月 7 日付の電子版）に掲載され、その内容は eLife digest として取り上げられました。

# ニーマンピック病 C 型タンパク質の新しい機能の解明 ～リソソーム膜に特殊な領域を形成し、脂肪滴の 取り込み・分解を促進する～

## ポイント

- ニーマンピック病 C 型(NPC 病)は NPC 遺伝子の先天異常によって引き起こされる疾患で、肝臓や脾臓の腫大のほか、中枢神経に障害などが生じる。NPC タンパク質はステロールを輸送する機能を持ち、NPC タンパク質の異常は細胞内の脂質代謝に障害をもたらすことが知られている。
- 特殊な電子顕微鏡の観察法を用いることにより、出芽酵母の NPC タンパク質で運ばれるステロールがリソソーム膜に「ラフト」と呼ばれる特殊な領域を形成させることが分かった。
- この「ラフト」が凹むことによって脂肪滴がリソソーム内に取り込まれ、分解されることが明らかになった。NPC タンパク質に異常があると「ラフト」の形成が減少し、脂肪滴の取り込みと分解が起こらなくなった。
- 脂肪滴は過剰な脂肪を貯蔵する細胞内の構造で、タンパク質の分解などにも関与する。NPC 病細胞で見られる異常には脂肪滴取り込み・分解の障害が関与している可能性がある。

## 1. 背景

ニーマンピック病 C 型 (NPC 病) は細胞内のコレステロール輸送に関わる NPC タンパク質の機能不全により、肝臓・脾臓の腫大や中枢神経の障害が起こる遺伝性疾患です。体内の細胞は、血中から取り込んだコレステロールを細胞内のリソソームで処理し、いろいろな形で利用しますが、NPC タンパク質がうまく働かないとリソソーム内に異常な量のコレステロールが溜まってしまい、これが様々な障害につながるということが分かっています。しかしながら、どのようにして NPC 病が発症するのか、その仕組みはよくわかっておらず、有効な治療法も見つかっていません。

## 2. 研究成果

NPC タンパク質はリソソームの内部でコレステロールと結合し、そのコレステロールをリソソームの膜に挿し込む働きがあります。その後、このコレステロールは細胞内の様々な場所に運ばれて利用されます。コレステロールは細胞を作るいろいろな膜の重要な構成成分の一つであり、膜のなかに「ラフト」と呼ばれる特殊な領域を形成することが知られています。

研究グループは、NPC 病ではリソソームの膜に差し込まれるべきコレステロールの量が減り、その結果、リソソーム膜の機能に重大な影響が出ているのではないかと考えました。そこで、NPC タンパク質がヒトと非常に良く似ている出芽酵母を、急速凍結・凍結割断レプリカ法という特殊な電子顕微鏡法を用いて詳細に解析しました。その結果、出芽酵母の液胞 (リソソームに相当) の膜に「ラフト」という特殊な領域が形成され、その「ラフト」が拡張することによって脂肪滴を包み込み、液胞の中に取り込んで分解する現象が

起きていることを発見しました（この現象はオートファジー（自食作用）の一つのタイプで、ミクロオートファジーと呼ばれるものです）。さらに、NPC タンパク質を持たない細胞では「ラフト」の拡張が起こらず、脂肪滴の液胞への取り込みや分解が著しく減少していることがわかりました。

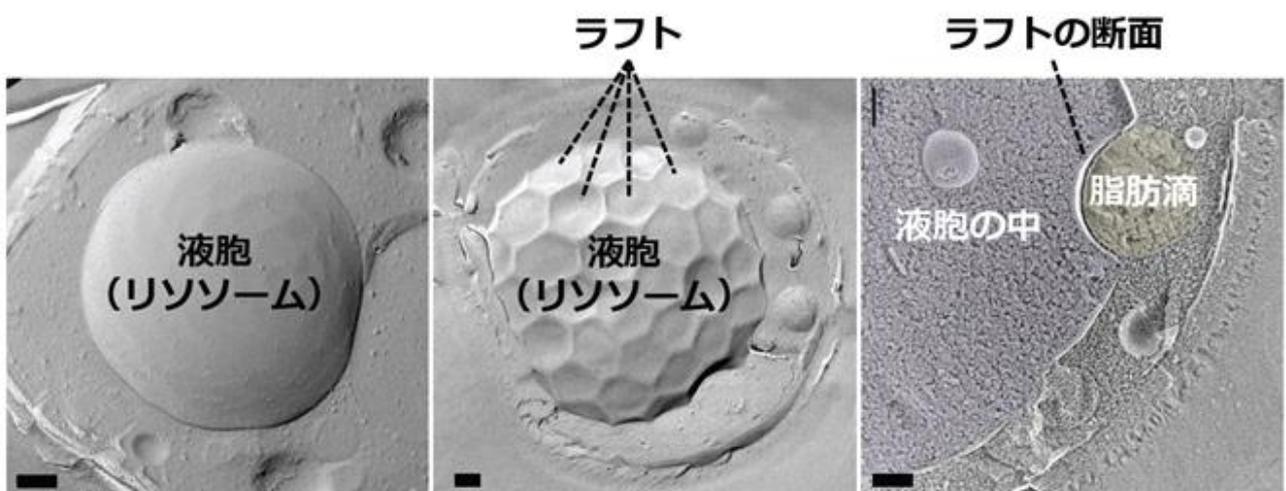
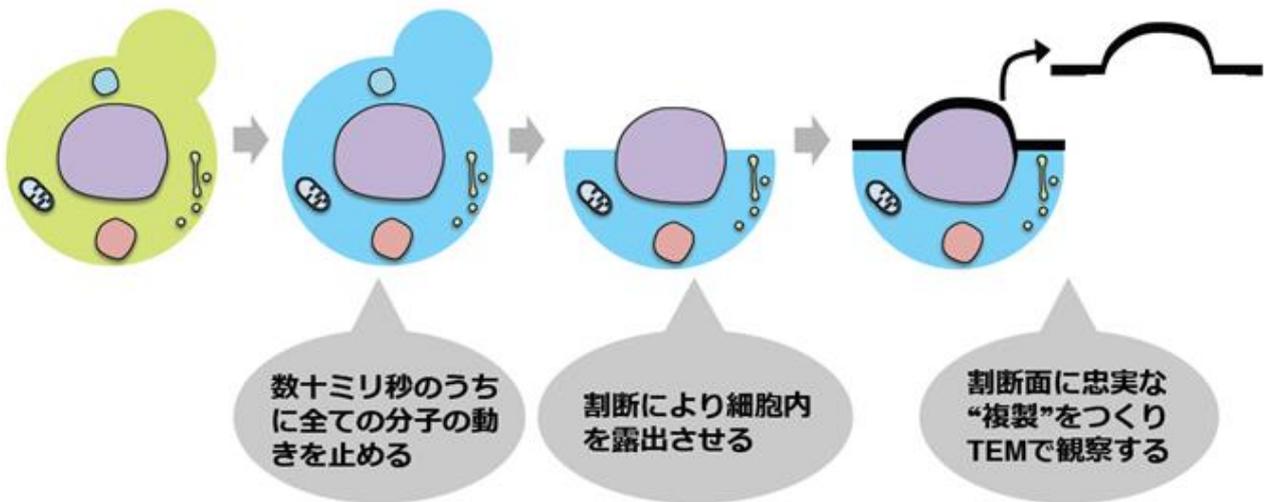
脂肪滴は過剰な脂肪を貯蔵する細胞内の構造ですが、タンパク質の分解などさまざまな機能を持っています。今回の結果は、NPC タンパク質の異常は細胞の脂質代謝全般に影響を与える以前に、リソソーム膜の機能を障害していることを示しました。NPC 病の異常の一部は、このようなリソソームによる脂肪滴の取り込み・分解の障害が原因となって起こっている可能性が考えられます。

## 急速凍結・凍結割断レプリカ電子顕微鏡法

①急速凍結

②割断

③レプリカ作製&観察

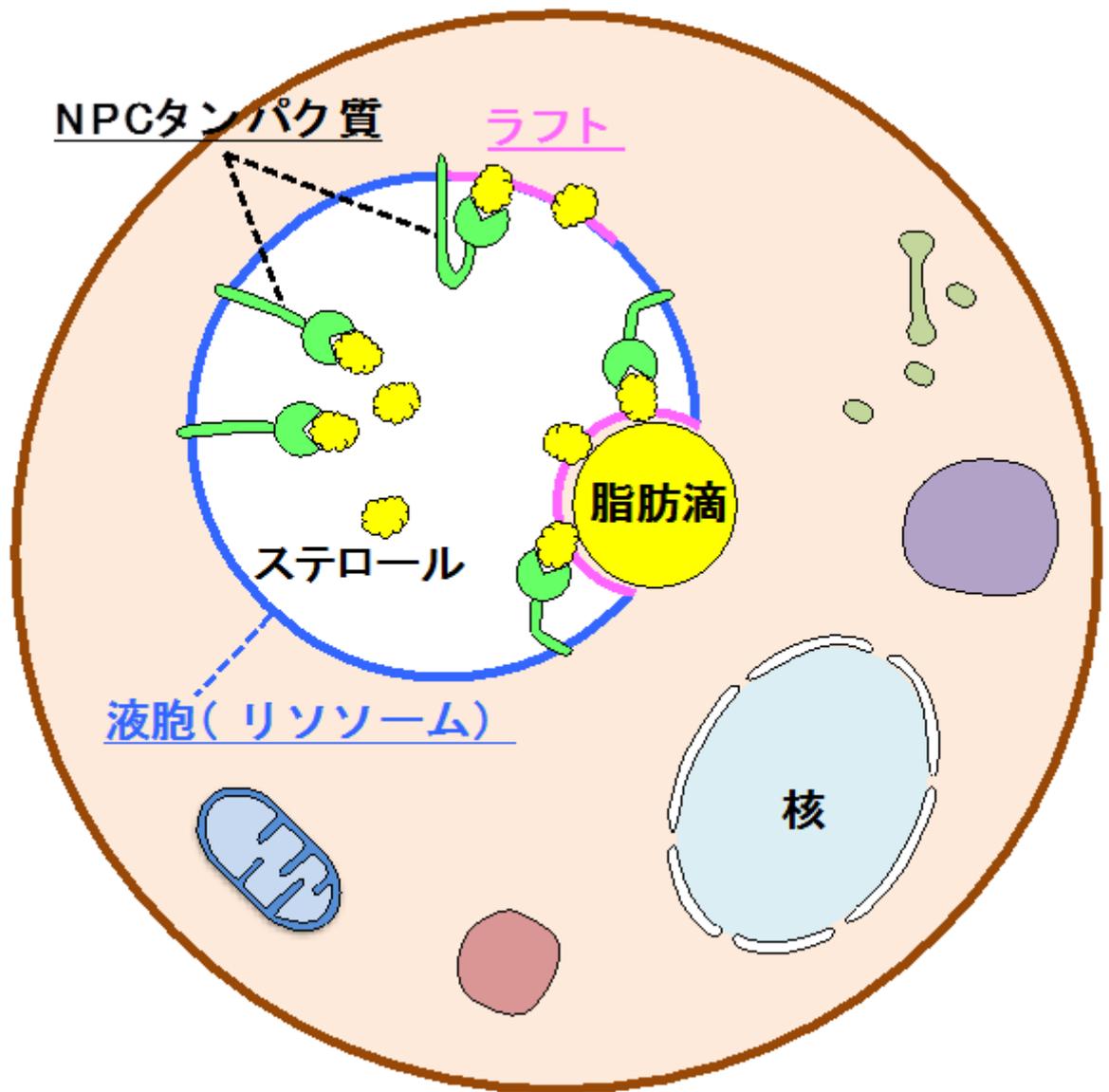


左：「ラフト」が形成されていない液胞（リソソーム）

中：「ラフト」が形成された液胞（リソソーム）

右：「ラフト」に包まれ液胞の中に入っていく途中の脂肪滴

スケールバーはいずれも200 nm



### 3. 今後の展開

細胞内の脂質代謝異常がニーマンピック病C型の全身症状（特に中枢神経症状）をもたらすメカニズムは解明されておらず、有効な治療法も見つかっていません。今回の結果は従来の研究ではあまり注目されなかったリソソーム膜を特殊な電子顕微鏡法で観察してはじめて得られたものであり、ニーマンピック病C型の病態の解明や治療法の開発にも寄与することが期待されます。また、これまであまりよくわかっていなかったミクロオートファジーの分子機構の解明を進める糸口になると考えられます。

### 4. 用語説明

※1 ニーマンピック病C型（NPC病）：NPC遺伝子の異常で引き起こされるヒトの遺伝性疾患。典型的な症状は肝臓や脾臓の腫大、中枢神経の障害など。NPCタンパク質はコレステロールをリソソームの中から外に輸送する機能を持つため、NPCタンパク質がうまく機能しないとリソソームに異常な量のステロールが溜まり、細胞内の脂質代謝に様々な異常が起こる。その異常が上記の症状を引き起こすと考えられているが、発症に至るメカニズムは十分に解明されておらず、有効な治療法も確立していない。

※2 急速凍結：非常に高い圧力（2100 bar）をかけながら細胞を液体窒素（-196℃）により急速に凍結する方法。細胞は数10ミリ秒以内に凍結されるため、微細な構造まで生きたままの状態で保存することができる。

※3 凍結切断レプリカ：凍った細胞をナイフで切断して中身を露出させたあと、真空中で白金と炭素の微粒子を吹き付けて、切断面に沿った薄膜（レプリカ）を作る。このレプリカを透過型電子顕微鏡で見ることにより、細胞を作る様々な膜構造を詳細に観察することができる。

※4 脂肪滴：余分な脂肪を溜め込む細胞内の構造。近年の研究により、タンパク質の分解など、脂肪貯蔵以外にも多様な機能に関与することがわかってきた。

## 5. 発表雑誌

Takuma Tsuji<sup>1</sup>, Megumi Fujimoto<sup>1</sup>, Tsuyako Tatematsu<sup>1</sup>, Jinglei Cheng<sup>1</sup>, Minami orii<sup>1</sup>, Sho Takatori<sup>1,2</sup>, Toyoshi Fujimoto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Cell Biology and Anatomy, Nagoya University Graduate School of Medicine

<sup>2</sup>Laboratory of Neuropathology and Neuroscience, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo (Present affiliation)

" Niemann-Pick type C proteins promote microautophagy by expanding raft-like membrane domains in the yeast vacuole"

eLife (英国時間 2017 年 6 月 7 日付けの電子版に掲載)

DOI : <http://dx.doi.org/10.7554/eLife.25960>

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/elife\\_20170609en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/elife_20170609en.pdf)