

Title	THOC4 regulates energy homeostasis by stabilizing TFEB mRNA during prolonged starvation
Author(s)	藤田, 敏治
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/85258">https://hdl.handle.net/11094/85258</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏名 Name	藤田 敏治
論文題名 Title	THOC4 regulates energy homeostasis by stabilizing <i>TFEB</i> mRNA during prolonged starvation (THOC4は、TFEBのmRNAの安定性を調節することで長期飢餓時のエネルギー恒常性の維持に寄与する)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>オートファジーは細胞内の大規模分解経路として知られている。オートファジーは細胞内で常に起こっているが、細胞が飢餓等のストレスにさらされると、強く誘導される。オートファジーではオートファゴソームと呼ばれる二重膜構造が出現し、これが細胞質の様々な成分を包み込みリソソームに運んで分解する。オートファジーは一連のオートファジー関連因子(Atg因子)によって駆動され、オートファジー・リソソーム機能のマスター転写因子として知られるTFEBによる正の制御を受ける。TFEBは栄養センサーとして知られるmTORによるリン酸化を介した翻訳後修飾によりその活性が抑制されることが知られているが、これ以外の制御機構についてはよく分かっていない。本研究ではオートファジー制御因子探索の過程で同定したRNA結合タンパク質THOC4のオートファジー制御機構とその生理的意義について検討した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>新規オートファジー制御因子を同定する目的で、オートファゴソーム形成部位に局在するタンパク質を質量分析により複数特定した。それらの因子の中からsiRNAを用いたスクリーニングにおいてオートファジー活性に特に強い影響を示したRNA結合タンパク質THOC4に着目し解析を行った。まずTHOC4抑制がオートファジー活性に与える影響を各種アッセイにより検討した。オートファジー活性を評価するLC3 flux assay, オートファジー特異的基質の分解など、全てのアッセイにおいて、富栄養時と短期の飢餓時にはTHOC4抑制によってオートファジーが活性化することがわかり、THOC4はオートファジーの抑制因子であると考えられた。THOC4を抑制した細胞ではオートファジー亢進と一致してTFEBは脱リン酸化され活性化すると考えられたが、予想に反しTFEBのタンパク質発現そのものが顕著に低下していた。さらにTFEB欠損細胞においても定常時と短期の飢餓時はTHOC4抑制によりオートファジーの亢進が見られた。このことからTFEBはオートファジーのマスター制御因子と考えられているが、TFEB非依存的なオートファジーの制御機構が存在し、THOC4はこの機構を介してオートファジーを抑制することが示唆された。次にTHOC4によるTFEBの発現制御メカニズム、その生理的意義について検討した。THOC4を抑制した細胞にオートファジー、さらにはプロテアソームの阻害剤を加えてもTFEB発現が回復しないことから、THOC4抑制によるTFEBの減少はタンパク質分解によるものではないことが示唆された。THOC4抑制細胞では、TFEBのmRNAの量が低下していること、これが転写阻害剤添加下でも認められること、さらに外来のプロモーターによって発現させたTFEBも低下することなどから、THOC4はTFEBのmRNAの安定性を保つことでTFEBの発現維持に寄与すると結論づけた。一般にmRNAの安定性はpolyA鎖の長さによって規定されることが知られているが、実際にTHOC4抑制によりTFEBのpolyA鎖の短縮が認められた。よってpolyA鎖長維持によりTFEB mRNA安定性が保たれていると考えられた。</p> <p>このTHOC4によるTFEB制御の生理的意義を考える上で飢餓の長さが重要になるのではないかと予想を立てた。先行研究から長期の飢餓時にはTFEBによるオートファジー活性化により脂肪分解が促進することが知られている。そこで長期飢餓時のTHOC4とTFEBの発現を調べると、ともにmRNAレベルで亢進していることが確認された。さらに長期飢餓時では定常時や短期飢餓時とは異なり、THOC4抑制によりオートファジー活性は低下することが分かった。また長期飢餓においてTHOC4を抑制すると、脂肪滴が蓄積し脂肪分解が阻害されることが培養細胞と線虫を用いた実験で明らかとなった。THOC4に加えてTFEBを同時に抑制しても脂肪の更なる蓄積はみられないことから、THOC4はTFEBを介して脂質分解を促進することが示唆された。これらのことから、長期飢餓においてTHOC4によるpolyAを介したTFEBのmRNAレベルでの発現維持が、オートファジー活性維持と脂肪代謝に寄与していると考えられる。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>THOC4は富栄養下や短期飢餓では、オートファジーを抑制している。しかし飢餓が長期に及ぶと、TFEBの発現を維持することで脂肪滴分解を促進し、長期飢餓時のエネルギー恒常性に寄与する。THOC4は飢餓の長さに応じてオートファジーを正にも負にも制御し得る非常にユニークな因子であることがわかった。加えて、TFEB非依存的なオートファジー制御機構の存在が示唆された。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)	
藤田 敏治	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 大阪大学教授 吉森 侯
	副 査 大阪大学教授 竹原 敏彦
	副 査 大阪大学教授 高島 式三
<b>論文審査の結果の要旨</b>	
<p>オートファジーは細胞内の大規模分解経路として知られている。オートファジーは細胞内で常に起こっているが、細胞が飢餓等のストレスにさらされると、強く誘導される。オートファジーではオートファゴソームと呼ばれる二重膜構造が出現し、これが細胞質の様々な成分を包み込みリソソームに運んで分解する。オートファジーは一連のオートファジー関連因子(Atg因子)によって駆動され、オートファジー・リソソーム機能のマスター転写因子として知られるTFEBによる正の制御を受ける。TFEBは栄養センサーとして知られるmTORによるリン酸化を介した翻訳後修飾によりその活性が抑制されることが知られているが、これ以外の制御機構についてはよく分かっていなかった。本研究ではオートファジー制御因子探索の過程で同定したRNA結合タンパク質THOC4のオートファジー制御機構とその生理的意義について検討した。</p> <p>THOC4は富栄養下や短期飢餓では、TFEB非依存的にオートファジーを抑制している。しかし飢餓が長期に及ぶと、TFEBの発現を維持することで脂肪滴分解を促進し、長期飢餓時のエネルギー恒常性に寄与する。THOC4は飢餓の長さに応じてオートファジーを正にも負にも制御し得る非常にユニークな因子であることがわかった。加えて、TFEB非依存的なオートファジー制御機構の存在が示唆された。</p> <p>これらの発見は博士(医学)の学位授与に値する。</p>	