

天然由来アルカロイドが引き起こすユニークな二相性細胞応答

天然に由来するアルカロイド（窒素を含む有機塩基類）であるテトランドリンが、細胞小器官の一つであるリソソームを損傷させ、リソファジー（オートファジーが傷ついたリソソームを選択的に隔離、分解する）を引き起こすと同時に、リソソームの新生を促す二相性の細胞応答が働くことを見いだしました。

オートファジーとは、細胞の中の不要になったタンパク質や小器官を自己分解する仕組みで、「細胞の掃除屋」とも例えられます。このとき、リソソームと呼ばれる細胞小器官が、分解を担います。これまで、中国や台湾に自生するツツラフジ科植物 *Stephania tetrandra* に豊富に含まれるアルカロイド（窒素を含む有機塩基類）のテトランドリンが、オートファジーに作用して、抗がんや神経細胞保護活性などさまざまな薬理活性を発現することが知られていました。しかし、その詳細なメカニズムはよく分かっていませんでした。

本研究では、テトランドリンに蛍光物質を付加した標識体を用いて、細胞内における化合物の居場所を探索しました。その結果、この標識体がリソソームに特異的に集積することを見いだしました。また、テトランドリンは、通常、酸性状態にあるリソソーム内の pH を一時的に上昇させ、その機能を阻害することが分かりました。そして、これを引き金に、損傷したリソソームがオートファジーによって選択的に取り除かれる現象（リソファジー）が引き起こされると同時に、リソソームの新生が促されるという、二相性（二段階）の細胞応答が働くことを発見しました。

これまで、リソソームに作用する薬剤として、リソソーム膜上のチャネルを阻害したり、内部の加水分解酵素の働きを抑えるものが知られていましたが、今回発見されたテトランドリンにより引き起こされる細胞の応答は、既存薬剤とは異なる新たなメカニズムと考えられます。

研究代表者

筑波大学 生命環境系

宮前 友策 准教授

ZHE YANG（ライフイノベーション（創薬開発）学位プログラム 博士後期課程3年）

研究の背景

オートファジーとは、細胞の中の不要になったタンパク質や小器官を自己分解する仕組みで、「細胞の掃除屋」とも例えられます。このとき、リソソームと呼ばれる細胞小器官が、分解の実行を担います。これまで、中国や台湾に自生するツツラフジ科植物の *Stephania tetrandra* に豊富に含まれるテトランドリンというアルカロイド（窒素を含む有機塩基類）が、オートファジーに作用して、抗がんや神経細胞保護活性などさまざまな薬理活性を発現することが知られていました。しかし、テトランドリンがオートファジーをどのように制御するのか、詳細なメカニズムはよく分かっていませんでした。

研究内容と成果

本研究では、テトランドリンに蛍光物質を付加した標識体（テトランドリン標識体）を用いて、細胞内におけるテトランドリンの居場所を探索しました（図1）。テトランドリン標識体を HeLa 細胞^{注1)}に与えた後、各種細胞小器官を染色し、それぞれの細胞内局在を観察しました。その結果、テトランドリン標識体由来する蛍光シグナルは、ミトコンドリアや小胞体を染色したときの蛍光シグナルとは共局在せず、リソソームの染色による蛍光シグナルとだけ、特異的に共局在することを発見しました。また、テトランドリンは、通常、酸性状態にあるリソソームの pH を一時的に上昇させ、その機能を阻害することが分かりました。さらに詳細に pH 変化の時間経過を調べたところ、テトランドリン処理により上昇したリソソーム内の pH が、時間経過とともに徐々に下がって酸性へと戻り、24 時間後には完全に平常レベルまで回復しました。

細胞には、損傷したリソソームがオートファジーにより選択的に除去されるリソファジー^{注2)}と呼ばれる仕組みが備わっています。すなわち、オートファジーは、その実行分子であるリソソームさえも分解してしまうというユニークな機構を持ちます。そこで、テトランドリンがリソファジーを促している可能性を検証するため、リソファジーのマーカータンパク質の一つである galectin-3 (Gal3)^{注3)}の変動を調べました。これにより、テトランドリン処理後3時間以内に Gal3 が誘導すること、そして、時間経過とともにその量が減少していくことが分かり、この変動は、pH の変化とよく一致していました。さらに、リソソームの新生を司る遺伝子の転写を促進する transcription factor EB (TFEB)^{注4)}がテトランドリン処理により脱リン酸化を受け、核内に移行することを見いだしました。これらの結果から、テトランドリン処理により、損傷したリソソームがリソファジーによって除去されると同時に、リソソーム新生が促されるという、二相性（二段階）の細胞応答が働くことが明らかになりました（図2）。

今後の展開

リソソームに作用する薬剤としては、これまで、リソソーム膜上のチャネルを阻害したり、内部の加水分解酵素の働きを抑えるものが知られていましたが、今回発見された、テトランドリンにより引き起こされる細胞の応答は、これらの既存薬剤とは異なるメカニズムと考えられます。そのため、テトランドリンは、今後、がんや神経変性疾患など、オートファジーやリソソームの異常が発症に関わる疾患の機構を明らかにするための新たなツールになると期待されます。

また、テトランドリンは、これらの疾患に対する抑制効果が示唆されており、本研究成果は、テトランドリンの薬理活性のメカニズムを明らかにしていく上でも重要な知見となります。

参考図

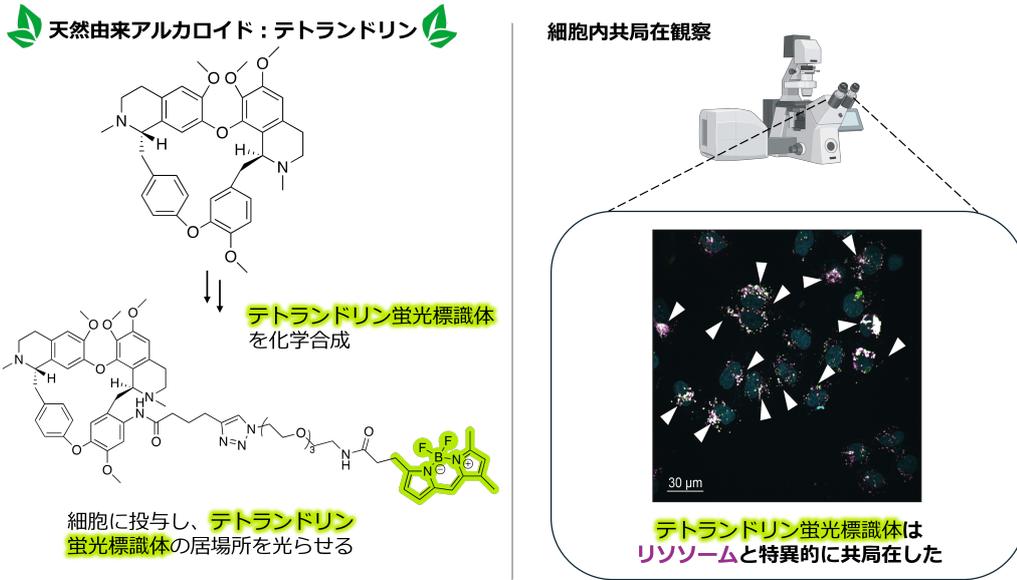


図1 本研究で行った実験の概要図

テトランドリンの化学構造に、蛍光物質を接続したテトランドリン蛍光標識体を独自に化学合成した(図左)。これを細胞に投与し、その局在を観察した結果、リソソームと特異的に共局在した(図右)。右下の顕微鏡観察画像では、蛍光標識体由来する蛍光シグナルを緑色、リソソームの染色由来する蛍光シグナルを紫色でそれぞれ表示しており、画像の重ね合わせにより両色が重なったこと由来する白色の輝点(図中の白矢印)が数多く観察されている。

天然由来アルカロイドの持つユニークな二相性細胞応答

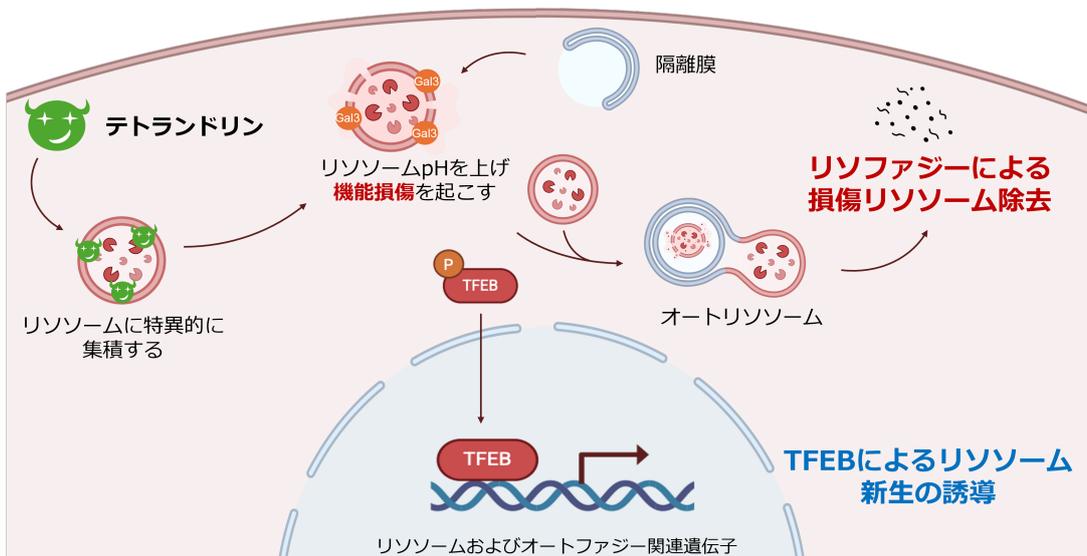


図2 本研究で明らかになった二相性細胞応答の概要図

テトランドリンはリソソームに特異的に集積し、通常、酸性状態にあるリソソーム内のpHを一時的に上昇させ、その機能を阻害する。そして、これを引き金に、損傷したリソソームが選択的に隔離膜に認識された後、オートリソソーム(オートファジーにおいて、細胞内のさまざまな物質を包んだ球体がリソソームと融合したもの)内で分解される。このようにリソファジーによって除去されると同時に、転写因子であるTFEBが働くことでリソソーム新生が促されるという二相性の細胞応答が引き起こされる。

用語解説

注1) HeLa 細胞

ヒト由来子宮頸がん細胞。老化せず繰り返し分裂可能（不死）な培養細胞株であることから、医学や生物学の研究に幅広く用いられている。

注2) リソファジー (lysophagy)

リソソームに障害が生じた際にオートファジーが選択的に損傷リソソームを隔離および除去する仕組みのこと。リソファジーは腎症の病態悪化を抑制することが分かっており、細胞や個体にとって重要な機能であると考えられている。

注3) Galectin-3

レクチン（糖結合性のタンパク質または糖タンパク質）ファミリーの一種で、リソソームの損傷に応答して、リソファジーによる除去や、リソソームの修復、新生を司ることが明らかにされている。

注4) Transcription factor EB (TFEB)

リソソームの生合成と、オートファジーに関連する因子の転写を制御する転写因子。

研究資金

本研究は、科研費による研究プロジェクト（25K01910、23K23547）および次世代研究者挑戦的プログラム（JPMJSP2124）の一環として実施されました。

掲載論文

【題名】 Biphasic Cellular Response Triggered by Tetrandrine-Mediated Dysfunction and Lysophagic Clearance of Lysosomes.

（テトランドリンが引き起こすリソソームの損傷と除去からなる二相性細胞応答）

【著者名】 Z. Yang, T. Takahashi, A. Hoshino, T. Yamamoto, H. SHigemori, Y. Miyamae

【掲載誌】 *ACS Chemical Biology*

【掲載日】 2025年6月16日

【DOI】 10.1021/acscchembio.5c00220

問い合わせ先

【研究に関すること】

宮前 友策（みやまえ ゆうさく）

筑波大学 生命環境系 准教授

URL: <https://trios.tsukuba.ac.jp/researcher/0000003934>

<https://sites.google.com/view/y Miyamae-tasukuba>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp