

早稲田大学 人間科学学術院 人間科学会 諸費用補助成果報告書 (Web 公開用)

申請者 (ふりがな)	久原 麻那 (くはら まな)
所属・資格 (※学生は課程・学年を記載。卒業生・修了生は卒業・修了年月も記載)	人間科学研究科 健康・生命医科学領域 修士 1 年
発表年月 または事業開催年月	2024 年 7 月
発表学会・大会 または事業名・開催場所	第 37 回 日本動物細胞工学会 2024 年度大会 (JAACT2024)
発表者 (※学会発表の場合のみ記載、共同発表者の氏名も記載すること)	久原 麻那, Xie Kun, 矢野 敏史, 原 太一
発表題目 (※学会発表の場合のみ記載)	ワサビ 6-MSITC のオートファジー誘導メカニズムの解明
発表の概要と成果 (抄録を公開している URL がある場合、「概要・成果」を記載した上で、URL を末尾に記してください。また、抄録 PDF は別途ご提出ください。なお、抄録 PDF は Web 上には公開されません。)	
【背景・目的】 日本原産のワサビには、6-(methylsulfinyl)hexyl isothiocyanate (6-MSITC) という特有のイソチオシアネートが豊富に含まれており、がんや生活習慣病の予防をはじめとした多様な健康効果を有することが報告されている。これらの疾患や老化に対して予防的に機能する細胞内のシステムとしてオートファジーが知られている。オートファジーは細胞内成分の分解機構であり、再生のための新陳代謝を駆動している。これまでの研究で、6-MSITC がオートファジーを活性化することを見出している。そこで本研究では、ワサビ 6-MSITC の有する健康効果にオートファジーが一翼を担っている可能性に着目し、6-MSITC のオートファジー活性化の作用メカニズムを明らかにすることを目的とした。	
【方法】 オートファジーフラックスの測定が可能な蛍光プローブ (GFP-LC3-RFP-LC3 Δ G、tandem fluorescent-tagged LC3) を導入した細胞を用いて、蛍光強度の定量や顕微鏡観察によって、オートファジーを解析した。リソソームの生合成におけるマスターレギュレー	

ターである TFEB の核移行は TFEB-GFP を導入した細胞を用いて観察し、LysoTracker などの蛍光試薬でリソソーム機能などを解析した。遺伝子発現やタンパク質発現の解析には、qPCR や western blotting を用いた。

【結果】

まず、多面的なオートファジーフラックスの解析から、6-MSITC がオートファジーを活性化することを明らかにした。次に、オートファジーでは、細胞内成分はリソソームで分解されることから、リソソーム生合成のマスターレギュレーターである TFEB に着目した。蛍光観察の結果、6-MSITC によって TFEB の核移行の促進が観察された。また、6-MSITC によって、TFEB の標的遺伝子の発現量の増加やリソソームの機能亢進も示された。そこで、TFEB 欠損細胞を用いて比較検討したところ、6-MSITC が有するオートファジー活性化能やリソソーム機能亢進作用は TFEB 欠損細胞で減衰することが示された。さらに、6-MSITC による細胞ストレスに対する保護効果には、TFEB が重要な役割を担っていることが示唆された。

【考察・まとめ】

ワサビ 6-MSITC は、転写因子である TFEB の活性化を介してリソソーム機能や生合成を亢進することで、オートファジーを活性化していることが示された。また、TFEB を介したリソソーム機能の亢進やオートファジー活性化が、細胞ストレスへの保護効果に寄与する可能性が示された。以上のことから、6-MSITC はオートファジー活性成分として健康寿命延伸や QOL 向上に寄与する機能性シーズとなると期待される。