

オートファジー活性におけるLysosomal integral membrane protein-2の 関与

坂根 洋、卜部純菜、中平早紀、宮田菜生、日野克海、赤崎健司

Biochem. Biophys. Res. Commun., **533**, 976-982 (2020).

Involvement of lysosomal integral membrane protein-2 in the activation of autophagy

Hiroshi Sakane, Junna Urabe, Saki Nakahira, Nao Miyata, Katsumi Hino, and Kenji Akasaki

ABSTRACT Lysosomal integral membrane protein-2 (LIMP-2) is a type III transmembrane protein that is highly glycosylated and mainly localized to the lysosomal membrane. The diverse functions of LIMP-2 are currently being uncovered; however, its participation in macroautophagy, usually described as autophagy, has not yet been well-investigated. To determine the possible involvement of LIMP-2 in autophagic activity, we examined the intracellular amount of microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3)-II, which is well-correlated with autophagosome levels, in exogenous rat LIMP-2-expressing COS7 and HEK293 cells. Transient or stable expression of LIMP-2-myc significantly increased the levels of LC3-II. Conversely, knockdown of LIMP-2 decreased the LC3-II levels in NIH3T3 cells. Furthermore, approaches using lysosomal protease inhibitors and mCherry-GFP-LC3 fluorescence suggested that exogenous expression of LIMP-2 increased the biogenesis of autophagosomes rather than decreased the lysosomal turnover of LC3-II. Considering the results of the biochemical assay and the quantitative fluorescence assay together, it is suggested that LIMP-2 has a possible involvement in autophagic activity, especially autophagosome biogenesis.

抄録 Lysosomal integral membrane protein-2 (LIMP-2) は主にリソソーム膜に局在する膜糖タンパク質であり、これまでに LIMP-2 の多様な機能が明らかになっている。しかし、オートファジーへの関与についてはあまり明らかでない。そこで、LIMP-2 のオートファジー活性への関与を明らかにするため、LIMP-2 を過剰発現する COS7 細胞と HEK293 細胞で細胞内オートファゴソーム量と相関する microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3)-II 量を解析した。LIMP-2-myc の

発現は LC3-II 量を増加させる一方、LIMP-2 の発現抑制は LC3-II 量を NIH3T3 細胞において減少させた。さらに、リソソームプロテアーゼ阻害剤や mCherry-GFP-LC3 蛍光を応用した解析によって、LIMP-2 の過剰発現がオートファゴソーム生合成を亢進させる一方、LC3-II のリソソームにおける分解を阻害しないことが示唆された。以上の解析から、LIMP-2 がオートファゴソーム生合成に関与する可能性が示唆された。