

領域略称名：オートファジー  
領域番号：3501

平成27年度科学研究費補助金「新学術領域研究  
(研究領域提案型)」に係る中間評価報告書

「オートファジーの集学的研究：分子基盤から疾患まで」

(領域設定期間)

平成25年度～平成29年度

平成27年6月

領域代表者 (東京大学・大学院医学系研究科・教授・水島 昇)

# 目 次

## 研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要	6
2. 研究の進展状況	8
3. 審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況	11
4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	12
5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	16
6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	23
7. 若手研究者の育成に関する取組状況	25
8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	26
9. 総括班評価者による評価	27
10. 今後の研究領域の推進方策	30

## 研究組織

研究項目	課題番号 研究課題名	研究期間	代表者氏名	所属機関 部局 職	構成員数
X00	25111001 オートファジーの集学的研究:分子基盤から疾患まで	平成 25 年度 ～ 平成 29 年度	水島 昇	東京大学・医学系研究科・教授	13
A01 計	25111002 オートファジーの膜動態:分子機構と疾患との関わり	平成 25 年度 ～ 平成 29 年度	吉森 保	大阪大学・生命機能研究科・教授	1
A01 計	25111003 酵母・無細胞系を用いたオートファジー関連因子の分子機能の解明	平成 25 年度 ～ 平成 29 年度	中戸川 仁	東京工業大学・生命理工学研究科・准教授	1
A01 計	25111004 オートファジーを担う A t g タンパク質群の構造基盤	平成 25 年度 ～ 平成 29 年度	野田 展生	公益財団法人微生物化学研究会・主席研究員	1
A02 計	25111005 オートファジーの生理・病態生理学的意義とその分子基盤	平成 25 年度 ～ 平成 29 年度	水島 昇	東京大学・医学系研究科・教授	3
A02 計	25111006 オートファジー選択的基質による細胞制御とその病態生理	平成 25 年度 ～ 平成 29 年度	小松 雅明	新潟大学・医歯学系・教授	2
A02 計	25111007 パーキンソン病病態解析に基づくオートファジー調節化合物の開発	平成 25 年度 ～ 平成 29 年度	斉木 臣二	順天堂大学・医学部・准教授	4
計画研究 計 7 件					
A01 公	26111501 膜輸送を介したオートファジー誘導のシグナル制御機構の統合的解析	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	福田 光則	東北大学・生命科学研究科・教授	2

A01 公	26111503 線虫初期胚で誘導される選択的オートファジーの分子機構と生理機能	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	佐藤 美由紀	群馬大学・生体調節研究所・准教授	1
A01 公	26111505 オートファゴソーム膜コンポーネントの網羅的同定	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	鈴木 邦律	東京大学・新領域創成科学研究科・准教授	1
A01 公	26111508 オートファジータンパク質群の動的相互作用と分子集合形態の解析	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	山本 林	東京工業大学・フロンティア研究機構・特任助教	1
A01 公	26111510 オートファジー膜形成における磷脂質動態の研究	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	藤本 豊士	名古屋大学・医学系研究科・教授	3
A01 公	26111511 A t g 分子群による脂質・オルガネラ動態制御の新しい分子機構	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	阪井 康能	京都大学・農学研究科・教授	1
A01 公	26111512 オートファジー活性のファインチューニング機構の研究	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	野田 健司	大阪大学・歯学研究科・教授	1
A01 公	26111513 選択的オルガネラ・オートファジーの分子機構	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	岡本 浩二	大阪大学・生命機能研究科・准教授	1
A01 公	26111521 オートファジーが関与する小胞体品質管理機構の解明	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	潮田 亮	京都産業大学・総合生命科学部・助教	2
A01 公	26111523 植物ペルオキシソームの品質管理におけるオートファジー制御機構の解明	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	後藤（山田）志野	京都大学・理学研究科・日本学術振興会特別研究員	4
A01 公	26111526 新規オートファジーシステムの分子機序及び病態との関連	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	株田 智弘	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・室長	1

A02 公	26111502 ショウジョウバエモデルによるクローン病発症の分子機構解明	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	矢野 環	東北大学・薬学研究科・准教授	1
A02 公	26111504 オートファジー関連神経変性疾患の治療法開発に向けた i P S 細胞の樹立と病態解明	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	村松 一洋	群馬大学・医学系研究科・助教	2
A02 公	26111506 オートファジーの内耳生理機能および加齢性内耳障害への関与	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	藤本 千里	東京大学・医学部附属病院・助教	5
A02 公	26111514 オートファジー関連因子による自然免疫応答の制御	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	齊藤 達哉	徳島大学・疾患酵素学研究センター・教授	1
A02 公	26111516 オートファジー不全を伴う慢性膵炎発症メカニズムの解明	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	大村谷 昌樹	熊本大学・生命資源研究・支援センター・准教授	2
A02 公	26111518 膵β細胞オートファジー不全と p 6 2 陽性の封入体形成	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	綿田 裕孝	順天堂大学・医学部・教授	1
A02 公	26111519 神経細胞内の異常なリソソームとオートファゴソームの関わりについての遺伝学的研究	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	小池 正人	順天堂大学・医学研究科・教授	2
A02 公	26111520 レジオネラ菌による S y n t a x i n 1 7 分解機構とその生理的意義の解明	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	新崎 恒平	東京薬科大学・生命科学部・講師	1
A02 公	26111522 ミトコンドリア品質管理における融合・分裂の役割の再検討	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	石原 直忠	久留米大学・分子生命科学研究所・教授	1
A02 公	26111524 腸管寄生性原虫赤痢ア	平成 26 年度 ～	津久井 久美子	国立感染症研究所・研究員	1

	メーバにおけるオート ファジーの解析	平成 27 年度			
公募研究 計 21 件					

# 研究領域全体に係る事項

## 1. 研究領域の目的及び概要（2ページ程度）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、応募時までの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

### オートファジーの研究背景と現状

生体を形作り、それを機能的な状態に維持するためには、構成成分を合成するとともに、それらを適切に分解処理することが重要である。細胞内には、タンパク質、脂質、糖質、核酸、およびそれらの集合体としての小器官などが存在しており、細胞内分解系は、これらの代謝回転や品質管理を担っている。オートファジーは、このような細胞内の多様なターゲットを分解しうる大規模分解システムである（図1）。

1990年後半以降、オートファジー関連分子が次々と明らかにされ、それとともにオートファジーは、飢餓時のアミノ酸プール維持、初期胚発生、細胞変性抑制、細胞内侵入細菌分解、選択的基質分解、がん抑制、炎症制御などのさまざまな機能をもつことが判明してきた。

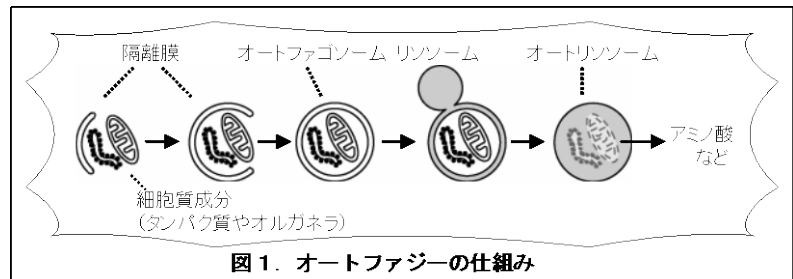


図1. オートファジーの仕組み

日本はこれらの成果の多くを発信し、この分野の発展に大きく貢献してきた。しかし、オートファジーはこれまで、タンパク質分解、細胞内輸送、構造生物学、神経科学などのさまざまな研究グループや研究費種目の一部として扱われてきた。そのため、個々の研究室で高いレベルの研究が行われてきたにもかかわらず、我が国はその中核組織を欠いており、国内でのオートファジー研究の裾野が十分に広がっているとは言えない状況にある。オートファジー研究は今後、**メカニズムの全容解明、ヒト疾患との関連解明などの重要なフェーズに入っていく**と考えられる。オートファジーを**既存分野の一部として扱ってはもはや速やかな発展は困難であり、新しい研究領域として確立すべき時期にある**。無細胞系構成生物学、構造生物学、細胞生物学、マウス等モデル生物学、ヒト遺伝学、疾患研究を**有機的に連携させたオートファジーの集学的研究体制を構築**し、我が国発のオリジナリティーの高い研究をさらに推進させ、学術水準の向上を図ることが重要である。

### 本領域の目的と概要

オートファジー研究は酵母遺伝学の導入を契機に大きく進展し、現在までにオートファジーの分子機構の基本フレームと基本的生理作用が理解されるようになった。しかし、このような急成長にもかかわらず、**多くの重要課題が未解明のまま残されている**。たとえば、オートファゴソームがどこで形成されているか、膜の由来は何か、というような基本的なことがまだわかっていない。また、ノックアウトマウスを用いた研究からオートファジーを必要とする生理的プロセスが明らかになってきたが、そこでオートファジーが具体的にどのような働きをしているのかという本質的なことがほとんど明らかになっていない。さらには、基本分子機構やマウス生理学の研究成果が、ヒト疾患の理解や制御に十分に直結していない。しかし、これまでの基礎的な蓄積をベースにすれば、今こそこれらの本質的課題に取り組むことができる段階にきていると考えられる。**オートファジーはまだ新しい分野なので、分子機構研究と生理・病態研究の両方を相互に理解しながら進める必要がある**、いずれか一方を行うだけでは足元をすくわれかねない。進展著しいこの研究分野を新しい学問領域として確立し、メカニズムの根本的理解と健康医学への展開を図る必要がある。

そこで、本領域では次の二つの主目的を設置し、それぞれを研究項目として設定した。

#### A01 【オートファジーの分子機構と膜動態】

オートファゴソーム形成の過程で、小胞体がプラットフォームとして機能していることが示唆されているが、その具体的関与は明らかではない。また、ミトコンドリア、ゴルジ体、脂肪滴などの他の小器官の関与も示唆されている。そこで、これまでに得られた多種類のオートファジー関連因子を手がかりに、無細胞再構築系や細胞生物学的手法を用いて、オートファゴソーム形成場所の特定とオートファジー膜動態の駆動メカニズムを明らかにする。次に、最近特に重要視されてきたオートファジーの選択的基質の認識機構を明らかにする。これについては、なぜ選択的基質がオートファゴソーム形成部位に集積するかという「場」の問題と、分解の引き金になる選択的基質の側に生じる変化の問題の双方からアプローチする。さらに、オートファゴソームとリソソームの融合機構の全容を明らかにすることで、オートファジーの一連の全過程を理解することを目指す。

#### A02 【オートファジーの生理・病態】

これまでにオートファジーが重要な役割を果たしている局面が明らかにされてきた。そこで、これらの局面におけるオートファジーの実際の役割を、バルク（非選択的）分解および選択的基質分解の双方の視点から、発生工学、代謝解析などのアプローチを用いて理解する。次に、ヒト疾患への展開を目指し、神経変性疾患、がん、感染症などにおけるオートファジーの意義を明らかにする。また、実際のヒト神経変性疾患におけるオートファジー遺伝子変異について、その病態形成における意義を解明する。さらに、オートファジー制御薬の探索とその機序解明を行い、得られた化合物は再び病態モデルで効果を検証する。

オートファジーがさまざまな細胞および個体高次機能に関わることを考えると、本領域の展開が、関連する基礎生命科学分野や臨床医学の発展へ貢献しうることが大いに考えられる。また、本領域が日本初のオートファジーの集学的研究センターとして機能することで、現在世界的にも優位な位置にある我が国のオートファジー研究を一層高いレベルに引き上げることができると期待される。



## 2. 研究の進展状況 [設定目的に照らし、研究項目又は計画研究ごとに整理する] (3 ページ程度)

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在までにどこまで研究が進展しているのか記述してください。また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように発展したかについて研究項目又は計画研究ごとに記述してください。

本領域では **A01 : オートファジーの分子機構と膜動態** と **A02 : オートファジーの生理・病態** の 2 つの研究項目を設置している。さらに両方にまたがる共通テーマとして特に重要性の高い **オートファジーの選択性と制御化合物の探索** についての研究を推進している。そこで、これらの 4 つのテーマにおいて進展状況を解説する。

### A. オートファジーの分子機構と膜動態 (主に A01)

本テーマではオートファゴソームの形成と成熟のメカニズムが主な研究対象となる。具体的には、オートファジー誘導機構、オートファゴソーム形成場の特徴付け、膜伸長機構の解明、オートファゴソームとリソソームの融合機構の解明を目指す。このためには、関連因子・ユニットの構造と機能解析、オートファジー構造体の膜動態の解析を行う。

前半期ではオートファゴソーム形成の始動を司る Atg1 複合体について当初の見込みを上回る進展があった。計画班の野田展生による構造生物学的解析を中心にして、酵母 (山本) と哺乳類 (水島) を扱う班員が機能解析をするという有機的な連携がうまく機能した。栄養飢餓によって Atg1 複合体にもたらされる変化、Atg1 複合体が多量体を形成するメカニズム、Atg1 複合体と Atg9 小胞との結合機構が明らかにされた (*Nat. Struct. Mol. Biol.* 2014、*Proc Natl Acad Sci.* 2015 など)。また、Atg1 複合体の構成因子の組成が酵母と哺乳類で異なる点についても、Atg13-Atg101 の構造解析を発端に見事な説明がつけられた (*Nat. Struct. Mol. Biol.* in press)。これは計画班の野田と水島の共同研究で、共責任著者の論文として掲載される。

オートファゴソーム形成後期ステップにおいても、長らく局在が不明であった Atg3 (オートファゴソーム形成に必要な酵素) が隔離膜に存在することが計画班の中戸川、公募班の鈴木によって明らかにされた (*J Biol Chem* 2015、*FEBS Lett* 2015)。また、細胞内の膜融合には融合因子としての SNARE だけでは不十分で、一般には繫留因子が必要である。完成したオートファゴソームがリソソームと特異的に融合するためにも繫留因子が必要であると考えられたが、水島は HOPS がオートファゴソーム SNARE である STX17 と結合して繫留因子として機能することを明らかにした (*Mol Biol Cell* 2014)。

さらに、和栗によるオートファゴソーム形成初期構造体「オメガソーム」の超微形態解析 (*Mol Cell Biol* 2014)、水島による各種オートファジー変異体の超微形態表現型カタログ (*J Cell Sci*, 2014) はオートファジー研究領域に有用な情報を提供した。

### B. オートファジーの選択性 (A01 と A02 の共通項目)

オートファジーにも選択性があることがこの数年で確実となっており、そのメカニズムや生理的意義の解明が急務となっている。本領域では、新規選択的基質の同定とともに、選択的基質の認識機構をオートファジーマシナリーの側と、分解の引き金になる選択的基質の側に生じる変化の双方からのアプローチによって解明することを目指している。この項目においても、計画班、公募班の連携で世界的に優れた成果が得られている。

オートファジーの選択的基質としては、タンパク質としてはフェリチン (水島 *J Cell Sci*, 2014)、小器官としては損傷リソソーム (吉森 *EMBO J* 2013)、核膜・核小体 (中戸川 *Nature* in press) などが新規に同定された。そのほか、酵母で網羅的探索がなされた (鈴木・野田展生 *PLoS One* 2014)。

基質認識の新規メカニズムとしては、小胞体および核の認識に関わる新規アダプター Atg39、Atg40 が

発見された（中戸川 *Nature in press*）。さらに、酵母ペルオキシソーム認識レセプターの制御機構（中戸川 *J Cell Biol* 2014）、酵母ミトコンドリア認識の制御機構（岡本 論文改訂・準備中）、バクテリアや人工ビーズを含むエンドソーム、損傷リソソームの認識機構（吉森 *J Cell Biol* 2013, *EMBO J* 2013）が解明された。この他、受精卵でおこる精子由来のオルガネラを排除するメカニズムの解明も進行中である（佐藤 未発表）。

選択的オートファジーの生理的意義についても進展があり、もっともよく知られているオートファジー基質である p62 が転写因子 Nrf2 を活性化する分子機構が明らかにされ、オートファジーが積極的に p62 を分解する意義の理解が飛躍的に進んだ（小松 *Mol Cell* 2013）。

以上は、古典的なオートファジーによる選択的分解であるが、近年全く新しいタイプのオートファジーも発見されている。ひとつは、RNA や DNA がリソソーム膜を直接透過する RNautophagy/DNautophagy と呼ばれるもので、公募班の株田によって認識モチーフが同定され（株田 *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015）、基質選択性を有することも明らかにされた（株田 *Nucleic Acids Res.* in press）。透過に関する分子機構の解析も順調に進んでいる。もうひとつは水晶体や赤血球でおこる大規模オルガネラ分解であり、現在水晶体を用いた実験系が確立され、因子のスクリーニングが行われている（水島 未発表）。

### C. オートファジーの生理的・病態生理的意義（主に A02）

これまでにオートファジーが重要な役割を果たしている局面がマウスを中心に明らかにされてきた。そこで、本領域では、これらの局面におけるオートファジーの実際の役割を発生工学、代謝解析などのアプローチを用いて理解するとともに、ヒト疾患への展開を狙い、神経変性疾患、がん、感染症などにおけるオートファジーの意義を明らかにすることを目指している。さらに、実際のヒト神経変性疾患におけるオートファジー遺伝子変異についてのデータを取得し、その病態（オートファジー不全病）形成における意義を解明することも目的としている。

オートファジーの品質管理機構としての役割は特に神経系で重要であることがこれまでに示されている。さらに本領域立ち上げ直前に、ヒト神経変性疾患 SENDA で酵母 *ATG18/21* のヒトホモログのひとつ *WDR45/WIPI4* 遺伝子の変異が発見された。SENDA は脳の鉄沈着を特徴とする疾患であり、その病態解明は本領域の重要な課題である。まず、計画班の臨床医斉木らによって、我が国の SENDA と類似する症例群 28 例中 7 例（全て女性）で *WDR45* に病因変異が発見され、*WDR45/WIPI4* 不全による神経疾患の頻度が高いことが示された（斉木 *Neurobiol Aging* in press）。一方、神経特異的 *WDR45/WIPI4* ノックアウトマウスが作製され、SENDA と部分的に類似した神経症状が観察された（水島 *Autophagy* 2015）。さらに、鉄貯蔵タンパク質であるフェリチンがオートファジーの基質として同定されたことともに（水島 *J Cell Sci*, 2014）、SENDA での鉄代謝異常が公募班の臨床医である村松によって解析されている（村松 未発表）。患者線維芽細胞からの iPS 細胞化も進んでおり（村松、斉木 未発表）、**計画班-公募班、基礎-臨床が密に連携してプロジェクトを推進している**。また、パーキンソン病とマイトファジーとの関連も最近の大きなトピックであり、Parkin と鉄代謝調節因子 IRP2 二重変異マウスの解析（小池 *Neurosci Lett* 2015）、新たな家族性パーキンソン病原因遺伝子 *CHCHD2* とマイトファジーとの関連の解析（斉木 *Lancet Neurol* 2015）を進めている。

肝臓での品質管理にオートファジーが重要な役割を果たしていることもよく知られている。本領域では、肝臓でのオートファジーとプロテアソーム系の連携（小松 *J Biol Chem* 2014）、コラーゲン産生細胞の生存におけるオートファジーの重要性が明らかにされ（潮田 *J Biol Chem* 2015）、肝疾患治療への応用が考えられている。この他、膵β細胞での IAPP 毒性抑制（綿田、小池、吉森 *J Clin Invest* 2014）、尿酸血症性腎症の抑制（吉森 *EMBO J*, 2013）、レジオネラ感染時の STX17 の分解現象（新崎 未発表）など

が明らかにされ、オートファジーの生理的・病態生理的意義がさらに広がった。

一方、哺乳類以外の生物としては、赤痢アメーバでの食食胞酸性化における Atg8 機能 (津久井 *Cell Microbiol* 2015)、メタノール資化性酵母での環境中の窒素源変化に依存した選択的オートファジーによる窒素源代謝酵素の分解の意義 (阪井 *Sci Rep* 2015)、出芽酵母での脂質リサイクルにおけるオートファジーの意義 (阪井 *Autophagy* 2015)、シロイヌナズナでの強光ストレスとペルオキシソーム分解との関連 (後藤 (山田) 未発表) など、幅広く研究が展開されている。

#### D. 制御化合物の探索 (A01 と A02 の共通項目)

本領域内ではバルクオートファジーおよび選択的オートファジーを対象とした新しい創薬スクリーニング法が複数確立しており、大規模化合物ライブラリーや既存薬ライブラリーのスクリーニングが行われている。**スクリーニング系としては 2 件の特許出願がなされている** (小松、水島)。

現在はまだほとんどが探索中であるが、すでに新規オートファジー誘導剤 (オートファジーの上流活性化剤やオートリソソーム産生促進化合物など) や阻害剤が取得されている (吉森、水島、斉木 未発表)。また、選択的オートファジーをターゲットにしたスクリーニングも進行中である (小松 未発表)。

#### まとめ

オートファジーの分子機構と膜動態の解析では Atg1 複合体の解析での大きな展開を中心に、オートファゴソーム形成初期～後期～リソソーム融合にいたる過程全般できわめて順調な進展が得られた。計画班に構造生物学グループを含めた点はその原動力の一つになった。またオートファジーの特異性でも新規アダプターや基質の発見において予想を超える進展があり、オートファジーの新機能や新しいタイプのオートファジーへも広がりがみられた。生理機能、病態生理機能の解析では、SENDA 病の解析を中心に、基礎－臨床、計画班－公募班の密な連携の元、その理解に向けて確実な展開がある。動物モデル等の整備も進んでおり、後半の解析に期待が持てる。その他の生理機能の解明においても、哺乳類だけではなく、植物、昆虫、線虫、原虫、酵母などの幅広い範囲で多様性のある研究を進めることができている。化合物の探索においても有用なスクリーニング系が確立し、特許申請の上で複数のグループでスクリーニングが同時進行している。

以上の研究の進捗状況は世界的にも非常にレベルが高く、当初の見込みを上回るものであると考えられる。これらは主に計画班を中心にして進められているが、公募班との有機的連携も大きな力になっている。総括班では、通常の領域会議や若手の会の開催、WEB でのオートファジーフォーラムの設置、プロトコール集の公開、オートファジーデータベースとの連携などが行われ、オートファジー研究を拡大するためのセンター機能としての役割を十分に果たしている。文字通りオートファジーの集学的センターとして、世界に類を見ない研究組織となっている。

### 3. 審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況（2 ページ程度）

審査結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該コメント及びそれへの対応策等を記述してください。

#### 【採択時の科学研究費補助金審査部会における所見】

本研究領域は、日本が世界をリードする研究分野であるオートファジーに焦点を絞り、我が国における同研究の中核的拠点を構築し、オートファジーの分子機構と生理機能における未解決の重要課題の解明を目指すとともに、疾患病態研究を有機的に連携させ、一層の展開を目指す提案である。オートファジーの生物医学的重要性を遺伝学、ノックアウトマウス、構造生物学等の手法で開拓してきた領域代表者のリーダーシップは高く評価でき、さらに計画研究代表者はそれぞれに優れた研究実績を有する。また、本領域を発足させることにより、マテリアル等の共有を通じて、一段と有機的な連携を構築することで十分な成果が期待できる。学術的に高い価値を持つだけでなく、創薬や疾患治療等の臨床医学分野への波及効果も期待される。

一方で、成熟しつつある分野であり、今後さらに領域が発展するためには、**オートファジーの病態における意義と分子機能を結び付けるとともに、公募研究では、より広い視点、特に臨床的視点を有した研究者の参画を図るなど研究の多様性を担保する必要もある**と考えられる。

#### 【対応策】

##### 1. オートファジーの病態における意義と分子機能の結びつけについて

オートファジーのコア因子のひとつである *WDR45/WIPI4* 遺伝子（酵母 *ATG18/21* のヒトホモログのひとつ）の変異を有するヒト神経変性疾患 SENDA がよい研究対象となっている。計画研究では神経内科医の斉木、公募研究では小児科医の村松を中心に、遺伝子変異を指標にして本疾患の患者を多数同定するとともに、ヒト患者由来 iPS 細胞の樹立等の共同研究を立ち上げた。一方で、分子機能の側からのアプローチとしては計画研究の水島を中心に、*WDR45/WIPI4* の生化学・細胞生物学的解析、ノックアウトマウスの作製と解析を行っており、オートファジーにおける病態の意義と分子機能を直接結びつける研究体制を構築した。SENDA をモデルとした集学的研究の成果は、今後他の疾患へも応用されることが期待される。

##### 2. 公募研究への臨床的視点を有した研究者の参画と領域研究の多様性について

臨床的視点をさらに補完する目的で、公募研究では大村谷（腹部外科医）、藤本千里（耳鼻科医）、村松（小児科医）、綿田（代謝・内分泌内科医）の4名の臨床医が参画した。さらに研究項目 A02 では神経研究領域の小池、感染・免疫・炎症研究領域の新崎、齊藤、津久井、矢野らが加わった。基礎研究を主に扱う研究項目 A01 と総合すると、全体としてきわめて多様性に富んだ研究班を構築することができたと考えている。計画研究とも密な連携のもと、多くの共同研究も進んでいる（項目6 24 ページ参照）。

#### 4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する]

（3 ページ程度）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果（発明及び特許を含む）について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。

#### A01：オートファジーの分子機構と膜動態

##### 計画研究

##### 核および小胞体を分解するレセプター介在性選択的オートファジーの発見（中戸川）

Atg8 結合タンパク質として同定した 2 つの機能未知タンパク質が核および小胞体の選択的オートファジーを媒介するレセプターであることを突き止め Atg39、Atg40 と名付けた。Atg39 は核の一部を、Atg40 は小胞体をオートファゴソーム内に取り込ませるのに必要であった。また、Atg39 依存的な核の分解は窒素源飢餓時の細胞の生存に重要であることが明らかとなった。今回の発見は、他の生物種における核／小胞体の選択的オートファジーの病態生理学的役割およびメカニズムの研究の重要な指針となると期待される。（中戸川：Mochida et al. *Nature* in press）

##### Atg13-Atg101 の構造と機能の解明（野田展生、（水島））

オートファジーの始動を司る Atg1 複合体は出芽酵母では Atg1、13、17、29、31 という 5 つの因子から構成される。このうち Atg17、Atg29、Atg31 は多くの生物では存在せず、代わりに哺乳類などでは FIP200、Atg101 が存在する。今回 Atg101-Atg13 複合体の結晶構造決定にも成功し、さらに Atg101 の分子機能を明らかにした。これによって出芽酵母ではなぜ Atg101 のかわりに Atg29-31 を必要としているかというオートファジー分野における主要な謎の一つについて、その理由を初めて明らかにすることができた。これは A02 の水島との **領域内共同研究** であり、共責任著者論文として発表した。（野田展生 & 水島：Suzuki & Kaizuka et al. *Nat. Struct. Mol. Biol.* in press）

##### 酵母 Atg1 複合体の構造的基盤（野田展生）

Atg1-Atg13 複合体および Atg13-Atg17-Atg29-Atg31 複合体の結晶構造を決定することで、オートファゴソーム形成の場である pre-autophagosomal structure の中核を形成する Atg1 複合体の構造基盤を明らかにした。次に Atg13 内の飢餓依存的脱リン酸化部位を網羅的に決定することで、脱リン酸化された Atg13 が、Atg1 および Atg17 と相互作用することで両者を繋ぎ留め、飢餓依存的に Atg1 複合体が形成されオートファジーが始動する分子機構を明らかにした。この研究は A01 公募班の山本との **領域内共同研究** である。（野田展生、山本：Fujioka, Suzuki & Yamamoto et al. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2014）

##### 選択的オートファジーレセプターの制御機構（中戸川）

出芽酵母において、Hrr25 がレセプタータンパク質 Atg19 および Atg36 をリン酸化し、これらとアダプタータンパク質 Atg11 との相互作用を強化することで、Cvt 経路およびペキソファジーを正に制御することを明らかにした。（中戸川：Tanaka et al. *J Cell Biol* 2014）

##### 新しい選択的オートファジーの発見（吉森）

種々の原因により損傷を受けたリソソームが、選択的オートファジーの基質であることを発見した。さらに損傷リソソームに対する選択的オートファジーが、高尿酸血症性腎症の病態悪化を抑制していることを明らかにした。（吉森：Maejima et al. *EMBO J* 2013）

##### バクテリア等を含んだエンドソームの認識機構の解明（吉森）

バクテリアやある種の試薬をコートした人工ビーズによってエンドソーム膜が損傷を受けると、膜タンパク質のユビキチン化が起こり、そのユビキチンに Atg16L などのオートファジータンパク質がリクルートされることを示した。（吉森：Fujita et al. *J Cell Biol* 2013）。

## 公募研究

### 新規 RNautophagy/DNautophagy の分子機構の解明 (株田)

株田らは RNA や DNA がリソソーム膜を直接透過する新しいタイプのオートファジーを発見して RNautophagy/DNautophagy と命名しており、今回 RNautophagy/DNautophagy が基質選択性を有することを明らかにした (株田: Hase et al. **Nucleic Acids Res.** in press)。核酸受容体の 1 つである LAMP2C は、その細胞質側配列中に arginine rich motif を有しており、この motif が核酸結合に必要であることを見いだした (株田: Fujiwara et al. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 2015)。LAMP2C 以外の LAMP ファミリータンパク質である LAMP1、LAMP2B、LAMP4 も核酸結合能を有していることを明らかにした。

### 宿主植物のライフサイクルに依存した葉上酵母の窒素源利用とオートファジー制御 (阪井)

メタノールを単一の炭素源として生育可能な酵母 (メタノール資化性酵母) *Candida boidinii* が、環境中の窒素源の変化に応答して、選択的オートファジーを介した窒素源代謝酵素の分解を行うことを見いだした (阪井: Shiraishi et al. **Sci Rep** 2015)。

### Atg3 の局在解析 (鈴木)

Atg8 の脂質修飾を担う E2 酵素である Atg3 の局在は長らく不明であったが、それが隔離膜に存在することを明らかにした。(鈴木: Ngu et al. **J Biol Chem** 2015) (同様の結果は計画研究の中戸川によっても報告された (中戸川: Sakoh-Nakatogawa et al. **FEBS Lett.** 2015))

### 肝星細胞での小胞体内コラーゲンのオートファジーによる分解 (潮田)

肝星細胞において、小胞体に蓄積するコラーゲンがオートファジーによって選択的に分解されることを発見した。肝星細胞の選択的なアポトーシスはこれまで肝硬変の治療に繋がるとされたため、Hsp47 ノックアウトとオートファジー阻害を組み合わせることでより効率よく肝星細胞でアポトーシスを惹起させることが出来た。(潮田: Kawasaki et al. **J Biol Chem** 2015)

### 脂質リサイクルとオートファジー (阪井)

Atg15 を欠損した出芽酵母変異株では、細胞が増殖後定常期にある条件で、中性脂質蓄積のためのオルガネラ、脂肪滴の量が著しく減少することを見だし、脂質リサイクルによる中性脂質分解 (リポリシス) の新しい制御機構を報告した (阪井: Maeda et al. **Autophagy** 2015)。

### アミノ酸トランスポーター分解を介した mTOR-オートファジー制御 (福田)

mTORC1 の制御には、Rab12 依存的なアミノ酸トランスポーター PAT4 の分解が関わっていることを見だし、オートファジーの新しい制御経路を明らかにした (福田: Matsui et al. **J Biol Chem** 2014)。

## A02 : オートファジーの生理・病態

### 計画研究

#### 神経変性疾患における SENDA の頻度の検討 (斉木)

ヒト神経変性疾患 SENDA で Atg18 のヒトホモログのひとつ *WDR45/WIPI4* 遺伝子の変異が発見された。SENDA は脳での鉄沈着を特徴とする疾患であり、その病態解明は本領域の重要な課題である。まず、我が国の SENDA と類似する症例群 28 例中 7 例 (全て女性) で *WDR45* に病因変異が発見され、オートファジー不全による神経疾患の頻度が高いことが予想された (斉木: Nishioka et al. **Neurobiol Aging** in press)。

#### SENDA モデルマウスの作製 (水島)

SENDA の解析のために神経系特異的 WDR45/WIPI4 ノックアウトマウスを中国 Hong Zhang 博士と共同で作製した。このマウスでは運動失調、学習・記憶障害が観察され、神経細胞ではオートファジー基質である p62 やユビキチンの蓄積が観察され、SENDA の病態形成にオートファジー不全が関与していることを示唆した (水島 : Zhao et al. **Autophagy** in press)。

#### オートファジー変異細胞の超微形態解析とフェリチン分解 (水島)

オートファゴソーム形成不全細胞の超微形態解析によって各 ATG 因子の膜動態への関与を網羅的に解析し、オートファジー研究の基盤を整備した。また、この解析で新規選択的基質としてフェリチンを同定し、恒常的にオートファゴソーム形成部位に集積してリソソームへと運搬されることを見いだした。SENDA の脳に鉄が蓄積するという表現型との関連を解析中である (水島 : Kishi-Itakura et al. **J Cell Sci**, 2014)。

#### オートファゴソーム・リソソーム融合の繫留因子としての HOPS 複合体 (水島)

オートファゴソームの SNARE 分子としてすでに同定している Syntaxin17 と結合する分子を探索したところ (産総研夏目徹博士グループとの共同研究)、HOPS 複合体を同定した。HOPS 複合体の構成因子を欠損させると Syntaxin17 陽性のオートファゴソームが蓄積することから、これが繫留因子として必要であることが示された。(水島 : Jiang et al. **Mol Biol Cell** 2014)

#### オメガソームの超微形態解析 (和栗、小松)

超微形態解析を用いて小胞体由来の多数の極細管構造体がオメガソームを成して隔離膜に繋がり、膜供給に寄与することを示した (和栗、小松 : Uemura et al. **Mol Cell Biol** 2014)。

#### オートファジーとプロテアソームの連携 (小松)

遺伝学的にプロテアソーム活性を減弱させたマウス肝臓においてオートファジーおよび Nrf2 経路が活性化することを見出し、オートファジーとプロテアソーム系が連携することを in vivo で示した (小松 : Kageyama et al. **J Biol Chem** 2014)。

#### 選択的オートファジー基質 p62 のリン酸化と Nrf2 経路の活性化 (小松)

p62/Sqstm1 タンパク質はユビキチンシグナルを介して変性タンパク質凝集体や異常ミトコンドリアに局在し、それら構造体とともにオートファジーにより代謝される。今回、p62/Sqstm1 の 351 番目のセリン残基がリン酸化されるとユビキチンリガーゼアダプタータンパク質 Keap1 との結合親和性が著しく上昇すること、その結果 Keap1 の標的である転写因子 Nrf2 が安定化し、Nrf2 の標的遺伝子である解毒酵素群、抗酸化タンパク質群の遺伝子発現が上昇することを見出した。このリン酸化は選択的オートファジー誘導時、つまり p62/Sqstm1 がタンパク質凝集体や変性ミトコンドリアに局在した時に観察された。すなわち、選択的オートファジーと Keap1-Nrf2 システムが p62/Sqstm1 のリン酸化を介して連動することが判明した。さらに、ヒト肝細胞がんではリン酸化 p62/Sqstm1 が異常蓄積しており恒常的に Nrf2 が活性化されていた。この Nrf2 の活性化は肝がん細胞の微小環境下での生存を可能にした。このことは、リン酸化 p62 と Keap1 の相互作用の阻害剤がヒト肝細胞がんの治療薬となり得ることを意味する。(小松 : Ichimura et al. **Mol Cell**, 2013)。

## 公募研究

#### Parkin と鉄代謝との関連 (小池)

パーキンソン病の原因の一つとしてミトコンドリアのオートファジー (マイトファジー) が注目されている。マイトファジー誘導因子 Parkin の欠損マウスと鉄代謝調節因子 IRP2 トランスジェニックマウスとの二重変異マウスで黒質特異的に神経変性を来すことが明らかとなった。SENDA の運動機能障害がパーキンソン病と類似していることから興味深い結果である。(小池 : Asano & Koike et al. **Neurosci Lett** 2015)

#### 赤痢アメーバでの Atg12-Atg8 系の解析 (津久井)

Atg12-Atg8 系は赤痢アメーバにも存在し、貪食胞の酸性化に重要であることを見いだした。(津久井 : Picazarri et al. **Cell Microbiol** 2015)。

#### STX17 のミトコンドリア局在の機構と機能 (新崎)

STX17 は栄養条件下においては小胞体・小胞体-ミトコンドリア接触部位・ミトコンドリアに局在し、Drp1 と協調してミトコンドリアの切断に寄与し、飢餓状態になると結合パートナーを Drp1 から Atg14L に変換し、オートファジーの促進に働くことを見いだした (新崎 : Arasaki et al. **Dev Cell** 2014)。

#### 膵β細胞のアミロイド毒性除去におけるオートファジーの意義 (綿田)

ヒトの2型糖尿病の膵島には以前からアミロイドが沈着し、これが膵β細胞機能不全と関与することが想定されていたが、その機序の詳細は明らかでなかった。膵島アミロイド構成タンパクである Islet Amyloid Polypeptide (IAPP) の毒性にオートファジー機構が抑制的に作用していることを明らかにした。この研究は A01 計画研究の吉森、A02 公募研究の小池との**領域内共同研究**である (綿田、小池、吉森 : Shigihara, Fukunaka, & Hara et al. **J Clin Invest** 2014)

### 特許出願

産業財産権の名称 : 腫瘍の診断剤、医薬組成物及びスクリーニング方法、発明者 : 小松雅明、一村義信、権利者 : 公益財団法人東京都医学総合研究所、産業財産権の種類・番号 : 特許権・特願 13/910544 (特許許可)、出願 (取得) 年月日 : 出願日 2013 年 6 月 5 日、国内・外国の別 : 外国 (アメリカ)

産業財産権の名称 : オートファジーの測定に好適な融合タンパク質、前記融合タンパク質をコードする核酸、及びそれらの利用、発明者 : 水島昇、権利者 : 国立大学法人東京大学、産業財産権の種類・番号 : 特許権・PCT/JP2015/064568、出願 (取得) 年月日 : 出願日 2015 年 5 月 21 日、優先日 2014 年 5 月 21 日、国内・外国の別 : 世界知的所有期間 (WIPO)

産業財産権の名称 : 異常核酸分解誘導剤、発明者 : 株田智弘、藤原悠紀、和田圭司、相澤修、長谷勝徳、権利者 : 国立精神・神経医療研究センター、産業財産権の種類・番号 : 特許権・特願 2014-209340、出願 (取得) 年月日 : 出願日 2014 年 10 月 10 日、国内・外国の別 : 国内



## 5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5 ページ程度）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果の公表の状況（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。論文の場合、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に\*印を付してください。また、一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。また、別添の「(2) 発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に◎を付してください。

### 論文・書籍

計画班代表 吉森保

1. \*Isaka Y, Takabatake Y, Takahashi A, Saitoh T, Yoshimori T., Hyperuricemia-induced inflammasome and kidney diseases. *Nephrol Dial Transplant.* (2015) [in press]
2. Hasegawa J, Maejima I, Iwamoto R, \*Yoshimori T., Selective autophagy: Lysophagy. *Methods.* 75, 128-32. (2015)
3. Shusaku ST, \*Yoshimori T., Autophagosome formation in response to intracellular bacterial invasion. *Cell Microbiol.* 16, 1619-26 (2014)
4. Shigihara N, Fukunaka A, Hara A, Komiya K, Honda A, Uchida T, Abe H, Toyofuku Y, Tamaki M, Ogihara T, Miyatsuka T, Hiddinga HJ, Sakagashira S, Koike M, Uchiyama Y, Yoshimori T., Eberhardt NL, \*Fujitani Y, \*Watada H., Human IAPP-induced pancreatic  $\beta$  cell toxicity and its regulation by autophagy. *J Clin Invest.* 124, 36-44. (2014)
5. Kira S, Tabata K, Shirahama-Noda K, Nozoe A, Yoshimori T., \*Noda T., Reciprocal conversion of Gtr1 and Gtr2 nucleotide-binding states by Npr2-Npr3 inactivates TORC1 and induces autophagy. *Autophagy.* 10, 1565-78. (2014)
6. Choi J, Park S, Biering SB, Selleck E, Liu CY, Zhang X, Fujita N, Saitoh T, Akira S, Yoshimori T., Sibley LD, \*Hwang S, \*Virgin HW., The parasitophorous vacuole membrane of *Toxoplasma gondii* is targeted for disruption by ubiquitin-like conjugation systems of autophagy. *Immunity.* 40, 924-35. (2014)
7. Chen X, Khambu B, Zhang H, Gao W, Li M, Chen X, Yoshimori T., \*Yin XM., Autophagy induced by calcium phosphate precipitates targets damaged endosomes. *J Biol Chem.* 289, 11162-74. (2014)
8. Suzuki H\*, Tabata K, Morita E, Kawasaki M, Kato R, \*Dobson RC, Yoshimori T., Wakatsuki S., Structural Basis of the Autophagy-Related LC3/Atg13 LIR Complex: Recognition and Interaction Mechanism. *Structure.* 22, 47-58. (2014)
9. Shibutani ST, \*Yoshimori T., A current perspective of autophagosome biogenesis. *Cell Res.* 24, 58-68. (2014)
10. Lamb CA, Yoshimori T., \*Tooze SA., The autophagosome: origins unknown, biogenesis complex. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 14, 759-774. (2013)
11. Fujita N, Morita E, Itoh T, Tanaka A, Nakaoka M, Osada Y, Umemoto T, Saitoh T, Nakatogawa H, Kobayashi S, Haraguchi T, Guan JL, Iwai K, Tokunaga F, Saito K, Ishibashi K, Akira S, Fukuda M, \*Noda T, \*Yoshimori T., Recruitment of the autophagic machinery to endosomes during infection is mediated by ubiquitin. *J Cell Biol.* 203, 115-128. (2013)
12. Murase D, \*Hachiya A, Takano K, Hicks R, Visscher MO, Kitahara T, Hase T, Takema Y, Yoshimori T., Autophagy Has a Significant Role in Determining Skin Color by Regulating Melanosome Degradation in Keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 133, 2416-24. (2013)
13. Ichimura Y, Waguri S, Sou YS, Kageyama S, Hasegawa J, Ishimura R, Saito T, Yang Y, Kouno T, Fukutomi T, Hoshii T, Hirao A, Takagi K, Mizushima T, Motohashi H, Lee MS, Yoshimori T., \*Tanaka K, \*Yamamoto M, \*Komatsu M., Phosphorylation of p62 Activates the Keap1-Nrf2 Pathway during Selective Autophagy. *Mol Cell.* 51, 618-31. (2013)
14. Shirahama-Noda K, Kira S, Yoshimori T., \*Noda T., TRAPPIII is responsible for the vesicular transport from early endosomes to the Golgi apparatus that facilitates Atg9 cycling in autophagy. *J Cell Sci.* 126, 4963-73. (2013)
15. Maejima I, Takahashi A, Omori H, Kimura T, Takabatake Y, Saitoh T, Yamamoto A, Hamasaki M, Noda T, Isaka Y, \*Yoshimori T., Autophagy sequesters damaged lysosomes to control lysosomal biogenesis and kidney injury. *EMBO J.* 32, 2336-47. (2013)
16. Hamasaki M, Shibutani ST, \*Yoshimori T., Up-to-date membrane biogenesis in the autophagosome formation. *Curr Opin Cell Biol.* 25, 455-460. (2013)

計画班代表 中戸川仁

1. Mochida, K., Oikawa, Y., Kimura, Y., Kirisako, H., Hirano, H., Ohsumi, Y., \*Nakatogawa, H. Receptor-mediated selective autophagy degrades the endoplasmic reticulum and the nucleus. *Nature*, in press.
2. \*Nakatogawa, H. Hrr25: An emerging major player in selective autophagy regulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Autophagy* 11:432-433 (2015).
3. Sakoh-Nakatogawa, M., Kirisako, H., \*Nakatogawa, H., \*Ohsumi, Y. Localization of Atg3 to autophagy-related membranes and its enhancement by the Atg8-family interacting motif to promote expansion of the membranes. *FEBS Lett.* 589:744-749 (2015).
4. \*Knorr, R.L., Nakatogawa, H., Ohsumi, Y., Lipowsky, R., Baumgart, T., \*Dimova, R. Membrane morphology is actively transformed by covalent binding of the protein Atg8 to PE-lipids. *PLoS One* 9:e115357 (2014).
5. Mochida, K., Ohsumi, Y., \*Nakatogawa, H. Hrr25 phosphorylates the autophagic receptor Atg34 to promote vacuolar transport of  $\alpha$ -mannosidase under nitrogen starvation conditions. *FEBS Lett.* 588:3862-3869 (2014).
6. Tanaka, C., Tan, L.J., Mochida, K., Kirisako, H., Koizumi, M., Asai, E., Sakoh-Nakatogawa, M., Ohsumi, Y., \*Nakatogawa, H. Hrr25 triggers selective autophagy-related pathways by phosphorylating receptor proteins. *J. Cell Biol.* 207:91-105 (2014).

7. \*Nakatogawa, H., \*Ohsumi, Y. Autophagy: close contact keeps out the uninvited. *Curr. Biol.* 24:R560-R562 (2014).
8. Fujita, N., Morita, E., Itoh, T., Tanaka, A., Nakaoka, M., Osada, Y., Umemoto, T., Saitoh, T., Nakatogawa, H., Kobayashi, S., Haraguchi, T., Guan, J.L., Iwai, K., Tokunaga, F., Saito, K., Ishibashi, K., Akira, S., Fukuda, M., \*Noda, T., \*Yoshimori, T. Recruitment of the autophagic machinery to endosomes during infection is mediated by ubiquitin. *J. Cell Biol.* 203:115-128 (2013).

計画班代表 野田展生

1. Suzuki, H., Kaizuka, T., \*Mizushima, N., \*Noda, N. N. Structure of the Atg101–Atg13 complex reveals essential roles of Atg101 in mammalian autophagy initiation. *Nat. Struct. Mol. Biol.* in press.
2. \*Noda, N. N., \*Inagaki, F. Mechanisms of autophagy. *Annu. Rev. Biophys.* in press.
3. \*Noda, N. N., Fujioka, Y. Atg1 family kinases in autophagy initiation. *Cell Mol. Life Sci.* in press.
4. Fujioka, Y., Suzuki, S. W., Yamamoto, H., Kondo-Kakuta, C., Kimura, Y., Hirano, H., Akada, R., Inagaki, F., \*Ohsumi, Y., \*Noda, N. N. Structural basis of starvation-induced assembly of the autophagy initiation complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 21:513-521 (2014).
5. \*Suzuki, K., Nakamura, S., Morimoto, M., Fujii, K., Noda, N. N., Inagaki, F., Ohsumi, Y. Proteomic Profiling of Autophagosomal Cargo in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS One* 9:e91651 (2014).
6. \*Noda, N. N., \*Inagaki, F. Chapter 3 - Architecture of the Atg12-Atg5-Atg16 Complex and its Molecular Role in Autophagy. In *Autophagy: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, Infection, and Aging Volume 3 - Mitophagy* (ISBN 978-0-12-405529-2) edited by M. A. Hayat, ELSEVIER, 2014
7. \*Noda, N. N., \*Inagaki, F. Chapter 2 - Selective Autophagy: Role of Interaction between the Atg8 Family Interacting Motif and Atg8 Family Proteins. In *Autophagy: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, Infection, and Aging Volume 2 - Role in General Diseases* (ISBN 978-0-12-405877-4) edited by M. A. Hayat, ELSEVIER, 2013

計画班代表 水島昇 (分担：塚本智史)

1. Suzuki, H., Kaizuka, T., \*Mizushima, N., \*Noda, N. N. Structure of the Atg101–Atg13 complex reveals essential roles of Atg101 in mammalian autophagy initiation. *Nat. Struct. Mol. Biol.* in press.
2. Zhao, Y.G., Sun, L., Miao, G., Ji, C., Zhao, H., Sun, H., Miao, L., Yoshii, S.R., Mizushima, N., Wang, X., \*Zhang, H. The autophagy gene *Wdr45/Wipi4* regulates learning and memory function and axonal homeostasis. *Autophagy*. in press
3. Jiang, P., \*Mizushima, N. LC3- and p62-based biochemical methods for the analysis of autophagy progression in mammalian cells *Methods* 75: 13-18 (2015).
4. \*Tsukamoto, S. Autophagic activity as an indicator for selecting good quality embryos. *Reprod. Med. Bio.* 14:57-64 (2015).
5. \*Mizushima, N. Sugar modification inhibits autophagosome-lysosome fusion. *Nat. Cell Biol.* 16:1132-1133 (2014).
6. Udagawa, O., Ishihara, T., Maeda, M., Matsunaga, Y., Tsukamoto, S., Kawano, N., Miyado, K., Shitara, H., Yokota, S., Nomura, M., Mihara, K., Mizushima, N., \*Ishihara, N. Mitochondrial Fission Factor *Drp1* Maintains Oocyte Quality via Dynamic Rearrangement of Multiple Organelles. *Curr. Biol.* 2014
7. Yoshii, SR, \*Mizushima, N. Autophagy machinery in the context of mammalian mitophagy. *Biochim Biophys Acta*. Epub
8. Kishi-Itakura, C, Koyama-Honda, I., Itakura, E., \*Mizushima, N. Ultrastructural analysis of autophagosomal organization using mammalian autophagy-deficient cells. *J. Cell Sci.* 127:4089-4102 (2014).
9. \*Mizushima, N., Sahani, M.H. ATG8 localization in apicomplexan parasites: Apicoplast and more? *Autophagy*. 10:1487-1494 (2014).
10. Yamamoto, A., \*Mizushima, N., \*Tsukamoto, S. Fertilization-Induced Autophagy in Mouse Embryos Is Independent of mTORC1. *Biol. Reprod.* 91:7, 1–7 (2014).
11. Jiang, P., Nishimura, T., Sakamaki, Y., Itakura, E., Hatta, T., Natsume, T., \*Mizushima, N. The HOPS complex mediates autophagosome-lysosome fusion through interaction with syntaxin 17. *Mol. Biol. Cell.* 25:1327-1337 (2014).
12. Watanabe-Asano, T., Kuma, A., \*Mizushima, N. Cycloheximide inhibits starvation-induced autophagy through mTORC1 activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 445:334-339 (2014)
13. Sahani, M.H., Itakura, E., \*Mizushima, N. Expression of the autophagy substrate SQSTM1/p62 is restored during prolonged starvation depending on transcriptional upregulation and autophagy-derived amino acids. *Autophagy*. 10:431-441 (2014)
14. \*Shen, H.M., \*Mizushima, N. At the end of the autophagic road: an emerging understanding of lysosomal functions in autophagy. *Trends Biochem. Sci.* 39:61-71 (2014).
15. Jiang, P., \*Mizushima, N. Autophagy and human diseases. *Cell Res.* 24:69-79 (2014).
16. \*Tsukamoto, S., Hara, T., Yamamoto, A., Kito, S., Minami, N., Kubota, T., Sato, k., Kokubo, T. Fluorescence-based visualization of autophagic activity predicts mouse embryo viability. *Sci. Rep.* 4:4533 (2014).
17. Koyama-Honda, I., Itakura, E., Fujiwara, T.K., \*Mizushima, N. Temporal analysis of recruitment of mammalian ATG proteins to the autophagosome formation site. *Autophagy* 9:1491-1499 (2013)
18. \*Tsukamoto, S., Hara, T., Yamamoto, A., Ohta, Y., Wada, A., Ishida, Y., Kito, S., Nishikawa, T., Minami, N., Sato, k., Kokubo, T. Functional analysis of lysosomes during mouse preimplantation embryo development. *J. Reprod. Dev.* 59:33-39 (2013).
19. \*Tsukamoto, S., Yamamoto, A. The role of autophagy in early mammalian embryonic development. *J. Mam. Ova. Res.* 30:86-94 (2013).

計画班代表 小松雅明 (分担：和栗聡)

1. Lim, J., Lachenmayer, ML., Wu, S., Liu, W., Kundu, M., Wang, R., Komatsu, M., Oh, YJ., Zhao, Y., \*Yue, Z. Proteotoxic stress induces phosphorylation of p62/SQSTM1 by ULK1 to regulate selective autophagic clearance of protein aggregates. *PLoS Genet.* 11:e1004987 (2015).

2. ©Morimoto, D., Walinda, E., Fukada, H., Sou, YS., Kageyama, S., Hoshino, M., Fujii, T., Tsuchiya, H., Saeki, Y., Arita, K., Ariyoshi, M., Tochio, H., Iwai, K., Namba, K., Komatsu, M., Tanaka, K., \*Shirakawa, M. The unexpected role of polyubiquitin chains in the formation of fibrillar aggregates. *Nat. Commun.* 6:6116 (2015).
3. Lim, YM., Lim, H., Hur, KY., Quan, W., Lee, HY., Cheon, H., Ryu, D., Koo, SH., Kim, HL., Kim, J., Komatsu, M., \*Lee, MS. Systemic autophagy insufficiency compromises adaptation to metabolic stress and facilitates progression from obesity to diabetes. *Nat. Commun.* 5:4934 (2014).
4. Yoo, HM., Kang, SH., Kim, JY., Lee, JE., Seong, MW., Lee, SW., Ka, SH., Sou, YS., Komatsu, M., Tanaka, K., Lee, ST., Noh, DY., Baek, SH., Jeon, YJ., \*Chung, CH. Modification of ASC1 by UFM1 is crucial for ER $\alpha$  transactivation and breast cancer development. *Mol. Cell* 56:261-74 (2014).
5. Kageyama, S., Sou, YS., Uemura, T., Kametaka, S., Saito, T., Ishimura, R., Kouno, T., Bedford, L., Mayer, RJ., Lee, MS., Yamamoto, M., Waguri, S., Tanaka, K., \*Komatsu, M. Proteasome dysfunction activates autophagy and the Keap1-Nrf2 pathway. *J. Biol. Chem.* 289:24944-55 (2014).
6. Kim, J., Cheon, H., Jeong, YT., Quan, W., Kim, KH., Cho, JM., Lim, YM., Oh, SH., Jin, SM., Kim, JH., Lee, MK., Kim, S., Komatsu, M., Kang, SW., \*Lee, MS. Amyloidogenic peptide oligomer accumulation in autophagy-deficient  $\beta$  cells induces diabetes. *J. Clin. Invest.* 124:3311-24 (2014).
7. Liu, Z., Chen, P., Gao, H., Gu, Y., Yang, J., Peng, H., Xu, X., Wang, H., Yang, M., Liu, X., Fan, L., Chen, S., Zhou, J., Sun, Y., Ruan, K., Cheng, S., Komatsu, M., White, E., Li, L., Ji, H., Finley, D., \*Hu, R. Ubiquitylation of autophagy receptor Optineurin by HACE1 activates selective autophagy for tumor suppression. *Cancer Cell* 26:106-20 (2014).
8. Lystad, AH., Ichimura, Y., Takagi, K., Yang, Y., Pankiv, S., Kanegae, Y., Kageyama, S., Suzuki, M., Saito, I., Mizushima, T., \*Komatsu, M., \*Simonsen, A. Structural determinants in GABARAP required for the selective binding and recruitment of ALFY to LC3B-positive structures. *EMBO Rep.* 15:557-65 (2014).
9. Uemura, T., Yamamoto, M., Kametaka, A., Sou, YS., Yabashi, A., Yamada, A., Annoh, H., Kametaka, S., Komatsu, M., \*Waguri, S. A cluster of thin tubular structures mediates transformation of the endoplasmic reticulum to autophagic isolation membrane. *Mol. Cell Biol.* 34:1695-706 (2014).
10. Maruyama, Y., Sou, YS., Kageyama, S., Takahashi, T., Ueno, T., Tanaka, K., \*Komatsu, M., \*Ichimura, Y. LC3B is indispensable for selective autophagy of p62 but not basal autophagy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 446:309-15 (2014).
11. Ishimura, R., Tanaka, K., \*Komatsu, M. Dissection of the role of p62/Sqstm1 in activation of Nrf2 during xenophagy. *FEBS Lett.* 588:822-8 (2014).
12. \*Furuya, N., Ikeda, S., Sato, S., Soma, S., Ezaki, J., Oliva Trejo, JA., Takeda-Ezaki, M., Fujimura, T., Arikawa-Hirasawa, E., Tada, N., Komatsu, M., Tanaka, K., Kominami, E., Hattori, N., \*Ueno, T. PARK2/Parkin-mediated mitochondrial clearance contributes to proteasome activation during slow-twitch muscle atrophy via NFE2L1 nuclear translocation. *Autophagy* 10:631-41 (2014).
13. Bonilla, DL., Bhattacharya, A., Sha, Y., Xu, Y., Xiang, Q., Kan, A., Jagannath, C., Komatsu, M., \*Eissa, NT. Autophagy regulates phagocytosis by modulating the expression of scavenger receptors. *Immunity* 39:537-547 (2013).
14. Ito, C., Saito, Y., Nozawa, T., Fujii, S., Sawa, T., Inoue, H., Matsunaga, T., Khan, S., Akashi, S., Hashimoto, R., Aikawa, C., Takahashi, E., Sagara, H., Komatsu, M., Tanaka, K., Akaike, T., Nakagawa, I., \*Arimoto, H. Endogenous nitrated nucleotide is a key mediator of autophagy and innate defense against bacteria. *Mol. Cell* 52:794-804 (2013).
15. Torisu, T., Torisu, K., Lee, IH., Liu, J., Malide, D., Combs, CA., Wu, XS., Rovira, II., Fergusson, MM., Weigert, R., Connelly, PS., Daniels, MP., Komatsu, M., Cao, L., \*Finkel, T. Autophagy regulates endothelial cell processing, maturation and secretion of von Willebrand factor. *Nat. Med.* 19:1281-7 (2013).
16. Ichimura, Y., Waguri, S., Sou, YS., Kageyama, S., Hasegawa, J., Ishimura, R., Saito, T., Yang, Y., Kouno, T., Fukutomi, T., Hoshii, T., Hirao, A., Takagi, A., Mizushima, T., Motohashi, H., Lee, MS., Yoshimori, T., \*Tanaka, K., \*Yamamoto, M., \*Komatsu, M. Phosphorylation of p62 activates the Keap1-Nrf2 pathway during selective autophagy. *Mol. Cell* 51:618-631 (2013).

計画班代表 齊木臣二 (分担: 佐藤栄人)

1. Hatano, T., Saiki, S., Okuzumi, A., Mohny, RP., \*Hattori, N. Identification of novel biomarkers for Parkinson's disease by metabolomic technologies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (in press) doi: 10.1136/jnnp-2014-309676.
2. Nishioka, K., Oyama, G., Yoshino, H., Li, Y., Matsushima, T., Takeuchi, C., Mochizuki, Y., Mori-Yoshimura, M., Murata, M., Yamasita, C., Nakamura, N., Konishi, Y., Ohi, K., Ichikawa, K., Terada, T., Obi, T., Funayama, M., Saiki, S., \*Hattori, N. High frequency of beta-propeller protein-associated neurodegeneration (BPAN) among patients with intellectual disability and young-onset parkinsonism. *Neurobiol Aging* (in press) doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.01.020.
3. Funayama, M., Ohe, K., Amo, T., Furuya, N., Yamaguchi, J., Saiki, S., Li, Y., Ogaki, K., Ando, M., Yoshino, H., Tomiyama, H., Nishioka, K., Hasegawa, K., Saiki, H., Satake, W., Mogushi, K., Sasaki, R., Kokubo, Y., Kuzuhara, S., Toda, T., Mizuno, Y., Uchiyama, Y., Ohno, K., \*Hattori, N. Identification of a gene associated with autosomal dominant late-onset Parkinson's disease: a genome-wide linkage and sequencing study. *Lancet Neurol* 14:274-82 (2015)
4. \*Amo, T., Saiki, S., Sawayama, T., Sato, S., Hattori, N. Detailed analysis of mitochondrial respiratory chain defects caused by loss of PINK1. *Neurosci Lett* 580C:37-40 (2014)
5. Fujimaki, T., Saiki, S., Tashiro, E., Yamada, D., Kitagawa, M., \*Hattori, N., \*Imoto, M. Identification of licopyranocoumarin and glycyrurol from herbal medicines as neuroprotective compounds for Parkinson's disease. *PLOS ONE* 9:e100395 (2014)
6. Saiki, S. Neuroacanthocytosis. In: Jankovic J, Tolosa E, eds. Parkinson's disease and movement disorders. 6th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins (in press) (2015)

公募代表 福田光則

1. Amagai, Y., Itoh, T., Fukuda, M., \*Mizuno, K. Rabin8 suppresses autophagosome formation independently of its guanine nucleotide-exchange activity toward Rab8. *J. Biochem.*, in press

- Ishibashi, K., \*Fukuda, M. Atg16L1 protein regulates hormone secretion independent of autophagy. *Autophagy: Cancer, other pathologies, inflammation, immunity, infection, and aging* (Hayat M.A. ed.), volume 7, pp. 103-112, Elsevier B V, Amsterdam, Netherlands (2015)
- Matsui, T., Noguchi, K., \*Fukuda, M. Dennd3 functions as a guanine nucleotide exchange factor for small GTPase Rab12 in mouse embryonic fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 289:13986-13995 (2014).

公募代表 佐藤美由紀

- Zhang H\*, Chang JT, Guo B, Hansen M, Jia K, Kovács AL, Kumsta C, Lapierre LR, Legouis R, Lin L, Lu Q, Meléndez A, O'Rourke EJ, Sato K, Sato M, Wang X, Wu F. Guidelines for monitoring autophagy in *Caenorhabditis elegans*. *Autophagy* 11:9-27 (2015)

公募代表 鈴木邦律

- Ngu, M., Hirata, E. \*Suzuki, K. Visualization of Atg3 during autophagosome formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 290:8146-8153 (2015).

公募代表 山本林

- Suzuki, S.W., \*Yamamoto, H., Oikawa, Y., Kondo-Kakuta, C., Kimura, Y., Hirano, H., and \*Ohsumi, Y. Atg13 HORMA domain recruits Atg9 vesicles during autophagosome formation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112:3350-3355 (2015)
- Fujioka, Y.#, Suzuki, S.W.#, Yamamoto, H.#, (#equally contributed) Kondo-Kakuta, C., Kimura, Y., Hirano, H., Akada, R., Inagaki, F., \*Ohsumi, Y., and \*Noda, N.N. Structural basis of starvation-induced assembly of the autophagy initiation complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 21:513-521 (2014)
- \*Fujimoto T, Yamamoto H, and Ohsumi Y: Different phosphatidylinositol 3-phosphate asymmetries in yeast and mammalian autophagosomes revealed by a new electron microscopy technique. *Autophagy* 10: 933-935 (2014)

公募代表 藤本豊士

- Iyoshi, S., Cheng, J., Tatematsu, T., Takatori, S., Taki, M., Yamamoto, Y., Salic, A., \*Fujimoto, T.: Asymmetrical distribution of choline phospholipids revealed by click chemistry and freeze-fracture electron microscopy. *ACS Chem. Biol.* 9: 2217-2222 (2014)
- \*Fujimoto T, Yamamoto H, Ohsumi Y: Different phosphatidylinositol 3-phosphate asymmetries in yeast and mammalian autophagosomes revealed by a new electron microscopy technique. *Autophagy* 10: 933-935 (2014)

公募代表 阪井康能

- Kosuke Shiraishi, Masahide Oku, Kosuke Kawaguchi, Daichi Uchida, Hiroya Yurimoto and Yasuyoshi Sakai\*. Yeast nitrogen utilization in the phyllosphere during plant lifespan under regulation of autophagy. *Sci. Rep.* 5, 9719; DOI: 10.1038/srep09719 (2015).
- Yuichiro Maeda, Masahide Oku and Yasuyoshi Sakai\*. Defect of vacuolar putative lipase Atg15 accelerates degradation of lipid droplets through lipolysis. *Autophagy*, in press (2015)
- Masamune Aihara, Xiulian Jin, Yusuke Kurihara, Yutaka Yoshida, Yuichi Matsushima, Masahide Oku, Yuko Hirota, Tetsu Saigusa, Yoshimasa Aoki, Takeshi Uchiumi, Tadashi Yamamoto, Yasuyoshi Sakai, Dongchon Kang and Tomotake Kanki\*. The Tor and Sin3-Rpd3 complex regulate expression of the mitophagy receptor protein Atg32. *J. Cell Sci.* 127:3184-3196 (2014)

公募代表 野田健司

- Kira S, Tabata K, Shirahama-Noda K, Nozoe A, Yoshimori T, \*Noda T Reciprocal conversion of Gtr1 and Gtr2 nucleotide-binding states by Npr2-Npr3 inactivates TORC1 and induces autophagy *Autophagy* 10(9) 54-67 (2014)

公募代表 岡本浩二

- Eiyama, A., \*Okamoto, K. PINK1/Parkin-mediated mitophagy in mammalian cells. *Curr. Opin. Cell Biol.* 33:95-101 (2015).
- Liu, L., Sakakibara, K., Chen, Q., \*Okamoto, K. Receptor-mediated mitophagy in yeast and mammalian systems. *Cell Res.* 24:787-795 (2014).
- \*Kanki, T., Okamoto, K. Assays for autophagy II: Mitochondrial autophagy. *Methods Mol. Biol.* 1163:165-173 (2014).
- \*Okamoto, K. Organellophagy: eliminating cellular building blocks via selective autophagy. *J. Cell Biol.* 205:435-445 (2014).

公募代表 潮田亮

- K. Kawasaki, \*R. Ushioda, S. Ito, K. Ikeda, Y. Masago & \*K. Nagata: Deletion of the Collagen-specific Molecular Chaperone Hsp47 Causes Endoplasmic Reticulum Stress-mediated Apoptosis of Hepatic Stellate Cells. *J Biol Chem.* 290.3639-3646 (2015)
- E. Avezov, T. Konno, A. Zyryanova, W. Chen, R. Laine, A. Crespillo-Casado, E. Melo, R. Ushioda, K. Nagata, CF Kaminski, HP Harding & \* D Ron: Retarded PDI diffusion and a reductive shift in poise of the calcium depleted endoplasmic reticulum. *BMC Biol.* 10;13(1):2 (2015)

公募代表 後藤(山田)志野

- Goto-Yamada, S., Mano, S., Oikawa, K., Hosokawa, Y., Hara-Nishimura, I., \*Nishimura M. Dynamics of the light-dependent transition of plant peroxisomes. *Plant Cell Physiol.* 2015 (revised).
- Hatsugai, N., Yamada, K., Goto-Yamada, S., \*Hara-Nishimura, I. Vacuolar processing enzyme in plant programmed cell death. *Front. Plant Sci.* 6:Article234 (2015).

3. Goto-Yamada, S., Mano, S., Oikawa, K., Shibata, M., \*Nishimura, M. Interaction between chaperone and protease functions of LON2, and autophagy during the functional transition of peroxisomes. *Plant Signaling & Behavior* 9: e28838 (2014)

公募代表 株田智弘

1. Hase K, Fujiwara Y, Kikuchi H, Aizawa S, Hakuno F, Takahashi S, Wada K, \*Kabuta T RNautophagy/DNautophagy possesses selectivity for RNA/DNA substrates. *Nucleic Acids Res.* (2015) in press
2. Fujiwara Y, Hase K, Wada K, \*Kabuta T. An RNautophagy/DNautophagy receptor, LAMP2C, possesses an arginine-rich motif that mediates RNA/DNA-binding. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2015) 460, 281-286.
3. Murphy KE, Gysbers AM, Abbott SK, Spiro AS, Furuta A, Cooper A, Garner B, Kabuta T, \*Halliday GM. Lysosomal-associated membrane protein 2 isoforms are differentially affected in early Parkinson's Disease. *Mov. Disord.* (2015) in press
4. \*Furuta A, Kikuchi H, Fujita H, Yamada D, Fujiwara Y, Kabuta T, Nishino I, Wada K, Uchiyama Y. Property of lysosomal storage disease associated with midbrain pathology in the CNS of LAMP-2-deficient mice. *Am. J. Pathol.* (2015) in press

公募代表 矢野環

1. Nagai, H., Yano, T., Kurata, S. Role of Autophagy in Drosophila Innate Immunity. *Invert Surviv J.* (2014) (in press)
2. \*Yano, T. Kurata S. Elimination of Intracellular Bacteria by Autophagy. (2014) *Academic Press* ISBN: 978-0-12-405529-2

公募代表 村松 一洋

1. Ozawa T, Koide R, Nakata Y, Saitsu H., Matsumoto N, Takahashi K, Nakano I, Orimo S. A novel WDR45 mutation in a patient with static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood (SENDA). *Am J Med Genet A.* 2014
2. Ohba C, Nabatame S, Iijima Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Ozono K, Saitsu H., Matsumoto N. De novo WDR45 mutation in a patient showing clinically Rett syndrome with childhood iron deposition in brain. *J Hum Genet.* 2014

公募代表 藤本千里

1. Fujimoto C\*, Kamogashira T\*, Yamasoba T. Reactive Oxygen Species, Apoptosis and Mitochondrial Dysfunction in Hearing Loss. *Biomed Res Int.* 2015.
2. Fujimoto C, Yamasoba T. Oxidative Stresses and Mitochondrial Dysfunction in Age-Related Hearing Loss. *Oxid Med Cell Longev.* 2014.

公募代表 齊藤達哉

1. \*Isaka Y, Takabatake Y, Takahashi A, Saitoh T, Yoshimori T. Hyperuricemia-induced inflammasome and kidney diseases. *Nephrol Dial Transplant.* in press (2015)
2. Choi J, Park S, Biering SB, Selleck E, Liu CY, Zhang X, Fujita N, Saitoh T, Akira S, Yoshimori T, Sibley LD, \*Hwang S, \*Virgin HW. The parasitophorous vacuole membrane of *Toxoplasma gondii* is targeted for disruption by ubiquitin-like conjugation systems of autophagy. *Immunity.* 40, 1-12.(2014)
3. Ohshima J, Lee Y, Sasai M, Saitoh T, Ma JS, Kamiyama N, Matsuura Y, Suh PG, Hayashi M, Ebisu S, Brummelkamp TR, Takeda K, Akira S, \*Yamamoto M. Role of the mouse and human autophagy proteins in IFN- $\gamma$ -induced cell-autonomous responses against *Toxoplasma gondii*. *J Immunol.* 192, 3328-3335.(2014)

公募代表 大村谷昌樹

1. Nakagawa, Y., Sakuma, T., Sakamoto, T., Ohmuraya, M., Nakagata, N. and Yamamoto, T. Production of knockout mice by DNA microinjection of various CRISPR/Cas9 vectors into freeze-thawed fertilized oocytes. *BMC Biotechnol.* in press, 2015.
2. Ida, S., Ozaki, N., Hirashima, K., Zaito, Y., Taki, K., Sakamoto, Y., Miyamoto, Y., Oki, E., Morita, M., Watanabe, M., Maehara, Y., Yamamura, K., Baba, H. and \*Ohmuraya, M. SPINK1 Status in Colorectal Cancer, Impact on Proliferation, and Role in Colitis-associated Cancer *Mol Cancer Res.* in press, 2015.
3. Sakata, K., Ohmuraya, M., Araki, K., Suzuki, C., Ida, S., Hashimoto, D., Wang, J., Uchiyama, Y., Baba, H. and Yamamura, K. Generation and analysis of serine protease inhibitor Kazal type 3-Cre driver mice. *Exp Anim.* 63:45-53, 2014.
4. Ozaki, N., Fukuchi, Y., Tomiyoshi, SR., Uehara, H., Ida, S., Wang, J., Araki, K., Sabilia, M., Baba, H., Yamamura, K. and \*Ohmuraya, M. Autophagy regulation in pancreatic acinar cells is independent of epidermal growth factor receptor signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 446:224-230, 2014.
5. Nakagawa, Y., Yamamoto, T., Suzuki, K., Araki, K., Takeda, N., Ohmuraya, M. and Sakuma, T. Screening Methods to Identify TALEN-Mediated Knockout Mice. *Exp Anim.* 63:79-84, 2014.
6. Nakagawa, Y., Sakuma, T., Nakagata, N., Yamasaki, S., Takeda, N., Ohmuraya, M. and Yamamoto, T. Application of Oocyte Cryopreservation Technology in TALEN-Mediated Mouse Genome Editing. *Exp Anim.* 63:349-355, 2014.

公募代表 綿田裕孝

1. Watada H., Fujitani Y. Minireview: Autophagy in pancreatic  $\beta$ -cells and its implication in diabetes. *Mol Endocrinol.* 2015;29(3):338-48
2. Yamamoto E, Uchida T, Abe H, Taka H, Fujimura T, Komiya K, Hara A, Ogihara T, Fujitani Y, Ueno T, Takeda S, \*Watada H. Increased expression of ERp57/GRP58 is protective against pancreatic beta cell death caused by autophagic failure. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014; 453(1):19-24.
3. Shigihara N, Fukunaka A, Hara A, Komiya K, Honda A, Uchida T, Abe H, Toyofuku Y, Tamaki M, Ogihara

T, Miyatsuka T, Hiddinga HJ, Sakagashira S, Koike M, Uchiyama Y, Yoshimori T, Eberhardt NL, \*Fujitani Y, \*Watada H. Human IAPP-induced pancreatic  $\beta$  cell toxicity and its regulation by autophagy. *J Clin Invest*. 2014;124(8):3634-44

公募代表 小池正人

1. Fuse, A.#, \*Furuya, N.#, Kakuta, S., Inose, A., Sato, M., Koike, M., Saiki, S., \*Hattori, N. VPS29-VPS35 intermediate of retromer is stable and may be involved in the retromer complex assembly process. *FEBS Lett*. in press. (#These authors contributed equally to this work)
2. Rinchai, D., Riyapa, D., Buddhisa, S., Utispan, K., Titball, R.W., Stevens, P.M., Stevens, J.M., Ogawa, M., Tanida, I., Koike, M., Uchiyama, Y., Ato, M., \*Lertmemongkolchai, G. Macroautophagy is essential for killing of *Burkholderia pseudomallei* in human neutrophils. *Autophagy* in press.
3. Nanao, T.#, \*Koike, M.#, Yamaguchi, J., Sasaki, M., \*Uchiyama, Y. Cellular localization and tissue distribution of endogenous DFCP1 protein. *Biomed. Res.* 36:121-133 (2015). (\*These authors contributed equally to this work)
4. Uemura, N., Koike, M., Asai, K., Kinoshita, M., Fujiwara-Ishikawa, T., Matsui, H., Naruse, K., Sakamoto, N., Uchiyama, Y., Todo, T., Takeda S.I., Yamakado, H., \*Takahashi, R. Viable neuronopathic Gaucher disease model in medaka (*Oryzias latipes*) displays axonal accumulation of alpha-synuclein. *Plos Genet*. 11:e1005065 (2015).
5. Asano, T.#, Koike, M.#, Sakata, S., Takeda, Y., Nakagawa, T., Hatano, T., Ohashi, S., Funayama, M., Yoshimi, K., Asanuma, M., Toyokuni, S., Mochizuki, S., Uchiyama, Y., \*Hattori, N., \*Iwai, K. Iron induces mitochondrial damage that recruits parkin. *Neurosci. Lett.* 588:29-35 (2015). (#These authors contributed equally to this work)
6. \*Ueno, Y., Koike, M., Shimada, Y., Shimura, H., Uchiyama, Y., Hattori, N., Urabe, T. L-carnitine enhances axonal plasticity and improves white-matter lesions after chronic hyperperfusion in rat brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 35:382-391 (2015).
7. Suyama, M.#, Koike, M.#, Asaoka, D., Mori, H., Oguro, M., Ueno, T., Nagahara, A., Watanabe, S., Uchiyama, Y. Increased immunoreactivity of cathepsins in the rat esophagus under chronic acid reflux esophagitis. *J. Histochem. Cytochem.* 62:645-660 (2014). (#These authors contributed equally to this work)
8. Bartolomé, A., Kimura-Koyanagi, M., Asahara, S., Guillén, C., Teruyama, K., Inoue, H., Shimizu, S., Kanno, A., García-Aguilar, A., Koike, M., Uchiyama, Y., Benito, M., Noda, T., \*Kido, Y. Pancreatic  $\beta$  cell failure mediated by mTORC1 hyperactivity and autophagic impairment. *Diabetes* 63:2996-3008 (2014).
9. Ishikawa K., Saiki, S., Furuya, N., Yamada, D., Imaichi, Y., Li, Y., Kawajiri, S., Sasaki, H., Koike, M., Tsuboi, Y., \*Hattori N. p150glued-associated disorders are caused by activation of intrinsic apoptotic pathway. *Plos One* 9:e94645 (2014).

公募代表 新崎恒平

1. Arasaki, K., Shimizu, H., Mogari, H., Nishida, N., Hirota, N., Furuno, A., Kudo, Y., Baba, M., Baba, N., Cheng, J., Fujimoto, T., Ishihara, N., Ortiz-Sandoval, C., Barlow, L. D., Raturi, A., Dohmae, N., Wakana, Y., Inoue, H., Tani, K., Dacks, J. B., Simmen, T., and \*Tagaya, M. Role for the ancient SNARE syntaxin 17 in regulating mitochondrial division. *Dev. Cell* 32, 304-317 (2014).

公募代表 石原直忠

1. Oettinghaus B., Schulz J., Restelli L., Savoia C., Schmidt A., Schmitt K., Grimm A., Morè L., Hench J., Tolnay M., Eckert A., D'Adamo P., Franken P., Ishihara N., Mihara K., Bischofberger J., \*Scorrano L. \*Frank S. Synaptic dysfunction, memory deficits and hippocampal atrophy due to ablation of mitochondrial fission in adult forebrain neurons. *Cell Death Differ.* (in press, advance online publication 24 April 2015)
2. Arasaki K., Shimizu H., Mogari H., Nishida N., Hirota N., Furuno A., Kudo Y., Baba M., Baba N., Cheng J., Fujimoto T., Ishihara N., Ortiz-Sandoval C., Barlow L., Raturi A., Dohmae N., Wakana Y., Inoue H., Tani K., Dacks J., Simmen T., \*Tagaya M. A role for the ancient SNARE syntaxin 17 in regulating mitochondrial division. *Dev. Cell.* 32: 304-317 (2015)
3. Ishihara T., Ban-Ishihara R., Maeda M., Matsunaga Y., Ichimura A., Kyogoku S., Aoki H., Katada S., Nakada K., Nomura M., Mizushima, N. Mihara K., \*Ishihara N.. Dynamics of mtDNA nucleoids regulated by mitochondrial fission is essential for maintenance of homogeneously active mitochondria during neonatal heart development. *Mol. Cell. Biol.* 35: 211-223 (2015)
4. Udagawa, O., Ishihara, T., Maeda, M., Matsunaga, Y., Tsukamoto, S., Kawano, N., Miyado, K., Shitara, H., Yokota, S., Nomura, M., Mihara, K., Mizushima, N., \*Ishihara, N. Mitochondrial Fission Factor Drp1 Maintains Oocyte Quality via Dynamic Rearrangement of Multiple Organelles. *Curr. Biol.* 24: 2451-2458 (2014)

公募代表 津久井久美子

1. Picazarri K, Nakada-Tsukui K, Tsuboi K, Miyamoto E, Watanabe N, Kawakami E and Nozaki T Atg8 is involved in endosomal and phagosomal acidification in the parasitic protist *Entamoeba histolytica* *Cell. Microbiol.* in press (2014)

#### アウトリーチ

1. 村松一洋 2015年2月13日 大学院生によるワークショップ「新たな疾患を解き明かす～神経変性疾患 SENDAの原因遺伝子と病態解明～」 大学院生80名 群馬大学
2. 水島昇 2015年1月17日 音羽公開講座講演「どんどん入れ替わっている私たちの体：生命科学の紹介」 中学生約300名 音羽中学校
3. 村松一洋 2014年11月23日 第39回東日本小児科学会教育セミナー「てんかんと神経変性疾患、新たな治療の選択肢と可能性」 小児科医150名 前橋市民文化会館
4. 齊木臣二 2014年11月15日 British Council Japan Association 年次総会 「神経変性疾患の治療法に関するケンブリッジ大学での研究活動」 一般約25名 根津美術館
5. 水島昇 2014年10月25日 第7回形態科学シンポジウム講演「どんどん入れ替わっている私たちの体：



- 分解の科学」 高校生約 100 名 東京大学
6. 佐藤美由紀 2014 年 10 月 23 日 まちなかキャンパス「ミクロの世界の物流システム」 一般約 30 名 前橋市中央公民館
  7. 水島昇 2014 年 9 月 24 日 フロンティアサロン・サイエンスセミナー「どンドン入れ替わっている私たちの体：分解の科学」 高校生約 1000 名 帝国ホテル
  8. 吉森保 2014 年 8 月 29 日 アート&テクノロジー知術研究プロジェクト「知デリ」、あいまいみー：アート x 細胞 x ワタシ 55 名 京阪中之島線 なにわ橋駅構内のコミュニティスペース「アートエリア B1」
  9. 佐藤美由紀 2014 年 8 月 8-11 日 群馬ちびっ子大学 出展 「のぞいてみよう！生き物の秘密」 小中学生と父兄 5900 名（イベント全体） ヤマダ電機 LABI1 高崎
  10. 水島昇 2014 年 7 月 18 日 分子遺伝学入門講習会「基礎医学研究について」 高校生 10 名 東京医科歯科大
  11. 水島昇 2014 年 6 月 25 日 読売テクノフォーラム「科学の力で世界を元気に」 講演「細胞内リサイクルからみた生命の不思議」 一般約 100 名 読売大阪ビル
  12. 石原直忠 動画提供 NHK 高校講座 生物基礎「呼吸」 2014 年 5 月 27 日 放送
  13. 水島昇 2014 年 5 月 10 日 読売テクノフォーラム「科学の力で世界を元気に」 講演「細胞内リサイクルからみた生命の不思議」 一般約 100 名 日本プレスセンター
  14. 水島昇 2014 年 4 月 27 日 武蔵高等学校中学校記念祭講演「基礎医学研究の楽しさ ～細胞内リサイクルの研究を通じて～」 中学生高校生約 200 名 武蔵中学校高等学校
  15. 吉森保 2014 年 2 月 17 日 細胞が自分を食べる「オートファジー」 病気にも深くかかわる生命現象の謎に迫る（フロンランナー Vol.33） 中高生向け科学学習ウェブサイト WAO サイエンスパーク
  16. 吉森保 2013 年 12 月 26 日 大阪大学 X 大阪ガス アカデミックッキング、こまった時には自分を食べる？～タコもびっくりオートファジー 約 30 名 大阪ガスクッキングスクール千里
  17. 吉森保 2013 年 10 月 4 日 日本酒に固め、ほろよい細胞生物学入門 PART2 「日本酒一週間 ～お酒にまつわるエトセトラ～」 ライトトーク 約 50 名 なにわ橋駅 アートエリア B1
  18. 水島昇 2013 年 7 月 16 日 分子遺伝学入門講習会「基礎医学研究について」 高校生 9 名 東京医科歯科大
  19. 吉森保 2013 年 6 月 発行 SELF BRAND 2014 (FROMPAGE)、特集企画「学問の広告 日本が誇る Made in JAPAN」 私たちの身体を守る大切な機能「オートファジー」って何？ SELF BRAND 2014 P.75
  20. 吉森保 2013 年 6 月 8 日 科学カフェ京都、第 97 回 定例会「細胞の中の世界」 —— 病気を防ぐオートファジーの謎 —— 約 50 名 京都大学 理学研究科セミナーハウス

## 新聞

- 毎日新聞 2015.2.19 パーキンソン病の遺伝子発見（斉木）
- QLifePro 医療ニュース 2015.2.6 遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子を新たに発見—順大（斉木）
- 中日新聞 2015.2.5 パーキンソン病の原因遺伝子を特定（斉木）
- 共同通信ニュース 2015.2.4 パーキンソン病の原因遺伝子発見（斉木）
- 静岡新聞 2015.2.4 神経難病に原因遺伝子 順天堂大などが発見（斉木）
- 日経産業新聞 2015.2.4 遺伝性のパーキンソン病 順大、原因遺伝子発見（斉木）
- 日経産業新聞 2014.11.25 細胞の「掃除役」可視化 がんなどの関連探る（水島）
- 日本経済新聞 2014.10.19 受精卵、内部で何が起こる？（塚本）
- 西日本新聞 2014.10.7 朝刊筑後版 ミトコンドリア制御の遺伝子 卵子の発育に関与（石原）
- 科学新聞 2014.10.3 ミトコンドリアが卵子の質を維持する仕組み解明（石原）
- 薬事日報 2014.9.10 自然免疫の制御に基づく疾患治療法の開発を目指して（齊藤）
- 日本経済新聞 2014.5.27 朝刊 「細胞の不要たんぱく質分解の仕組み解明」（野田展）
- 読売新聞 2014.4.7 たんぱく質の再生追究（水島）
- 毎日新聞 2014.4.3 命名から半世紀、ブームの「オートファジー」多様な機能（水島・小松・吉森）
- 日経産業新聞 2014.1.20 自食作用 病気治療に活用 がんや神経疾患 研究者が結集（水島・吉森）
- 朝日新聞 2013.12.16 迫れ細胞リサイクル 病気の解明に期待 研究進む（水島・吉森）
- NHK・Eテレ 2013.12.8 サイエンス ZERO 「ノーベル賞がひもとく生命と膜の神秘」（吉森）
- 朝日新聞デジタル 2013.11.14 「自食」で細菌を退治 阪大教授ら解明（吉森）
- 朝日新聞東京本社版 2013.11.14 「自食」で細菌を退治 阪大教授ら解明（吉森）
- 毎日新聞 2013.10.22 「細菌侵入」に目印 阪大グループ 察知する仕組み解明（吉森）
- 毎日 JP（毎日新聞）2013.10.21 細胞：細菌侵入察知の仕組みを解明 阪大（吉森）
- マイナビニュース 2013.10.21 オートファジーが細胞内に侵入した病原菌の分解も行うことを発見（吉森）
- 朝日新聞大阪本社版 2013.10.17 自食作用で細菌分解 細胞の仕組みを解明（吉森）
- 日経産業新聞 2013.10.16 細胞内で菌を退治 覆う膜 破れ察知 阪大、仕組み解明（吉森）
- 日刊工業新聞 Business Line 2013.10.9 細胞の自己分解で病原菌撃退するオートファジー機構を解明（吉森）
- 輸送経済 2013.10.8 生物に宿る“驚異の”物流機能 物流業界の発展のヒント「細胞内ロジスティクス」を提唱する大阪大学大学院教授 吉森 保氏に聞く（特別インタビュー）（吉森）
- 日本経済新聞 2013.9.24 肝臓がんの細胞増殖の仕組み解明（小松）
- 科学新聞 2013.08.30 有害な損傷リソソーム オートファジーで除去・修復（吉森）
- 日刊工業新聞 Business Line 2013.8.7 細胞内物質分解のリソソーム、オートファジーで修復—阪大（吉森）
- マイナビニュース 2013.8.7 生活習慣病などの治療法に期待・細胞内器官の除去・修復機構を発見（吉森）
- 日経産業新聞 2013.7.9 細胞の掃除役を解明 治療薬に活用、研究急ぐ（水島）

領域の HP: <http://proteolysis.jp/autophagy/>

## 6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2 ページ程度）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、研究組織間の連携状況について組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

本領域では、オートファジーを無細胞系からヒト疾患まで俯瞰的に扱う。項目は「A01：オートファジーの分子機構と膜動態」と「A02：オートファジーの生理・病態」の2つを設定している。概要は図2に示すとおりで、A01では、無細胞系～酵母～哺乳動物細胞を主たる対象として、オートファジーの分子機構と膜動態の解析を行う。A02はマウスモデルやヒト疾患の研究、オートファジー制御化合物探索を主として行う。この2つの項目は密接に関連するため、一部の研究は重複しながら有機的に連携する。

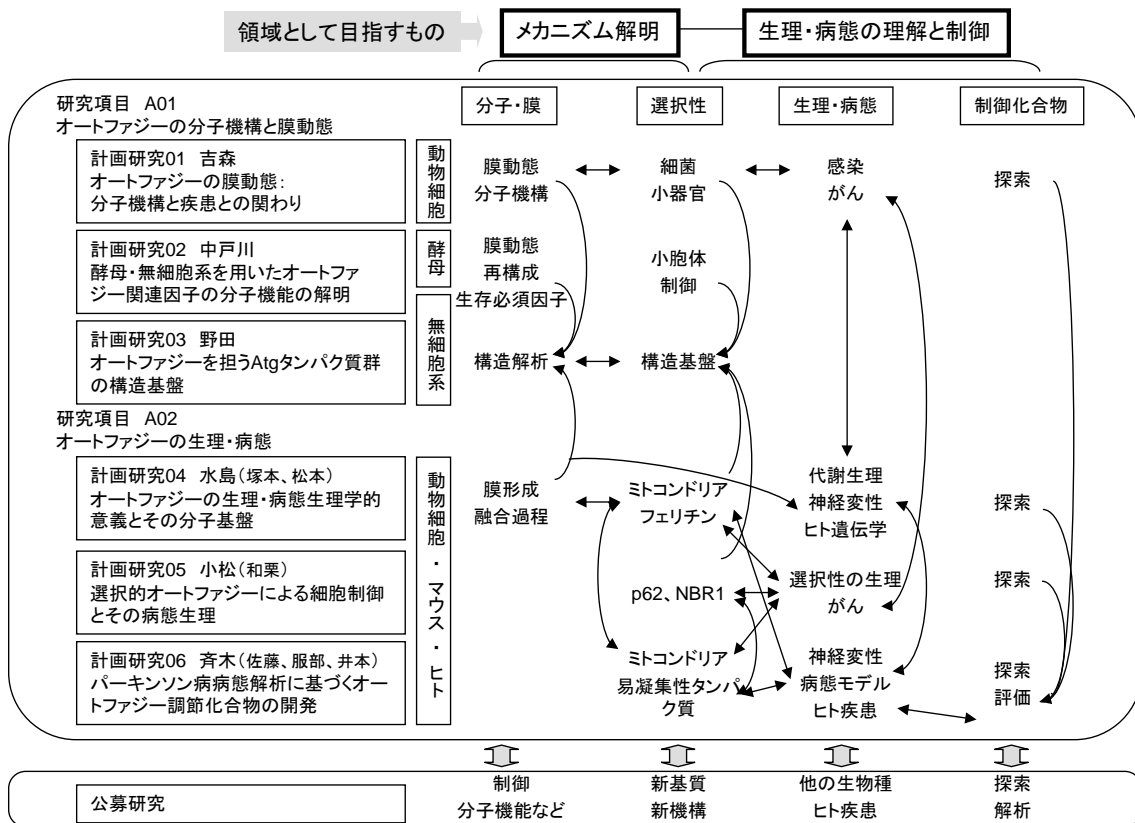


図2. 領域推進の研究組織と連携状況

平成26年度より加わった公募研究はA01が11件、A02が10件の合計21件である。その大まかな内訳はA01として分子・膜が8件（酵母4件、植物1件、哺乳類2件、構造1件） 選択性が3件（酵母1、線虫1、哺乳類1）であり、A02として生理1件、感染・炎症4件、神経疾患4件、代謝性疾患1件であり、バランスのとれた構成となっている。特に、計画班で十分にカバーされていない各種疾患研究が公募研究で十分に採択されている。実際に領域内で推進されている連携状況は次の通りである。

### 【論文発表に至った領域内共同研究】

細菌感染時のオートファジー装置のエンドソームへの召集機構の解明（中戸川・齊藤・野田健司・吉森）

(*J. Cell Biol.* 2014)

哺乳類オートファジー因子の構造解析（野田展・水島）(*Nat. Struct. Mol. Biol.* in press)

オートファジー誘導に関わる Atg1 複合体形成機構の解析（野田展生・山本）(*Nat. Struct. Mol. Biol.* 2014)

受精卵のミトコンドリアの品質管理におけるミトコンドリア分裂の意義（石原・水島）(*Curr Biol.* 2014)

心筋形成におけるミトコンドリア DNA の配置と分裂の意義（石原・水島）(*Mol Cell Biol* 2015)

受精によって誘導されるオートファジーの制御機構の解析（水島・塚本）(*Biol Reprod.* 2014)

ATG9A、ATG14 遺伝子欠損細胞の解析（水島・斎藤）(*J Cell Sci.* 2014)



選択的オートファジーに連動した転写因子 Nrf2 活性化機構の解明 (小松・和栗・吉森) (*Mol Cell*, 2013)  
隔離膜形成における管状構造体の同定とその動態解析 (和栗・小松) (*Mol Cell Biol* 2014)  
プロテアソーム機能障害に応答したオートファジーの動態解析 (小松・和栗) (*J Biol Chem* 2014)  
出芽酵母 Atg3 の機能解析 (鈴木・中戸川) (*J Biol Chem* 2015, *FEBS Lett.* 2015)  
酵母オートファジー活性調節因子のゲノムワイドスクリーニング (野田健司・吉森) (*Autophagy* 2014)  
Syntaxin17 によるミトコンドリア分裂の制御機構 (新崎・石原) (*Dev Cell* 2014)  
神経変性疾患関連エンドソーム・リソソームタンパク質の動態に関する超微形態観察 (斉木・小池) (*FEBS Lett* 2015, *PLoS One* 2014)  
膵β細胞におけるヒト IAPP 発現とオートファジー不全による細胞障害機構の解明 (綿田・小池・吉森) (*J Clin Invest* 2014)

【未発表の領域内共同研究】

Atg8 ホモログの脱脂質化反応に関する研究 (中戸川・岡本)  
選択的オートファジーにおける標的の自己会合および標的レセプター間相互作用 (野田展生・中戸川)  
小胞体および核の選択的オートファジーのレセプターの構造解析 (野田展生・中戸川)  
オートファジックボディの分解を担う Atg15 の構造解析 (野田展生・鈴木)  
液胞酵素の選択的オートファジーを担うアダプタータンパク質の構造解析 (野田展生・鈴木)  
細菌感染エンドソームへのオートファジータンパク質のリクルート (吉森・齊藤・福田)  
Npr2-Npr3 による Gtr1-Gtr2-TORC1 制御によるオートファジー誘導 (野田健司・吉森)  
オートファジーによるヒト膵アミロイドポリペプチドによる 2 型糖尿病発症抑制 (綿田・吉森)  
Joubert 症候群の病態における INPP5E 変異とオートファジー機能 (吉森・村松)  
オートファジーアダプター分子に関する研究 (小松・水島)  
内耳機能におけるオートファジーの意義の解析 (藤本千里・水島)  
Atg2A、Atg2B 遺伝子欠損細胞、マウスの解析 (小松・水島・和栗)  
選択的オートファジー関連分子 Alfy に関する研究 (小松・福田)  
リソソーム膜上亜鉛トランスポーターのリソソーム酸性化機構の検討 (斉木・小池)  
SENDA 患者由来細胞/iPS 細胞由来神経細胞を用いたオートファジー機能不全の解明 (村松・斉木)  
新規オートファジー制御因子の機能・動態解析 (吉森・潮田)  
線虫を用いたオートファジー関連因子の個体での機能解析 (佐藤・潮田)  
Macroautophagy 欠損細胞における RNautophagy/DNautophagy の解析 (株田・水島)  
オートファジー誘導時の液胞膜動態の形態学的・生化学的詳細解明 (阪井・藤本豊士)  
受精卵内のレドックス状態およびオートファジー活性による品質評価 (塚本・阪井)  
OATL1 のオートファゴソーム外膜への局在化機構の解明 (福田・和栗)  
ホスファチジルイノシトール 3 燐酸の細胞内局在と機能の解析 (藤本豊士・山本)  
慢性膵炎マウス (SPINK1 ノックインマウス) における膵内分泌機能の役割 (綿田、大村谷)  
神経細胞と膵腺房細胞におけるカテプシン B、D、L の役割の解析 (小池、大村谷)  
Rubicon、Tollip 遺伝子欠損マウスの解析 (齊藤・吉森)  
ATG7、Tollip 遺伝子欠損マウスの解析 (齊藤・小松)  
糖尿病とオートファジーに関する解析 (齊藤・綿田)

## 7. 若手研究者の育成に係る取組状況（1ページ程度）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

### 班会議およびオートファジー研究会

本領域では領域の拡大および若手育成を目的のひとつとしており、その実現のために班会議は従来のオートファジー研究会と合同で開催することとしている。それによって、班員に限らず多くの若手研究者が日本のオートファジー研究の最前線に触れることができるような体制にしている。実際、第1回班会議（平成25年12月19日～21日静岡県掛川市）では約170名（ポスター55件）、第2回班会議（平成26年11月9日～11日に北海道札幌市）では約160名（口頭発表36名、ポスター46件）の参加があった。このうち、学部生と大学院生の総数は第1回班会議で62名、第2回班会議で41名であった。いずれも会場では若手が熱心に議論を交わしており、若手育成に貢献した。

### 若手の会

さらなる若手育成を目指し、第2回班会議では班会議前日に大学院生とポスドクによって企画・発表された「若手の会」を開催した。ここでは70名を超える若手研究者が参加し、18件の口頭発表に対して熱心な討議がなされた。これは大きな成功であり、今年度以降も開催することとしている。

### オートファジーフォーラム

本領域のホームページでは、オートファジー研究領域の論文を紹介するウェブサイト「オートファジーフォーラム」を設置しており、班員の論文が雑誌に受理された場合は、原則として筆頭著者が論文を紹介する仕組みをとっている。現在のところ50件の論文が紹介されており、多くの若手研究者がこれに貢献している。

### 若手研究者の昇進等

計画研究の中戸川仁班員（領域発足時は東京工業大学フロンティア研究機構特任准教授）が2014年6月に同大学・大学院生命理工学研究科・准教授（常勤職）に、小松雅明班員（領域発足時は公益財団法人東京都医学総合研究所研究員）が2014年4月に新潟大学医歯学総合研究科教授に異動となった。公募研究の齊藤達哉班員（採択時は大阪大学微生物病研究所自然免疫学分野・准教授）が2015年4月1日に徳島大学疾患酵素学研究センターシグナル伝達糖尿病研究部門・教授に昇進した。その他、研究グループの若手研究者・大学院生の多くが本領域の研究を行うことによって受賞、就職、助成金採択などにつながっている。

## 8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1ページ程度）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

### 計画研究総括班で設置した共通設備

高解像度 4D イメージシステムおよびリアルタイムコンフォーカル顕微鏡（ニポウディスク顕微鏡ユニット）（東京大学）：領域全体の効率的な研究支援として本領域で共有する顕微鏡システムを設置した。これらは順調に管理・運営されており、オートファジーの膜動態のダイナミクス研究などに計画研究および公募研究の班員によって高頻度に使用されている。

### 計画研究で設置した設備

共焦点イメージサイトメーター（大阪大学）：多検体スクリーニングに特化した共焦点レーザー顕微鏡で、オートファゴソーム形成を見るアッセイ系などに適しており、siRNA スクリーニング等に使用している。今後低分子化合物のスクリーニングにも使用する予定である。

RevolutionXD 共焦点レーザー顕微鏡システム（大阪大学）：高速で2色以上の蛍光を同時撮影可能なシステムなので、オートファゴソーム形成過程におけるオートファジータンパク質の挙動の追跡に活用している。

Mosaic 光刺激システム及び Mosaic 用レーザー他一式（大阪大学）：顕微鏡視野下で、特定部位にレーザーを照射し蛍光タンパク質の蛍光を変化させるための装置。選択的オートファジーにおける基質の動態を観察するなど活用している。

倒立型リサーチ顕微鏡オリンパス IX83 システム（東京工業大学）：オートファジー関連タンパク質の細胞内動態の解析に高頻度に使用している。

クロマトグラフィーシステム（NGC Quest10 plus）（微生物化学研究所）：構造解析のための Atg 蛋白質の精製に高頻度に使用している。

BD FACS Aria II セルソーター（新潟大学）：オートファゴソーム膜局在タンパク質 GATE-16 に関連した赤血球分化解析やゲノム編集法による遺伝子欠損細胞の細胞選別に使用している。

マルチモードプレートリーダー EnSpire（新潟大学）：プロテアソームの酵素活性測定、ケトン体測定、レポーターアッセイ、呼吸活性測定などの生化学的実験で日常的に使用している。

フロア型超遠心機（東京大学）：オートファジー膜構造体やタンパク質の精製などに高頻度に使用されている。

ルミノ・イメージアナライザー（東京大学）：新規に開発したオートファジー活性測定方法の測定機器として利用しており、薬剤スクリーニングなどに頻繁に使用している。

ゼブラフィッシュ飼育集合水槽システム（東京大学）：水晶体細胞内分解のメカニズム解析を目指した遺伝学スクリーニングにゼブラフィッシュ水槽システムを恒常的に利用している。

### 公募研究での設備使用状況

スーパーエレクトロポレーター NEPA21-S（京都産業大学）、微量高速冷却遠心機（群馬大学）、細胞破碎機・マルチビーズショッカー（東京工業大学）、シールセーフラック（順天堂大学）などが購入され、ほぼ毎日利用されている。

## 9. 総括班評価者による評価（2 ページ程度）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

### 岩井 一宏（京都大学・医学研究科・教授）

オートファジーは日本が世界をリードしている研究分野であるが、これまでは分解、メンブレントラフィックなどの領域の一部として扱われてきた。本領域は構造生物学、生化学、細胞生物学、酵母、マウス等の個体遺伝学、疾患を含めた広汎な側面からオートファジー研究に従事してきた研究者を結集し、オートファジー研究を牽引してきた領域代表の優れたリーダーシップの下で、有機的な共同研究が数多く展開して研究を進展させることを目指している。領域発足後2年ですでに小胞体、核の認識に関与する新規アダプターの同定等、オートファジーの分子メカニズムの理解に加え、疾患におけるオートファジー役割、制御方法の開発など、世界をリードする研究が数多く発信されており、その目的は十分に成就されている。領域 HP での研究プロトコルの紹介、オートファジー論文紹介 Web サイト、公開形式の領域班会議など、領域内のみならず日本のオートファジー研究の牽引に尽力していることも特筆できる点である。本領域は日本のオートファジー研究の中核組織として十分に機能して世界のオートファジー研究をリードしており、領域の後半でもさらにその進捗が望まれる。

### 内山 安男（順天堂大学・医学研究科・老人性疾患病態・治療研究センター・センター長）

オートファジー研究は日本がリードする研究分野であるが、本研究班が発足して2年余りで幾つかの注目すべき報告がなされていることは、本グループの構成メンバーの研究能力の高さを示すものと思われる。その第一は、選択的オートファジーのターゲットとなる酵母オルガネラ（小胞体と核）の受容体分子を新たに見出した点で、今後、他生物種での研究の発展が期待される（中戸川ら）。また、計画班内のあるいは公募班との共同研究によっても大きな成果を上げている。結晶構造解析により Atg101-Atg13 複合体の結晶構造を決定し、さらに Atg101 の分子機能を明らかにし（野田-水島ら）、飢餓依存的な Atg13 の脱リン酸化による、Atg1 複合体が形成されることでオートファジーが始動する分子機構を明らかにした（野田-山本ら）研究は高く評価される。オートファゴソームとリソソームの融合には syntaxin-17 が SNARE タンパク質として働くが、リソソームに係留するタンパク質 HOPS が syntaxin-17 と結合することが示された（水島ら）。病態解析においても、SENDA 病とオートファジーとの関係の解析が進められ、モデル動物の作製も進められている点は今後の結果が期待できることを示している。さらに、本研究グループは、WEB を活用して研究班内から発信された論文についての説明と討論がなされ、グループ内の研究の進展に大きく貢献していることがうかがえる。

### 大隅 良典（東京工業大学・フロンティア研究機構・特任教授）

オートファジーは、長年日本が世界を牽引してきた数少ない分野の一つである。本領域はこれまでこの領域で活躍しているメンバーを糾合した組織であり、これまでの成果は申し分ない。代表者は領域運営に当たって十分な配慮と、リーダーシップを発揮しており、当初の計画通り順調に進んでいる。論文として公表された成果も計画代表者は質量ともに高いものであり、公募班員にも優れた論文が認められる。

オートファジー領域は目覚ましい勢いで拡大しているが、その解析に多面的な解析が必要とされることもあって、必ずしも新規参加者が多くはなかった。本領域で班会議をオープンにして、さらに独自の若手だけの集まりを行い、多数の若い研究者のバリアを低くできた点は大いに評価したい。

公募班員の参加によって、研究材料、取り扱う現象、病態との関連など大きな広がりを持ったと言える。第2期の公募を期に、班員の入れ替えを行い、さらに新規性のある研究者を呼び込む努力をしてほしい。

様々な状況の判断から2017年に国際シンポジウムを延期するという決断は妥当であると思われるが、

新設される制度を利用して、国際交流の中心として、さらに発展する工夫をしてほしい。

#### **大野 博司（理化学研究所・総合生命医学研究センター・グループディレクター）**

オートファジーは、細胞の代謝や品質管理に重要な基本的細胞機能であるが、それにとどまらず、多細胞生物では初期発生や、また感染・炎症や細胞変性疾患の制御など、多様な生命機能に関与している。オートファジーは、大隅良典博士の先駆的研究や、それに続く本領域代表の水島博士や計画研究代表の吉森博士等を中心とした世界トップクラスのオートファジー研究者らの研究により、本邦が世界を牽引している重要な研究分野である。本領域は、現在世界のトップランナーとして活躍する本邦のオートファジー研究者を結集し、共同研究を推進することで、オートファジー研究における世界的先進性・優位性を維持し、さらに確固たるものにするために重要である。

そのための具体的な方策として、総括班はオートファジーフォーラムの開設や領域班会議の開催、プロトコルの公表やオートファジーデータベース（菅原秀明特任教授との連携）により最新研究情報を共有し、当該研究分野の発展拡大に寄与している。また、領域ホームページの開設により、広く一般社会に向けての情報の発信にも努めている。領域全体の研究活動としても、論文・著書がハイインパクトな一般誌も含めて 132 報（うち公募研究から 57 報）ある。これらの研究内容は、新聞記事として 30 回以上取り上げられるなど社会からの注目度も高く、また特許出願も 3 件と、知的財産として社会への還元も行われている。このように、当新学術領域は極めて順調に研究を進めていると評価できる。

#### **木南 英紀（順天堂大学・学長（医学部 名誉教授））**

本研究領域においては、1) オートファジーの分子機構と膜動態、2) オートファジーの生理・病態という 2 つの研究項目の相互の理解を関連付けながら研究の進展を図っており、現在までに当初の目的を十分に達している。

オートファジーは多岐にわたる高次機能に関わっており、本研究の目的を達成するために多様な研究領域の研究者間の有機的な連携が必須である。本研究組織では、各計画研究間の領域内連携は十分とれており、計画研究と公募研究もうまくかみ合い、新規知見の報告があり、着実に成果を挙げている点は評価できる。オートファジー形成の指導を担う Atg1 複合体の構造機能解析の成果や実際のヒト疾患、SENDA 病においてオートファジーの遺伝的変異がみつかった意義は大きい。今後その病態・病像形成のメカニズムの解明と共に、さらに多くの幅広い領域の疾患でオートファジーとの関連を明らかにし、「オートファジー不全病」というコンセプトを提唱するまで研究が進展することを期待する。さらに、オートファジー制御化合物の探索チームと連携して治療法の開発までの発展を望みたい。若手の育成や研究組織間の情報共有・研究拡大のための WEB でのフォーラムの設置など、領域代表の強いリーディングの下、総括班がセンター機能として十分機能している。日本発の研究であり、国際的な研究のイニシアティブを牽引する研究組織としての役割を担うことを期待する。

#### **田中 啓二（東京都医学総合研究所・所長）**

オートファジーは 1950 年代に発見され近年飛躍的に発展してきた古くて新しい細胞内の異化代謝系であるが、その基盤となる多くの遺伝子群が日本で最初に分離されたことから、オートファジー研究は、我が国の研究者たちが世界を先導してきた。そして未曾有に拡大している生命科学の分野で、文字通り日本が世界を牽引している数少ない学術領域である。しかし現在、この分野における中国の台頭は著しく、また欧米から猛追を受けており、オートファジー研究における日本の優位性は脅かされ、時に凌駕されている状況を迎つつある。通常、学術は個人研究が基軸であるが、オートファジー研究はもはや個人の研究

者が独自に研究を推進して世界に対抗するのは困難であり、また一人の研究者では世界を席卷するのが困難なほどに大きな規模の研究領域になっている。この世界の動向を的確に把握して、我が国独自の新学術研究を立ち上げたことは、時宜にかなった戦略であり、協調的な研究組織の構築による相加的・相乗的効果が期待できる。本新学術研究では、オートファゴソーム膜の形成機構という基本命題から選択的オートファジーのメカニズム、そして病態生理学的解明など多面的な活動を展開するとともに、その成果は多くの優れた学術論文として公表されており、領域として研究の進捗状況は予想以上に進展していると判断できる。今後は、最先端の研究情報や研究資材の共有という取り組みに加えて、班員間での実質的な連携を一層強化することによる研究の更なる深化と、このような企画で次世代を担う人材の育成に邁進することを期待したい。

## 10. 今後の研究領域の推進方策（2ページ程度）

今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募研究での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

### 研究の実際について

#### オートファジーの分子機構と膜動態について

これまでのところ、選択的オートファジーの分子機構を含めてオートファゴソームの形成から成熟にいたるすべてのステップの研究が順調に進んでいると考えられる。オートファジー始動に関わる Atg1 複合体については大きな展開があったものの、まだ全体像は不明である。これはこの複合体が天然変性領域を多く含み、さらに Atg13 を介して高次多量体を形成することなどが要因のひとつである。そこで当初計画していた X 線結晶構造解析法に加えて新たに高速原子間力顕微鏡の手法や凍結電子顕微鏡法などを多角的に取り入れることで Atg1 複合体の全体構造の解析を酵母および哺乳類で進めることとする。

#### 動物モデルについて

マウスなどの動物モデルに関する成果が前半期にはあまりでていないが、これは主に作出に時間がかかっていることが原因であり、計画としてはむしろ順調に進んでいる。これまで報告されていないオートファジー関連因子のノックアウトマウスの多くがすでに作製されており、それらの解析にはいつている。また、ヒト疾患モデルについても SENDA 病モデルマウスの作製がすんでおり、期間後半でより詳細な解析を行う予定である。

#### 化合物スクリーニングについて

まだ論文として発表するには至っていないが、複数の新しいスクリーニング系が開発され特許出願を済ませている。実際のスクリーニングも複数の施設で終了または施行中であり、誘導剤、阻害剤が取得されている。後半期ではそれらの作用メカニズムの解析、疾患モデルでの有効性の検討などを行い論文発表へ進めたいと考えている。

#### 他の領域との連携について

選択的オートファジーのタグとしてユビキチンがさまざまな様式で使用されていることがより明らかになり、その解析にユビキチン関連の解析ツール、解析方法が必要となってきた。そこで、本領域内の共同研究にとどまらず、新学術領域研究「ユビキチンネオバイオロジー」の複数の班員との共同研究することで対応したいと考えている。

#### カバーすべき領域について

前半期は古典的なマクロオートファジーの研究を中心に研究を展開した。しかし、オートファジーの種類の多様性という観点からは、公募班では DNA や RNA が直接リソソーム膜を透過するタイプの新しいオートファジーの研究を採択するなどして広がりが見えている。後半期は、リソソームが関与するその他の細胞内分解系や、反対に ATG 因子のもつ非オートファジー機能などの課題も取り入れ、より多角的にオートファジーを解析して領域拡大に努めたい。

一方、古典的オートファジーについても分子機構の情報が成熟しつつあるので、研究の流れとしては構成的アプローチや、数理・物理学的アプローチを加えながら進めるべき状況にきていると考えられる。公

募班での採択や共同研究を積極的に考えて進めていきたい。