

領域略称名：多経路自食作用

領域番号：7101

令和3年度科学研究費助成事業  
「新学術領域研究（研究領域提案型）」  
に係る中間評価報告書

「マルチモードオートファジー：多彩な経路と選択性が織り成す自己分解系の理解」

領域設定期間

令和元年度～令和5年度

令和3年6月

領域代表者 順天堂大学・医学部・教授・小松 雅明

# 目 次

## **研究組織**

- 1 総括班・総括班以外の計画研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・2
- 2 公募研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・3

## **研究領域全体に係る事項**

- 3 研究領域の目的及び概要・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・7
- 4 審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況・・・・・・・・・・・・・9
- 5 研究の進展状況及び主な成果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・10
- 6 研究発表の状況・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・15
- 7 研究組織の連携体制・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・20
- 8 若手研究者の育成に関する取組状況・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・21
- 9 研究費の使用状況・計画・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・22
- 10 今後の研究領域の推進方策・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・23
- 11 総括班評価者による評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・25

**研究組織** (令和3年6月末現在。ただし完了した研究課題は完了時現在、補助事業廃止の研究課題は廃止時現在。)

**1 総括班・総括班以外の計画研究**

研究項目 [1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
X00 総	19H05705 マルチモードオートファジー： 多彩な経路と選択性が織り成す自己分解系の理解	令和元年度 ～ 令和5年度	小松 雅明	順天堂大学・医学研究科・教授	1
A01 計	19H05706 選択的オートファジーによる細胞制御	令和元年度 ～ 令和5年度	小松 雅明	順天堂大学・医学研究科・教授	4
A02 計	19H05707 オートファジーシステムの構造学的解明	令和元年度 ～ 令和5年度	野田 展生	微生物化学研究所・構造生物学研究部・部長	2
A03 計	19H05708 マクロオートファジーにおける膜動態と基質選択のメカニズム	令和元年度 ～ 令和5年度	中戸川 仁	東京工業大学・生命理工学院・准教授	2
A04 計	19H05709 ミクロオートファジーの作動・制御機構	令和元年度 ～ 令和5年度	阪井 康能	京都大学・農学研究科・教授	2
A05 計	19H05710 膜透過型オートファジーの制御機構	令和元年度 ～ 令和5年度	株田 智弘	国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・室長	1
A06 計	19H05711 動物発生における細胞膜分解の分子機構とその生理機能	令和元年度 ～ 令和5年度	佐藤 健	群馬大学・生体調節研究所・教授	2
A07 計	19H05712 多様なマイトファジーの分子機構と生理的意義の解明	令和元年度 ～ 令和5年度	神吉 智丈	新潟大学・医歯学系・教授	3
A08 計	19H05713 様々なタイプのオートファジーによる植物の高次機能発現	令和元年度 ～ 令和5年度	吉本 光希	明治大学・農学部・教授	2
<b>総括班・総括班以外の計画研究 計 9 件 (廃止を含む)</b>					

[1] 総：総括班、計：総括班以外の計画研究、公：公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

## 2 公募研究

研究項目 [1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
A01 公	20H05305 哺乳動物多胞体形成とマイクロオートファジーに関するESCRT因子の同定	令和2年度 ～ 令和3年度	森田 英嗣	弘前大学・農学生命科学部・准教授	1
A01 公	20H05306 ピースミールクロロファジーの多様性と選択性賦与のメカニズム	令和2年度 ～ 令和3年度	石田 宏幸	東北大学・農学研究科・准教授	1
A01 公	20H05307 哺乳動物におけるマイクロオートファジーを介した細胞内タンパク質の分解機構	令和2年度 ～ 令和3年度	向井 康治朗	東北大学・生命科学研究科・助教	1
A01 公	20H05308 選択的オートファジーの化合物による制御	令和2年度 ～ 令和3年度	有本 博一	東北大学・生命科学研究科・教授	1
A01 公	20H05309 オートファジーによるRNA修飾ヌクレオシドの分解と再利用の解明	令和2年度 ～ 令和3年度	魏 范研	東北大学・加齢医学研究所・教授	1
A01 公	20H05310 内分泌細胞の生理的なホルモン分解機構を解明する	令和2年度 ～ 令和3年度	鳥居 征司	群馬大学・食健康科学教育研究センター・教授	1
A01 公	20H05311 エネルギー代謝制御を介したオートファジーによる組織構築・維持	令和2年度 ～ 令和3年度	荻沼 政之	大阪大学・微生物病研究所・助教	1
A01 公	20H05312 細胞外タンパク質の選択的分解経路の分子機構解析	令和2年度 ～ 令和3年度	板倉 英祐	千葉大学・理学研究院・准教授	1
A01 公	20H05313 単細胞生物におけるオートファゴソーム形成の場を構築する機構の解明	令和2年度 ～ 令和3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	20H05314 オルタナティブ・オートファジーの生理機能解析と通常型との機能分担についての解明	令和2年度 ～ 令和3年度	荒川 聡子	東京医科歯科大学・難治疾患研究所・准教授	1
A01 公	20H05315 リソソーム膜タンパク質のリソソーム内分解メカニズムの	令和2年度 ～ 令和3年度	藤田 尚信	東京工業大学・科学技術創成研究院・准教授	1

	解析				
A01 公	20H05317 TORC1によるミクロヌクレオファジー制御機構	令和2年度 ～ 令和3年度	丑丸 敬史	静岡大学・総合科学技術 研究科・教授	1
A01 公	20H05319 鉄濃度依存的なフェリチンの オートファジー経路選択性の 解析	令和2年度 ～ 令和3年度	藤田 宏明	京都大学・医学研究科・助教	1
A01 公	20H05320 細胞非自律的オートファジー が駆動する細胞競合の分子機 構の解明	令和2年度 ～ 令和3年度	井垣 達史	京都大学・生命科学研究 科・教授	1
A01 公	20H05322 核酸導入によって活性化する 選択的オートファジーの分子 機構の解明	令和2年度 ～ 令和3年度	小川 英知	大阪大学・生命機能研究 科・特任准教授	1
A01 公	20H05323 小腸上皮におけるミクロオー トファジーの分子機構	令和2年度 ～ 令和3年度	和田 洋	大阪大学・産業科学研究 所・准教授	1
A01 公	20H05324 マイトファジーの起点となる タンパク質間相互作用の制御 機構	令和2年度 ～ 令和3年度	岡本 浩二	大阪大学・生命機能研究 科・准教授	1
A01 公	20H05326 破骨細胞・マクロファージにお けるミクロオートファジー現 象の探求	令和2年度 ～ 令和3年度	野田 健司	大阪大学・歯学研究科・教 授	1
A01 公	20H05329 選択的オートファジーの誘導 と認識の分子メカニズムの解 明	令和2年度 ～ 令和3年度	濱崎 万穂	大阪大学・医学系研究科・ 准教授	1
A01 公	20H05330 植物の動的成長を駆動する時 空間特異的オートファジー	令和2年度 ～ 令和3年度	郷 達明	奈良先端科学技術大学院 大学・先端科学技術研究 科・助教	1
A01 公	20H05332 分化転換装置としての液胞バ イモータル機能の解明	令和2年度 ～ 令和3年度	佐藤 有紀	九州大学・医学研究院・准 教授	1
A01 公	20H05333 p62/SQSTM1リン酸化 促進剤によるアグリファジ ー制御の新規経路	令和2年度 ～ 令和3年度	松本 弦	長崎大学・医歯薬学総合 研究科・講師	1

A01 公	20H05337 直鎖状ユビキチン鎖が制御する新規オートファジー機構の解明	令和2年度 ～ 令和3年度	及川 大輔	大阪市立大学・医学研究科・准教授	1
A01 公	20H05338 tRNA autophagyを介したtRNAレパートリーの調節機構の解析	令和2年度 ～ 令和3年度	吉久 徹	兵庫県立大学・理学研究科・教授	1
A01 公	20H05339 ミクロリポファジーの脂肪滴・液胞膜接着機構と生理的意義の研究	令和2年度 ～ 令和3年度	辻 琢磨	順天堂大学・医学研究科・特任助教	1
A01 公	20H05340 リソソームの空間配置はオートファジーを制御し得るか？	令和2年度 ～ 令和3年度	笹澤 有紀子	順天堂大学・医学研究科・特任助教	1
A01 公	20H05341 ミトコンドリア破綻によるミトコンドリア解析とパーキンソン病モデルの樹立	令和2年度 ～ 令和3年度	佐藤 栄人	順天堂大学・医学研究科・先任准教授	1
A01 公	20H05342 リソソーム機能不全からの神経特異的モードのオートファジーの解明	令和2年度 ～ 令和3年度	谷田 以誠	順天堂大学・医学研究科・先任准教授	1
A01 公	20H05343 インスリン分泌顆粒分解の空間的・時間的評価と分子機構および病態生理学的意義の検討	令和2年度 ～ 令和3年度	西田 友哉	順天堂大学・医学研究科・准教授	1
A01 公	20H05345 オートファジーから眺める神経変性疾患の選択的脆弱性のメカニズム	令和2年度 ～ 令和3年度	浅川 和秀	東京医科大学・医学部・准教授	1
A01 公	20H05347 細胞競合を介して抗腫瘍的に機能するオートファジーモードの解析	令和2年度 ～ 令和3年度	昆 俊亮	東京理科大学・生命科学研究所・講師	1
A01 公	20H05348 分泌性オートファジーのシナプス形成における役割の解明	令和2年度 ～ 令和3年度	井端 啓二	聖マリアンナ医科大学・医・講師	1
A01 公	20H05349 栄養源を有効利用する二段構えのオートファジーシステムの解析	令和2年度 ～ 令和3年度	竹松 弘	藤田医科大学・保健学研究科・教授	1
A01 公	20H05350 オルガネラ膜電位を主軸とするリソソーム-細胞膜融合・膜	令和2年度 ～ 令和3年度	納富 拓也	大阪歯科大学・歯学部・講師	1

	動態制御法の確立				
A01 公	20H05351 膵β細胞の恒常性維持に重要なオートファジーの転写後制御の解析	令和2年度 ～ 令和3年度	柳谷 朗子	沖縄科学技術大学院大学・細胞シグナルユニット・研究員	1
A01 公	20H05352 損傷葉緑体を除去するマイクロオートファジーの作動機構	令和2年度 ～ 令和3年度	中村 咲耶	理化学研究所・環境資源科学研究センター・訪問研究員	1
A01 公	20H05353 腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおけるオートファジータンパク質の機能解明	令和2年度 ～ 令和3年度	津久井 久美子	国立感染症研究所・主任研究官	1
A01 公	20H05354 アミノ酸トランスポーターが担うオートファジー維持機構と炎症遷延化	令和2年度 ～ 令和3年度	反町 典子	国立国際医療センター研究所・プロジェクト長	1
公募研究 計 38 件 (廃止を含む)					

[1] 総：総括班、計：総括班以外の計画研究、公：公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

## 研究領域全体に係る事項

### 3 研究領域の目的及び概要

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時の領域計画書を基に、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、どのような点が「革新的・創造的な学術研究の発展が期待される研究領域」であるか、研究の学術的背景や領域設定期間終了後に期待される成果等を明確にすること。

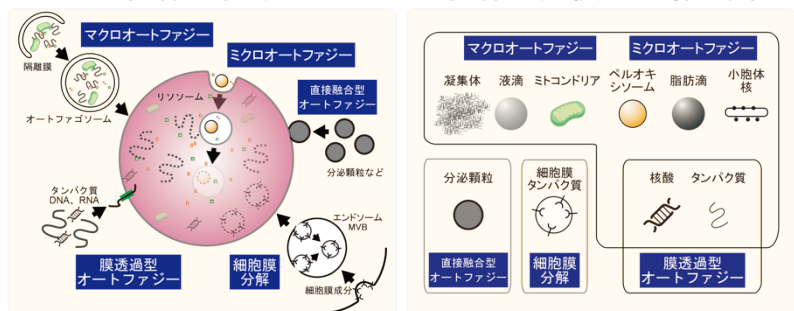
#### 研究の学術的背景

**オートファジーと定義される経路は複数存在**するが、そのうちの1つマクロオートファジーの研究が、大隅良典博士らの出芽酵母を用いた先駆的な研究、すなわち出芽酵母マクロオートファジーの発見とそれを制御する *ATG (AuTophagy)* 遺伝子の同定により飛躍的に進んだ (Ohsumi *Cell Res* 2014)。 *ATG* 遺伝子群の多くは真核生物に広く保存されているため、逆遺伝学的手法を用いてマクロオートファジーの基本的生理機能、例えば、飢餓適応、発生、タンパク質・オルガネラ恒常性、細胞内病原体分解などが明らかにされてきた (Mizushima & Komatsu *Cell* 2011)。さらに神経変性疾患やがんとの関連も注目されるようになった。このような分野の爆発的な広がり背景下、2016年、大隅良典博士にノーベル生理学・医学賞が授与された。しかし華々しい分野の発展の一方で、これまでの研究は重要な因子の同定と基本的な生理機能の解明に集中し、メカニズムの理解には程遠い状況である。さらに複数あるオートファジーの一経路に過ぎないマクロオートファジーに研究が集中し、オートファジーの全貌を理解するための研究がなされてこなかった。ところが最近になり、オートファジーは**従来の概念をはるかに超える多様性**を持つことが分かり始めている。まず、マクロオートファジー以外のオートファジー、すなわちリソソーム/液胞膜が陥入して基質を取り込む**ミクロオートファジー**や、基質がリソソーム膜を透過する**膜透過型オートファジー** (シャペロン介在性オートファジーを含む) にも従来知られていない多様なメカニズムや選択的基質 (タンパク質だけでなくオルガネラや核酸など) が存在することがわかってきた (Oku & Sakai et al., *BioEssays* 2018, Fujiwara et al., *J Biochem* 2017)。そして、受精卵などの特殊な細胞で時期特異的に展開されるエンドサイトーシスを介した**細胞膜分解** (細胞成分のリソソーム分解という点で広義のオートファジーに該当) やリソソームとオルガネラが直接融合する**直接融合型オートファジー** (従来のクリノファジーを含む) が、個体発生などにおいて重要な働きを担うことが示唆されている (Sato M & Sato K *Traffic* 2013, Goginashvili et al., *Science* 2015)。さらに、**オートファジーが選択性を有し**、時空間的に制御されたタンパク質 (相分離した顆粒や凝集体の状態を含む)、核酸、オルガネラなどの選択的分解により、遺伝子発現や細胞内代謝、ひいては個体としての健康維持、老化抑制にまで働くことが明らかになってきた (Hansen et al., *NRMCB* 2018)。**多様な経路で実行されるオートファジーやそれらによる選択的基質分解 (マルチモードオートファジーと提唱) は相互に関連し**、細胞の環境適応、恒常性、分化などの幅広い細胞機能を制御すると考えられる (右図)。細胞内分解の全体像を知るためには、これまでのマクロオートファジー重視の研究ではなく、多様なオートファジー経路の研究をバランス良く推進し、統合的に理解することが必須である。そこで、マルチモードオートファジーに関する国際的リーダーを集結させるとともに今後の

### マルチモードオートファジー

多様な経路

+ 多様な選択的分解基質



1. 分子機構及び生理機能を様々なモデル動物を用いて解明
2. 連携、誘導の時系列、分解寄与度、機能進化を解明



領域を担う新進気鋭の若手研究者を含め強力でありつつも将来を見据えた体制を構築し、さらに最先端の多様な技術を取り入れた分野横断的研究を推進することで、領域の格段の発展と飛躍的な展開のみならず自己成分分解の統合的な理解により新たな学術領域の創生を目指す。

### どのような点が「革新的・創造的な学術研究の発展が期待される研究領域」であるか

マクロオートファジーは日本が中心となって発展させてきた分野である。本領域は、マクロオートファジーに関する研究成果と知識・技術の蓄積を土台として、新規に見出されつつある多様な経路や選択性を有するオートファジー全体を視野に独創的・革新的な研究を行うものであり、従来の（マクロ）オートファジー領域の単純な延長ではない。「マルチモードオートファジー」という新しい枠組みで細胞内リソソーム分解全体を統合的に理解することを目的とした。そのために**多様な生物種の活用、さらにはオミクス解析、構造生物学、超微形態学などの多面的な解析手法を総動員する**体制を計画班内に敷いている。以上の新しい枠組みと万全の研究体制により、本領域は当該領域の格段の発展・飛躍的な展開を目指すものであり、さらには既存の学問分野の枠に収まらない新興・融合領域の創成を目指すものにも合致すると判断される。

### 領域設定期間終了後に期待される成果等

#### 1. オートファジーの分子メカニズムの解明

多様なオートファジーを駆動する因子の同定やそれらの作動機構が明らかとなる。

#### 2. オートファジーによる選択的分解の分子機構と生理機能

各オートファジーにおけるタンパク質（相分離した顆粒や凝集体の状態を含む）、核酸、オルガネラなどの選択的認識機構、それらの分解による細胞制御機構が明らかとなる。新規選択的基質の同定も期待される。

#### 3. オートファジーの多様性に基づいたリソソーム分解の意義の全体像理解

各オートファジーの連携、誘導の時系列、分解寄与度、機能進化などの統合的な理解が進む。

オートファジーは複雑で多様な膜動態を含むことから、その分子機構の解明により、これまでにない細胞生物学の共通原理や概念を確立することができると考えられる。さらに、オートファジーによる自己成分分解の完全理解は、ユビキチンやその他の分解系と総合した細胞内分解という枠組みを超え、より大きな領域の創出につながることも期待される。

オートファジーは極めて基本的な生体システムであるため、この領域の成果は多くの分野へ波及効果をもたらすことが期待される。特に、オートファジーシステムとしての新たな生理機能（全身代謝や老化制御における役割など）の発見や、生体内における各オートファジーの活性測定マーカーやプローブの開発、各オートファジーの促進剤あるいは阻害剤の開発によるがんや神経変性疾患といったオートファジー障害関連疾患の予防や治療に結びつくことが期待される。

## 4 審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況

研究領域全体を通じ、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、当該指摘及びその対応状況等について、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

### 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、多様なオートファジー経路を視野に入れ、オートファジー概念を、動植物を含む多様なモデル生物を用いて拡張し、旧来の学問の枠を超えた新しい研究領域を切り拓こうとする意欲的な提案である。特に、各オートファジー経路間の関係性（選択性、寄与率、相乗・相反性等）の分子機構へ迫ることはオートファジーの全体像の解明に向けた重要なステップであり、世界に先んじて成し遂げるためには、本研究領域のような研究グループ形成が必須である。また、オートファジー研究を国際的にリードする中堅や若手研究者主体の体制になっており、計画研究間及びその関連研究者間の研究連携は用意周到かつ強固であり、革新的な成果が期待できる。公募研究の採択枠を十分に確保することでオートファジー研究分野の裾野を広げること、さらには海外の主要な研究チームとの連携も計画されており、学術的・社会的な波及効果が期待される。

一方、研究提案には依然としてマクロオートファジー研究が多く含まれている。公募研究課題としてマクロオートファジー以外の課題を積極的に採択することで、多様なオートファジー経路の研究をバランス良く推進し、統合的に理解することが望まれる。

### 対応策

公募班の公募開始前に、領域ホームページに「本領域の未解決課題」を記載し([http://proteolysis.jp/multimode\\_autophagy/unsolved/](http://proteolysis.jp/multimode_autophagy/unsolved/))、多様なオートファジー経路の研究の必要性をアピールした。さらに、公募班の審査にあたり審査委員には、【領域代表者コメント記載欄「領域代表者の立場から見た公募研究への期待等」】に以下のコメントをし、配慮をお願いした。マルチモードオートファジーは、マクロオートファジー、マイクロオートファジー、膜透過型オートファジー、エンドサイトーシス経路を介した細胞膜分解、オルガネラと液胞・リソソームとの直接融合などを含むが、それらを差別化して評価しない。

ただし、領域の運営基盤を強化する観点から

- モードの間の連携に関する課題
- 新規オートファジー経路、新規選択的基質分解に関わる課題
- 計画班でカバーできていない実験系（計画班に含まれないモデル生物を使用）、方法論（数理物理学など）を含む課題

はできるだけ考慮して審査をお願いしたい。

その結果、マイクロオートファジーや細胞膜（細胞外タンパク質を含む）分解を対象とした公募班員を取り入れることができた。さらに、可溶性タンパク質からオルガネラまで多様な選択的基質、そして酵母、アメーバ、ショウジョウバエ、植物など多彩な生物種を扱う公募班員を採択することができ、多面的な領域運営に貢献できると考えている。実際、すでに計画班-公募班、公募班同士の共同研究が展開されており、それらの幾つかは既に成果が出ている（後述の「研究の進展状況及び主な成果」および「今後の研究領域の推進方策」を参照頂きたい）。

## 5 研究の進展状況及び主な成果

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか、(2) 本研究領域により得られた成果について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。(1)は研究項目ごと、(2)は研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で記載すること。なお、本研究領域内の共同研究等による成果の場合はその旨を明確にすること。

### (1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか

本領域では多彩なモードのオートファジーを総合的に解析するため、各課題に対応する学問分野は多岐にわたる。しかし、それらを個々に分類するよりも横断的に推進する方が効率的であると判断されるため、**領域には研究項目は設置していない**。便宜上、マクロオートファジー、マイクロオートファジー、膜透過型オートファジー、細胞膜分解、選択的オートファジー、そしてオートファジーの統合的理解の6つのテーマに分けて解説する。

#### マクロオートファジー

オートファジー研究の中心に位置付けられており、解析も最も進んでいる。しかし、マクロオートファジーの分子機構でさえ、関連する分子やオルガネラは揃ってきたが、それらがどのように連携し、どのような過程を経てオートファゴソームを形成するのか、その基本フレームすらわかっていない。そこで、「始動ステップ」における、始動複合体の構造と機能の解明、隔離膜前駆体形成機構などの解析を行う。それに続く「膜伸長ステップ」では、隔離膜の伸長機構、脂質膜の供給源の解析を行う。これらの素過程の一部は試験管内での再構成を目指す。

前半期は、始動ステップ、膜伸長ステップともに当初の予想を上回る研究進捗があった。これは計画班の野田(展)によるタンパク質科学、構造生物学的解析を中心に、計画班の中戸川、公募班の鈴木、辻による分子細胞生物学的解析の有機的な連携によって成し遂げられた。

#### マイクロオートファジー

液胞またはリソソーム膜の陥入によっておこるマイクロオートファジーについては、液胞膜のドメイン形成、陥入や閉じ込み機構における ESCRT 分子あるいは ATG 分子の役割などの分子機構を明らかにするとともに、ペルオキシソームあるいは核の分解におけるマクロとマイクロの連携や使い分けの制御機構の解明を目指す。

前半期は、マイクロオートファジーとマクロオートファジーの連携や使い分けに関する多くの知見が得られた。これは、主に計画班の吉本、公募班の中村を中心に植物を利用した領域内共同研究、公募班の野田(健)らの研究から見えてきた。また、公募班の丑丸による出芽酵母におけるマイクロオートファジーの分子機構、和田による哺乳類初期胚におけるマイクロオートファジーの新規生理機能、森田によるマイクロオートファジーを利用した新技術の開発が行われた。

#### 膜透過型オートファジー

リソソーム膜を直接透過する経路について核酸をモデル基質として、透過を担う輸送体の同定と機能・構造的解析、エネルギー基盤、制御機構、生理的意義の解析を行い、その結果をタンパク質などの他の基質へと応用する。

これまでに計画班の株田を中心に、核酸のリソソーム取り込み機構 RNautophagy/DNautophagy (RDA)に関して、新たな知見が得られた。さらに、タンパク質を基質とする新たな膜透過型オートファジー経路を発見した。

#### 細胞膜分解

細胞膜成分のリソソーム分解に関しては、まず線虫、マウスを用いた動物個体の発生過程におけるライブイメージング解析系を構築し、分解基質群の同定およびこれらの選別機構を解明する。最終的には発生の時間軸に沿った細胞膜分解の誘導から膜動態までの分子機構の解明を目指す。

前半期は、計画班の佐藤(健)のグループにより徹底した研究整備が行われた。受精後に生じる初期胚発生に向けた細胞膜分解機構について、まずマウス初期胚を用いた非侵襲的高解像ライブイメージング系の開発を行い、線虫についてはこれまでのライブイメージング系をさらに発展させた。その結果、マウス胚発生において2細胞期に選択的細胞膜分解が起こること、またこの分

解が初期胚発生に必須であることを見出した。さらに、線虫を用いた細胞膜分解関連因子の探索により、複数の新規因子の同定に成功するとともに、初期胚におけるエンドソームの活性化に生殖顆粒が関与する可能性を見いだした。一方、公募班の板倉グループにより細胞外変性タンパク質を細胞膜上で認識し、エンドサイトーシスを介して分解する新規メカニズムが発見された。

### 選択的オートファジー

オートファジーによる多様な基質の選択的分解は、細胞の環境適応、恒常性、分化などの幅広い細胞機能を制御する。本領域では、マクロオートファジーによるタンパク質、相分離した顆粒、ミトコンドリア、核の分解、マイクロオートファジーによる脂肪滴、ペルオキシソーム、核、緑葉ペルオキシソームの分解、膜透過型オートファジーによる核酸およびタンパク質の分解、膜タンパク質を含む細胞膜成分の分解など、各オートファジーのほぼすべての主要なターゲットを対象に、分解基質から始まる各オートファジーの始動機構とその制御機構、受容体の構造生物学的特性、分解の生理的意義を明らかにする。

高次会合体形成や液-液相分離が選択的オートファジーを駆動するファクターであることが、酵母（中戸川、野田（展））、高等動物（小松、野田（展））ともに密な領域内共同研究により明らかになった。また、分裂酵母の新たなマイトファジー受容体の発見（神吉）、高等動物マイトファジー受容体 Optineurin と ATG9 との相互作用（松田）など重要な知見が得られた。さらに、植物におけるミトコンドリア、葉緑体の選択分解機構の理解が飛躍的に進んだ（中村、吉本、石田）。

### オートファジーの統合的理解

計画班による異なる経路、異なるモデル生物を対象とする様々な階層でのオートファジー研究をフィードバックするとともに、高度なオミクス技術を有する計画班研究者によるリポドーム解析、メタボローム解析、プロテオーム解析などのオミクス解析を駆使し、全オートファジーの連携、時系列、分解寄与度、機能進化を明らかにする。

マイクロオートファジーの成果に記載したように、マクロオートファジーとマイクロオートファジーの連携が分子レベルで明らかになってきた。また、計画班の大隅、公募班の魏の研究成果により、オートファジー-リソソーム経路による RNA 代謝の理解に大きな進捗があった。さらに、オートファジーにより産生されるアミノ酸の生理的意義（大隅）、免疫細胞におけるリソソームアミノ酸トランスポーターによる同化と異化制御機構も明らかにした（反町）。

## (2) 本研究領域により得られた成果について

### マクロオートファジー

- 野田（展）-大隅-鈴木（計画班-公募班共同研究）  
オートファゴソーム形成の場である pre-autophagosomal structure (PAS)の実体が、Atg1 複合体が液-液相分離することで形成された液滴であることを見出した (*Nature* 2020)。さらに、高速 AFM を用いて Atg1 および Atg13 の天然変性領域を可視化することにも成功した (*Nat. Nanotechnol.* 2021)。
- 野田（展）-中戸川-大隅-辻（計画班-公募班共同研究）  
Atg9 の立体構造をクライオ電子顕微鏡で決定するとともに、Atg9 が脂質スクランブル活性を有すること、その活性がオートファゴソーム形成に重要であることを明らかにした (*Nat. Struct. Mol. Biol.* 2020, *J. Cell Biol.* 2021)。
- 野田（展）-中戸川-神吉-小松-大隅（計画班共同研究）  
膜上の Atg8-PE のコンフォメーションを NMR を用いて決定するとともに、Atg8-PE が膜摂動活性を有すること、その活性が効率的なオートファジーに重要であることを見出した (*Nat. Struct. Mol. Biol.* 2021)。
- 野田（健）-佐藤（健）-佐藤（美）-濱崎-和栗（公募班-計画班共同研究）  
小胞体に局在する膜タンパク質 ERdj8 がオートファゴソームの大きさを制御する機構を担うことを見出した (*J. Cell Biol.* 2020)
- 藤田（尚）（公募班）  
筋細胞のリモデリングに伴い、マクロオートファジーに依存して形成される管状のオートリソソームネットワークを見出し、その機能を解析した (*J. Cell Sci.* 2020)。
- 荒川（公募班）

Atg5 や Atg7 を用いない新規オートファジー (Alternative autophagy) に関する研究を進め、その実行分子として Wipi3 を同定した。Wipi3 はゴルジ体膜を湾曲させ隔離膜とする段階に必須であること、Wipi3 が小脳のプルキンエ細胞における鉄の蓄積を防いでいることを見出した (*Nat. Commun.* 2020)。

### ミクロオートファジー

- 吉本 (計画班)  
植物の NH<sub>4</sub> ストレス条件下ではマクロオートファジーのフラックスが阻害され、一方でミクロオートファジーが誘導されることを見出した (*Plant J.* 2021)。
- 中村一石田 (公募班共同研究)  
損傷葉緑体を丸ごと除去するミクロオートファジー (ミクロクロロファジー) が、既知の葉緑体ユビキチン化機構とは独立に働くことを明らかにした (*Plant Physiol.* 2020)。
- 野田 (健) (公募班)  
酵母液胞膜タンパク質 Tag1 がミクロオートファジーにより取り込まれ分解されることでマクロオートファジーの終結を制御することを見出した (*J. Cell Sci.* 2021)。
- 丑丸 (公募班)  
出芽酵母において ESCRT がミクロオートファジーに関与することを、適切な指標を用いることにより明らかにした。出芽酵母の栄養源飢餓後のミクロオートファジーによる核分解 (ミクロヌクレオファジー) の制御機構の一端を明らかにした (*BMC Mol. Cell Biol.* 2020, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2021A, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2021B)。
- 和田 (公募班)  
哺乳類初期胚では、エンドソームのミクロオートファジーが細胞外のシグナル分子の動的バランスを制御して組織構築の一翼を担うことを明らかにした (*Cell Rep.* 2020)。
- 森田 (公募班)  
ミクロオートファジーによる多胞体内腔小胞形成過程を利用して、細胞質のタンパク質微粒子を人為的に被膜・出芽・放出させる技術を開発した (*Vaccine* 2021)。

### 膜透過型オートファジー

- 株田 (計画班)  
RNautophagy/DNautophagy (RDA)における核酸トランスポーターSIDT2 の細胞質側ドメインが核酸と結合すること、この結合がリソソーム内への核酸の輸送に重要であることを見出した。また、SIDT2 の細胞質ドメインは、CAG リピート依存的にハンチントン病の原因遺伝子である HTT (huntingtin)の mRNA と結合し、HTT 凝集体量を減少させることを見出した (*Autophagy* 2020)。
- 株田 (計画班)  
RNautophagy において核酸のリソソーム取り込みに機能する RNA helicase を見出した (未発表)。
- 株田一野田 (展) (計画班共同研究)  
ATP 依存的にタンパク質が直接リソソーム内に輸送され分解されるという新たな膜透過型オートファジーを発見した。SIDT2 がタンパク質のリソソーム内への輸送にも機能することを見出した (*bioRxiv* に掲載中)。

### 細胞膜分解

- 佐藤 (健) (計画班)  
2細胞期において分解から免れる卵細胞膜タンパク質として CD9 を同定した。また、その結晶構造解析に貢献した (*Nat. Commun.* 2020)。
- 佐藤 (健) - 佐藤 (美) (計画班共同研究)  
線虫の初期発生における細胞膜分解系およびアロファジー等の経時的観察に成功した (未発表)。線虫の受精卵の1細胞期において起こる細胞膜タンパク質の選択的分解に働くユビキチンリガーゼを同定した (未発表)。線虫の細胞膜タンパク質分解に関わる因子を探索した結果、線虫の生殖顆粒である P 顆粒 (液滴) に局在する新規因子を同定し、この因子が受精後の後期エンドソームの活性化に関与することを見出した (未発表)。マウス受精卵の初期発生過程におけるリソソーム/エンドソームの非侵襲的ライブイメージング系の開発に成功した (未発表)。マウス受精卵においては2細胞期に卵細胞膜タンパク質の選択的分解が惹起され、クラスリン依存的エンドサイトーシスを介してリソソームで分解されることが明らかとなった (*Development*

2021)。

- 板倉 (公募班)

哺乳類における細胞外タンパク質分解システムを発見した (*J. Cell Biol.* 2020)。血中疎水指向性結合タンパク質の網羅的同定から、新規細胞外シャペロン候補を複数種見出し、そのうち3種類が細胞外変性タンパク質分解活性を示すことを発見した (未発表)。

### 選択的オートファジー

- 小松-野田 (展) - 和栗 (計画班共同研究)

選択的オートファジー受容体 p62 液滴がオートファゴソーム形成および抗酸化ストレス応答のプラットフォームとして機能することを発見し、オートファジーアダプタータンパク質 NBR1 が p62 液滴形成を促進することを見出した (*EMBO Rep.* 2020, *Nat. Commun.* 2021)。

- 野田 (展) - 大隅-鈴木 (計画班-公募班共同研究)

酵母 Cvt 経路は実は液滴選択的オートファジーであり、液滴の液体度が選択的オートファジーの効率に重要であることを見出した (*Mol. Cell* 2020)。

- 中戸川-野田 (展) (計画班共同研究)

ER ファジー受容体群と Atg8 との相互作用基盤を結晶解析で明らかにするとともに、Atg40 は Atg8 とともに高次会合体を形成することで ER の折り畳みに働くことを見出した (*Nat. Commun.* 2020)。

- 中戸川 (計画班)

出芽酵母において、栄養飢餓などにより TORC1 キナーゼ複合体の活性が低下すると、核膜孔複合体 (NPC) が選択的オートファジーによって分解されることを見出した (*J. Cell Biol.* 2020)。出芽酵母のペキソファジーにおいて、Atg36 のアダプター活性をペルオキシソーム上に限局するメカニズムを明らかにした (*J. Biol. Chem.* 2020)。

- 神吉 (計画班)

出芽酵母マイトファジー受容体 Atg32 と Far 複合体の結合状態がマイトファジー誘導制御に重要であることを解明した (*eLife* 2020)。さらに、分裂酵母における新たなマイトファジー受容体 Atg43 を同定、解析した (*eLife* 2020)。

- 松田 (計画班)

アダプタータンパク質 Optineurin とオートファジー関連因子 ATG9 の特異的な相互作用が、Parkin 依存的なマイトファジーの進行に重要であることを見出した (*J. Cell Biol.* 2020)。

- 阪井 (計画班)

メタノール資化性酵母 *Komagataella phaffii* のペキソファジーにおいて、メタノールセンサータンパク質 Wsc1 および下流の MAP kinase カスケードが負の制御によりオートファジーにおける基質選択性の発現に寄与していることを発見し生化学的に検証した (*J. Cell Sci.* 2021)。

- 中村-吉本 (公募班-計画班共同研究)

リン酸欠乏時に窒素栄養を過剰に施与した際に、葉緑体の部分分解オートファジーが活性化し、リン酸欠乏症状を和らげることを見出した (*Plant Physiol.* 2021)。

- 中村-石田 (公募班共同研究)

紫外線障害を受けた植物の葉の細胞において、機能不全ミトコンドリアを除去する選択的マイトファジー経路を見出した (*Plant Cell Physiol.* 2021)。

- 鈴木 (公募班)

選択的オートファジーに由来する小胞の分解に必要な Atg15 タンパク質の解析を進め、Atg15 が分解対象とする膜構造体の曲率を認識している可能性を示した (*Mol. Biol. Cell.* 2021)。

### オートファジーの統合的理解

- 小松-野田 (展) - 和栗 (計画班共同研究)

選択的マクロオートファジーのみを阻害できる遺伝子改変マウスを作出し、マクロオートファジーにおける選択的マクロオートファジーの分解寄与率を明らかにした (*Nat. Commun.* 2021)。

- 大隅 (計画班)

出芽酵母オートファジーによる mRNA 分解には優先性があり、mRNA 量の調節に寄与することを明らかにした。オートファジーは一部の mRNA を優先的に分解することで効率良く遺伝子の発現を調節していることが想定される (*Nat. Commun.* 2021)。また、ミトコンドリアの呼吸活性が必要になる条件下ではオートファジーによるセリン供給とそれに続く one-carbon metabolism が細胞の増殖を支えることを見出した (*Nat. Commun.* 2020)。

- 魏 (公募班)

リソソームでの RNA 分解によって産生される *N*<sup>6</sup>-methyladenosine がアデノシン A3 受容体の強力なリガンドとして作用し、肥満細胞を活性することで I 型アレルギー応答に関わることを見出した (*Mol. Cell* 2021)

- 反町 (公募班)

免疫細胞に優先して発現するアミノ酸トランスポーター SLC15A4 が、マクロファージにおけるアミノ酸飢餓下でオートファジーの維持に必須であることを見いだした (*Int. Immunol.* 2021)。SLC15A4 によるアミノ酸飢餓下でのオートファジー維持のメカニズムとして、SLC15A4 が解糖系と TCA 回路のカップリングを媒介していること、さらに mTORC1 と AMPK の活性を制御することにより、同化と異化のバランスを制御することを見いだした (*PNAS* 2021)。

## まとめ

マクロオートファジーの分子機構と膜動態の解析では Atg1 複合体が液滴であること、Atg9 が脂質スクランブル活性を有すること、膜上 Atg8-PE の膜摂動活性など極めて重要な発見が得られた。また、オートファジーの選択性においても、新規受容体や基質の同定、基質や受容体の液-液相分離や高次複合体形成の必要性など重要な発見が相次いだ。これらの大部分は領域内共同研究で達成されており、計画班に構造生物学グループを含めた点はその原動力となった。さらに、マクロオートファジーとマイクロオートファジーの連携に関して、現象にとどまらない分子メカニズムに基づいた知見が得られ、オートファジーの統合的理解が進んだと言える。膜透過型オートファジー、細胞膜分解に関しても、分子実体や制御因子の同定が進んでいること、計画班の構造生物学グループとの多面的な共同研究も展開されていることから後半の解析に期待が持てる。動物モデル等の整備も進んでおり、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、線虫、昆虫、原虫、酵母などの幅広い範囲で研究を進めることができている。

総括班では、通常の領域会議や若手の会の開催、ウェブ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、マルチモードオートファジーの未解決・未解明点の公開を行い、オートファジー研究を拡大するためのセンターとしての役割を十分に果たしている。

これまでの研究の進捗状況は世界的に見て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、上述したように公募班との有機的連携も大きな力になっている。

## 6 研究発表の状況

研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で、本研究領域により得られた研究成果の発表の状況（主な雑誌論文、学会発表、書籍、産業財産権、ホームページ、主催シンポジウム、一般向けのアウトリーチ活動等の状況。令和3年6月末までに掲載等が確定しているものに限る。）について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。なお、雑誌論文の記述に当たっては、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究代表者（発表当時、以下同様。）には二重下線、研究分担者には一重下線、corresponding author には左に\*印を付すこと。

### 主要論文

計画班代表 小松雅明（研究分担者 和栗聡、杉浦悠毅、李賢哲）

1. Maruyama, T., Alam, J. M., Fukuda, T., Kageyama, S., Kirisako, H., Ishii, Y., Shimada, I., Ohsumi, Y., Komatsu, M., Kanki, T., Nakatogawa, H. and \*Noda, N. N. Membrane perturbation by lipidated Atg8 underlies autophagosome biogenesis. *Nat. Struct. Mol. Biol.* in press.
2. Kageyama S, Gudmundsson SR, Sou YS, Ichimura Y, Tamura N, Kazuno S, Ueno T, Miura Y, Noshiro D, Abe M, Mizushima T, Miura N, Okuda S, Motohashi H, Lee JA, Sakimura K, Ohe T, Noda NN, Waguri S. \*Eskelinen EL, \*Komatsu M. p62/SQSTM1-droplet serves as a platform for autophagosome formation and anti-oxidative stress response. *Nat Commun.* 12:16 (2021).
3. \*Nakamura S, Shigeyama S, Minami S, Shima T, Akayama S, Matsuda T, Esposito A, Napolitano G, Kuma A, Namba-Hamano T, Nakamura J, Yamamoto K, Sasai M, Tokumura A, Miyamoto M, Oe Y, Fujita T, Terawaki S, Takahashi A, Hamasaki M, Yamamoto M, Okada Y, Komatsu M., Nagai T, Takabatake Y, Xu H, Isaka Y, Ballabio A, \*Yoshimori T. LC3 lipidation is essential for TFEB activation during the lysosomal damage response to kidney injury. *Nat Cell Biol.* 22:1252-1263 (2020).
4. Sánchez-Martín P, Sou YS, Kageyama S, Koike M, Waguri S. \*Komatsu M. NBR1-mediated p62-liquid droplets enhance the Keap1-Nrf2 system. *EMBO Rep.* 21:e48902 (2020).
5. Takahashi SS, Sou YS, Saito T, Kuma A, Yabe T, Sugiura Y. Lee HC. Suematsu M, Yokomizo T, Koike M, Terai S, Mizushima N, Waguri S. \*Komatsu M. Loss of autophagy impairs physiological steatosis by accumulation of NCoR1. *Life Sci Alliance.* 3:e201900513 (2019).
6. Tamura N, Kageyama S, Komatsu M. \*Waguri S. Hyperosmotic Stress Induces Unconventional Autophagy Independent of the Ulk1 Complex. *Mol Cell Biol.* 39:e00024-19 (2019).
7. Minhas PS, Latif-Hernandez A, McReynolds MR, Durairaj AS, Wang Q, Rubin A, Joshi AU, He JQ, Gauba E, Liu L, Wang C, Linde M, Sugiura Y. Moon PK, Majeti R, Suematsu M, Mochly-Rosen D, Weissman IL, Longo FM, Rabinowitz JD, \*Andreasson KI. Metabolic reprogramming of myeloid cells reverses cognitive decline in aging. *Nature* in press

計画班代表 野田展生（研究分担者 福田善之）

1. Maruyama, T., Alam, J. M., Fukuda, T., Kageyama, S., Kirisako, H., Ishii, Y., Shimada, I., Ohsumi, Y., Komatsu, M., Kanki, T., Nakatogawa, H. and \*Noda, N. N. Membrane perturbation by lipidated Atg8 underlies autophagosome biogenesis. *Nat. Struct. Mol. Biol.* in press.
2. Kodera, N., Noshiro, D., Dora, S. K., Mori, T., Habchi, J., Blocquel, D., Gruet, A., Dosnon, M., Salladini, E., Bignon, C., Fujioka, Y., Oda, T., Noda, N. N., Sato, M., Lotti, M., Mizuguchi, M., \*Longhi, S. and \*Ando, T. Structural and dynamics analysis of intrinsically disordered proteins by high speed atomic force microscopy. *Nat. Nanotechnol.* 16, 181-189 (2021).
3. Fujioka, Y. and \*Noda, N. N. Biomolecular condensates in autophagy regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 69, 23-29 (2021).
4. Matoba, K., Kotani, T., Tsutsumi, A., Tsuji, T., Mori, T., Noshiro, D., Sugita, Y., Nomura, N., Iwata, S., Ohsumi, Y., Fujimoto, T., Nakatogawa, H., Kikkawa, M. and \*Noda, N. N. Atg9 is a lipid scramblase that mediates autophagosomal membrane expansion. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 27, 1185-1193 (2020).
5. Mochida, K., Yamasaki, A., Matoba, K., Kirisako, H., \*Noda, N. N. and \*Nakatogawa, H. Super-assembly of ER-phagy receptor Atg40 induces local ER remodeling at contacts with forming autophagosomal membranes. *Nat. Commun.* 11, 3306 (2020).
6. Yamasaki, A., Alam, J. M., Noshiro, D., Hirata, E., Fujioka, Y., Suzuki, K., Ohsumi, Y. and \*Noda, N. N. Liquidity is a critical determinant for selective autophagy of protein condensates. *Mol. Cell* 77, 1163-1175 (2020).
7. Fujioka, Y., Alam, J. M., Noshiro, D., Mouri, K., Ando, T., Okada, Y., May, A. I., Knorr, R. L., Suzuki, K., Ohsumi, Y. and \*Noda, N. N. Phase separation organizes the site of autophagosome formation. *Nature* 578, 301-305 (2020).

計画班代表 中戸川 仁（研究分担者 大隅良典）

1. Makino S, Kawamata T, Iwasaki S, \*Ohsumi Y. Selectivity of mRNA degradation by autophagy in yeast. *Nat Commun.* 12: 2316 (2021).
2. Matoba K, Kotani T, Tsutsumi A, Tsuji T, Mori T, Noshiro D, Sugita Y, Nomura N, Iwata S, Ohsumi Y. Fujimoto T, Nakatogawa H. Kikkawa M, \*Noda NN. Atg9 is a lipid scramblase that mediates autophagosomal membrane expansion. *Nat Struct Mol Biol.* 27:1185-1193 (2020).
3. Meguro S, Zhuang X, Kirisako H, \*Nakatogawa H. Pex3 confines pexophagy receptor activity of Atg36 to



- peroxisomes by regulating Hrr25-mediated phosphorylation and proteasomal degradation. *J Biol Chem.* 295:16292-16298 (2020).
- Mochida K, Yamasaki A (these authors contributed equally to this work), Matoba K, Kirisako H, \*Noda. NN, \*Nakatogawa H. Super-assembly of ER-phagy receptor Atg40 induces local ER remodeling at contacts with forming autophagosomal membranes. *Nat Commun.* 11:3306 (2020).
  - Tomioka Y, Kotani T, Kirisako H, Oikawa Y, Kimura Y, Hirano H, Ohsumi Y., \*Nakatogawa H. TORC1 inactivation stimulates autophagy of nucleoporin and nuclear pore complexes. *J Cell Biol.* 219: e201910063 (2020).
  - \*Nakatogawa H. Mechanisms governing autophagosome biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 21:439-458 (2020).
  - May AI, Prescott M, \*Ohsumi Y. Autophagy facilitates adaptation of budding yeast to respiratory growth by recycling serine for one-carbon metabolism. *Nat Commun.* 11:5052 (2020).
- 計画班代表 阪井康能 (研究分担者 奥 公秀)
- Oku Y, Kariya M, Fujimura T, Hoseki J, \*Sakai Y. Homeostasis of the ER redox state subsequent to proteasome inhibition. *Sci Rep.* 11:8655 (2021).
  - Ohsawa S, Inoue K, Isoda T, Oku M., Yurimoto H, \*Sakai Y. Methanol sensor Wsc1 and MAP kinase suppress degradation of methanol-induced peroxisomes in methylotrophic yeast. *J. Cell Sci.* 134:jcs.254714 (2021).
  - Abe Y, Honsho M, Kawaguchi R, Matsuzaki T, Ichiki Y, Fujitani M, Fujiwara K, Hirokane M, Oku M., Sakai Y., Yamashita T, \*Fujiki Y. A peroxisome deficiency-induced reductive cytosol state up-regulates the brain-derived neurotrophic factor pathway. *J. Biol. Chem.* 295:5321-5334 (2020).
  - Oku M., \*Sakai Y. Peroxisome Degradation and its molecular machinery. *Peroxisomes: biogenesis, function, and role in human disease part I.* Chapter 3 (2019).
- 計画班代表 株田智弘
- Hase K, Contu VR, Kabuta C, Sakai R, Takahashi M, Kataoka N, Hakuno F, Takahashi SI, Fujiwara Y, Wada K, \*Kabuta T. Cytosolic domain of SIDT2 carries an arginine-rich motif that binds to RNA/DNA and is important for the direct transport of nucleic acids into lysosomes. *Autophagy* 16(11):1974-1988 (2020)
  - Nishikawa R, \*Osaki M, Sasaki R, Ishikawa M, Yumioka T, Yamaguchi N, Iwamoto H, Honda M, Kabuta T., Takenaka A, Okada F. Splice variants of lysosome-associated membrane proteins 2A and 2B are involved in sunitinib resistance in human renal cell carcinoma cells. *Oncol Rep.* 44(5):1810-1820 (2020).
- 計画班代表 佐藤健 (研究分担者 佐藤裕公)
- Morita A, Satouh Y., Kosako H, Kobayashi H, Iwase A, \*Sato K. Clathrin-mediated endocytosis is essential for the selective degradation of maternal membrane proteins and preimplantation development. *Development* in press.
  - Kunii M, Noguchi Y, Yoshimura SI, Kanda S, Iwano T, Avriyanti E, Atik N, Sato T, Sato K., Ogawa M, \*Harada A. SNAP23 deficiency causes severe brain dysplasia through the loss of radial glial cell polarity. *J Cell Biol.* 220(1):e201910080 (2021).
  - Yamamoto YH, Kasai A, Omori H, Takino T, Sugihara M, Umemoto T, Hamasaki M, Hatta T, Natsume T, Morimoto RI, Arai R, Waguri S, Sato M, Sato K., Bar-Nun S, Yoshimori T, \*Noda T, \*Nagata K.. ERdj8 governs the size of autophagosomes during the formation process. *J Cell Biol.* 219(8):e201903127 (2020).
  - Umeda R, Satouh Y., Takemoto M, Nakada-Nakura Y, Liu K, Yokoyama T, Shirouzu M, Iwata S, Nomura N, Sato K., Ikawa M, Nishizawa T, \*Nureki O. Structural insights into tetraspanin CD9 function. *Nat Commun.* 11(1):1606 (2020).
  - Aizawa R, Ibayashi M, Tatsumi T, Yamamoto A, Kokubo T, Miyasaka N, Sato K., Ikeda S, Minami N, \*Tsukamoto S. Synthesis and maintenance of lipid droplets are essential for mouse preimplantation embryonic development. *Development.* 146(22) (2019).
- 計画班代表 神吉智丈 (研究分担者 松田憲之、佐藤美由紀)
- Yamashita S, Kyuuma M, \*Inoue K, Hata Y, Kawada R, Yamabi M, Fujii Y, Sakagami S, Fukuda T, Furukawa K, Tsukamoto S, \*Kanki T. Mitophagy reporter mouse analysis reveals increased mitophagy activity in disuse-induced muscle atrophy. *J Cell Physiol.* DOI: 10.1002/jcp.30404 (2021).
  - Innokentev A, \*Furukawa K, Fukuda T, Saigusa T, Inoue K, Yamashita SI, \*Kanki T. Association and dissociation between the mitochondrial Far complex and Atg32 regulate mitophagy. *eLife* 9:e63694 (2020).
  - \*Fukuda T, Ebi Y, Saigusa T, Furukawa K, Yamashita SI, Inoue K, Kobayashi D, Yoshida Y, \*Kanki T. Atg43 tethers isolation membranes to mitochondria to promote starvation-induced mitophagy in fission yeast. *eLife.* 9:e61245 (2020).
  - Kojima, W., \*Yamano, K., Kosako, H., Imai, K., Kikuchi, R., Tanaka, K., and Matsuda, N. Mammalian BCAS3 and C16orf70 associate with the autophagosome formation site in response to selective and non-selective autophagy. *Autophagy*, in press (2021).
  - Onishi M, Yamano K, \*Sato M., \*Matsuda N., \*Okamoto K. Molecular mechanisms and physiological functions of mitophagy. *EMBO J.* 40(3): e104705 (2021)
  - \*Yamano, K., Kikuchi, R., Kojima, W., Hayashida, R., Koyano, F., Kawawaki, J., Shoda, T., Demizu, Y., Naito, M., Tanaka, K., and \*Matsuda, N. Critical Role of Mitochondrial Ubiquitination and the OPTN-ATG9A Axis in Mitophagy. *J. Cell Biol.*, 219(9): e201912144 (2020)
  - Koyano, F., Yamano, K., Kosako, H., Kimura, M., Fujiki, Y., Tanaka, K., and \*Matsuda, N. Parkin-

mediated ubiquitylation redistributes MITOL/March5 from mitochondria to peroxisomes. *EMBO Rep.*, 20(12): e47728 (2019)

計画班代表 吉本光希 (研究分担者 海老根一生)

1. Shinozaki D, Tanoi K, \*Yoshimoto K. Optimal distribution of iron to sink organs via autophagy is important for tolerance to excess zinc in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol.* in press (<https://doi.org/10.1093/pcp/pcab017>) (2021).
2. Yoshitake Y, Nakamura S, Shinozaki D, Izumi M, Yoshimoto K, Ohta H, \*Shimojima M. RCB-mediated chlorophagy caused by oversupply of nitrogen suppresses phosphate-starvation stress in plants. *Plant Physiol.* 185:318-330 (2021).
3. \*Robert G, Yagy M, Koizumi T, Naya L, Masclaux-Daubresse C, \*Yoshimoto K. Ammonium stress increases microautophagic activity while impairing macroautophagic flux in Arabidopsis roots. *Plant J.* 105:1083-1097 (2021).
4. Shinozaki D, Notaguchi M, \*Yoshimoto K. Importance of non-systemic leaf autophagy for suppression of zinc starvation induced-chlorosis. *Plant Signal. & Behav.* 15:e1746042 (2020).
5. Shinozaki D, Merkulova A. E, Naya L, Horie T, Kanno Y, Seo M, Ohsumi Y, Masclaux-Daubresse C, \*Yoshimoto K. Autophagy increases zinc bioavailability to avoid light-mediated reactive oxygen species production under zinc deficiency. *Plant Physiol.* 182:1284-296 (2020).
6. Chen Q, Shinozaki D, Luo J, Pottier M, Havé M, Marmagne A, Reisdorf-Cren M, Chardon F, Thomine S, Yoshimoto K, \*Masclaux-Daubresse C. Autophagy and nutrients management in plants. *Cells* 8:e1426 (2019).
7. Fujimoto M., Ebine K, Nishimura K, Tsutsumi N, \*Ueda T. Longin R-SNARE is retrieved from the plasma membrane by ANTH domain-containing proteins in Arabidopsis. *PNAS.* 117:25150-25158 (2020).

公募代表 荒川聡子

1. Yamaguchi H, Honda S, Torii S, Shimizu K, Katoh K, Miyake K, Miyake N, Fujikake N, Sakurai H.T., \*Arakawa S, \*Shimizu S. Wipi3 is essential for alternative autophagy and its loss causes neurodegeneration. *Nat. Commun.* 11:5311 (2020)

公募代表 石田宏幸

1. Nakamura S, Hagihara S, Otomo K, Ishida H, Hidema J, Nemoto T, \*Izumi M. Autophagy contributes to quality control of leaf mitochondria. *Plant Cell Physiol.* DOI: 10.1093/pcp/pcaa162 (2021)
2. Kikuchi Y, Nakamura S, Woodson JD, Ishida H, Ling Q, Hidema J, Jarvis RP, Hagihara S, \*Izumi M. Chloroplast Autophagy and Ubiquitination Combine to Manage Oxidative Damage and Starvation Responses. *Plant Physiol.* 183: 1531-1544 (2020).

公募代表 魏范研

1. Ogawa, A., Nagiri, C., Shihoya, W., Inoue, A., Kawakami, K., Hiratsuka, S., Aoki, J., Ito, Y., Suzuki, T., Suzuki, T., Inoue, T., Nureki, O., Tanihara, H., Tomizawa, K., \*Wei, F.Y., *N*<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A) is an endogenous A3 adenosine receptor ligand. *Mol Cell.* 81., 659-674, (2021)
2. Nagayoshi, Y., Chujo, T., Hirata, S., Nakatsuka, H., Chen, C.-W., Takakura, M., Miyauchi, K., Ikeuchi, Y., Carlyle, B. C., Kitchen, R. R., Suzuki, T., Katsuoka, F., Yamamoto, M., Goto, Y., Tanaka, M., Natsume, K., Nairn, A. C., Suzuki, T., \*Tomizawa, K., \*Wei, F.Y. Loss of Ftsj1 perturbs codon-specific translation efficiency in the brain and is associated with X-linked intellectual disability. *Sci. Adv.* 7, eabf3072, (2021)

公募代表 丑丸敬史

1. Tasnin, M. N., Takuma, T., Sharmin, T., Morshed, S., \*Ushimaru, T. The vacuole controls nucleolar dynamics and micronucleophagy via the NVJ. *Biochem Biophys Res Commun.* 550, 158-165(2021).
2. Morshed, S., Tasnin, M. N., \*Ushimaru, T. ESCRT machinery plays a role in microautophagy in yeast. *BMC Mol. Cell Biol.* 21, 70 (2020)
3. Sharmin, T., Takuma, T., Morshed, S., \*Ushimaru, T. Sorting nexin Mdm1/SNX14 regulates nucleolar dynamics at the NVJ after TORC1 inactivation. *Biochem Biophys Res Commun.* 552, 1-8 (2021).

公募代表 鈴木邦律

1. Hirata E, Shirai K, Kawaoka T, Sato K, Kodama F, \*Suzuki K. Atg15 in *Saccharomyces cerevisiae* consists of two functionally distinct domains. *Mol. Biol. Cell.* 32:645-663 (2021).

公募代表 反町典子

1. Kobayashi T‡, Nguyen Tien D‡, Sorimachi Y‡, Sugiura Y‡, Suzuki T, Karyu H, Shimabukuro-Demoto S, Ohshima D, Okamura T, Taguchi T, Ueki K, Kato N, Goda N, Dohmae N, Takubo K, Suematsu M, \*Toyama-Sorimachi N. (‡These authors contributed equally to this work) SLC15A4 mediates M1-prone metabolic shift in macrophages and guards immune cells from metabolic stress. *PNAS.* in press
2. Kobayashi T‡, Nguyen-Tien D‡, Ohshima D, Karyu H, Demoto-Shimabukuro S, Sugitani-Yoshida R, \*Toyama-Sorimachi N (‡These authors contributed equally to this work) Human SLC15A4 is crucial for TLR-mediated type I Interferon production and mitochondrial integrity. *Int. Immunol.* 33: 399-406 (2021).

公募代表 辻琢磨

1. Orii M#, Tsuji T#(equal contribution), Ogasawara Y, \*Fujimoto T. Transmembrane phospholipid translocation mediated by Atg9 is involved in autophagosome formation. *J Cell Biol.* 220:e202009194 (2021).
2. Matoba K, Kotani T#, Tsutsumi A#, Tsuji T#(equal contribution), Mori T, Noshiro D, Sugita Y, Nomura N, Iwata S, Ohsumi Y, Fujimoto T, Nakatogawa H, Kikkawa M, \*Noda N.N. Atg9 is a lipid scramblase that mediates

autophagosomal membrane expansion. *Nat Struct Mol Biol.* 27:1185-1193 (2020).

公募代表 中村 咲耶

1. Nakamura S, Hagihara S, Otomo K, Ishida H, Hidema J, Nemoto T, \*Izumi M, Autophagy contributes to the quality control of leaf mitochondria. *Plant Cell Physiol.*, published online (DOI: 10.1093/pcp/pcaa162) (2021)
2. Yoshitake Y, Nakamura S, Shinozaki D, Izumi M, Yoshimoto K, Ohta H, \*Shimojima M, RCB-mediated chlorophagy caused by oversupply of nitrogen suppresses phosphate-starvation stress in plants. *Plant Physiol.*, 185: 2, 318-330 (2021)
3. Kikuchi Y, Nakamura S, Woodson JD, Ishida H, Ling Q, Hidema J, Jarvis RP, Hagihara S, \*Izumi M\* Chloroplast autophagy and ubiquitination combine to manage oxidative damage and starvation responses. *Plant Physiol.*, 183, 1531-1544 (2020)

公募代表 野田健司

1. Kira, S., M. Noguchi, Y. Araki, Y. Oikawa, T. Yoshimori, A. Miyahara, and \*T. Noda. Vacuolar protein Tag1 and Atg1-Atg13 regulate autophagy termination during persistent starvation in *S. cerevisiae*. *J Cell Sci.* 134:jcs253682. (2021)
2. Yamamoto, Y.-H., A. Kasai, H. Omori, T. Takino, M. Sugihara, T. Umemoto, M. Hamasaki, T. Hatta, T. Natsume, R.I. Morimoto, R. Arai, S. Waguri, M. Sato, K. Sato, S. Bar-Nun, T. Yoshimori, \*T. Noda, and \*K. Nagata. ERdj8 governs the size of autophagosomes during the formation process. *J Cell Biol.* 219:e201903127.(2020)

公募代表 藤田尚信

1. Murakawa, T., Kiger, A.A., Sakamaki, Y., Fukuda, M., \*Fujita, N. An Autophagy-Dependent Tubular Lysosomal Network Synchronizes Degradative Activity Required for Muscle Remodeling. *J Cell Sci* 133: jcs248336 (2020).

公募代表 森田英嗣

1. Kimura S, Maeda K, Nagashima R, Miura K, Ebina H, Tanaka N, \*Morita E. Efficient immunogenic peptide antigen delivery to dendritic cells using an ESCRT-mediated extracellular vesicle formation method. *Vaccine* 39 DOI: 10.1016/j.vaccine.2021.04.021 (2021).

公募代表 和田洋

1. Kawamura N, Takaoka K, Hamada H, Hadjantonakis AK, Sun-Wada GH, \*Wada Y. Rab7-Mediated Endocytosis Establishes Patterning of Wnt Activity through Inactivation of Dkk Antagonism. *Cell Rep.* 31:107733 (2020).

## ホームページ

領域ホームページ : [https://proteolysis.jp/multimode\\_autophagy/](https://proteolysis.jp/multimode_autophagy/)

オートファジーフォーラム : [https://proteolysis.jp/a\\_forum/](https://proteolysis.jp/a_forum/)

## 主催シンポジウム

1. Patricia Boya, Felix Randow and Masaaki Komatsu, Keystone Symposium Autophagy: from molecular bases to human disease, Oct. 4-8 2020 Virtual
2. 中戸川 仁, 神吉智丈 第 93 回日本生化学会大会 シンポジウム マクロを超えて ~攻めるオートファジー~ 2020年9月14日 オンライン
3. 小松雅明, 野田展生 第 72 回日本細胞生物学会 シンポジウム マルチモードオートファジー、2020年6月9~11日 オンライン
4. 小松雅明, 水島昇 第 92 回日本生化学会 シンポジウム オートファジーの選択性と多様性、2019年9月18日 横浜
5. 野田展生, 佐伯泰 第 92 回日本生化学会大会 シンポジウム液-液相分離によるタンパク質分解制御、2019年9月20日 横浜

## 新聞報道

1. 薬事日報 (2021年2月3日朝刊) 「液滴 p62 顆粒の機能解明-抗酸化ストレス応答制御 順天堂大学研究グループ」
2. 毎日新聞 (2020年9月10日) 「オートファジー 見え始めた全体像」
3. 日刊工業新聞 (2020年10月27日朝刊) 「オートファジーの一端解明 機能未知たんぱく質脂質膜の伸展に関与」
4. 日経バイオテク (2020年2月18日) 「微化研、「液-液相分離」とオートファジーの論文相次ぎ発表」
5. 日経バイオテク (2020年2月6日) 「「液-液相分離」が担う蛋白質の品質管理、日本勢が論文2報を Nature で発表」
6. 化学工業日報 (2020年2月7日) 「微化研-東大など、オートファジー構造体の実体解明」
7. 時事通信 (2020年2月6日) 「「ごみ袋」は液滴から形成 酵母のオートファジー-微化研」
8. 時事通信 (2020年1月29日) 「液体状たんぱくが分解しやすい=オートファジーで発見-微化研」
9. 日経サイエンス (2019年11月号) 「膨大な分析と柔軟な発想 オートファジーに迫る」
10. 科学新聞 (2021年1月1日) ミトコンドリアの恒常性維持「マイトファジー」制御機構解明
11. 化学工業日報 (2021年2月3日朝刊) 「植物のリン酸欠乏ストレス 窒素過剰施肥で緩和 東京工業大学、理化学研究所、明治大学の共同グループ」

12. 日刊工業新聞 (2020年10月21日朝刊)「東京医科歯科大、たんぱく質の分解機構解明 分子がオートファジー制御」
13. 日本経済新聞 (2021年1月20日)「東北大・熊本大・東大、シグナル情報伝達を担うRNA由来の液性因子を発見」
14. 科学新聞 (2021年1月29日)「オートファゴソームの膜伸張する仕組み解明」
15. 日刊工業新聞 (2020年6月4日朝刊)「「オートファジー」標的包む膜構造 たんぱく質、大きさ制御」
16. 日刊工業新聞 (2020年10月20日朝刊)「ショウジョウバエの筋細胞 リソソームが形成 東工大仕組み解明」

### 一般向けのアウトリーチ活動

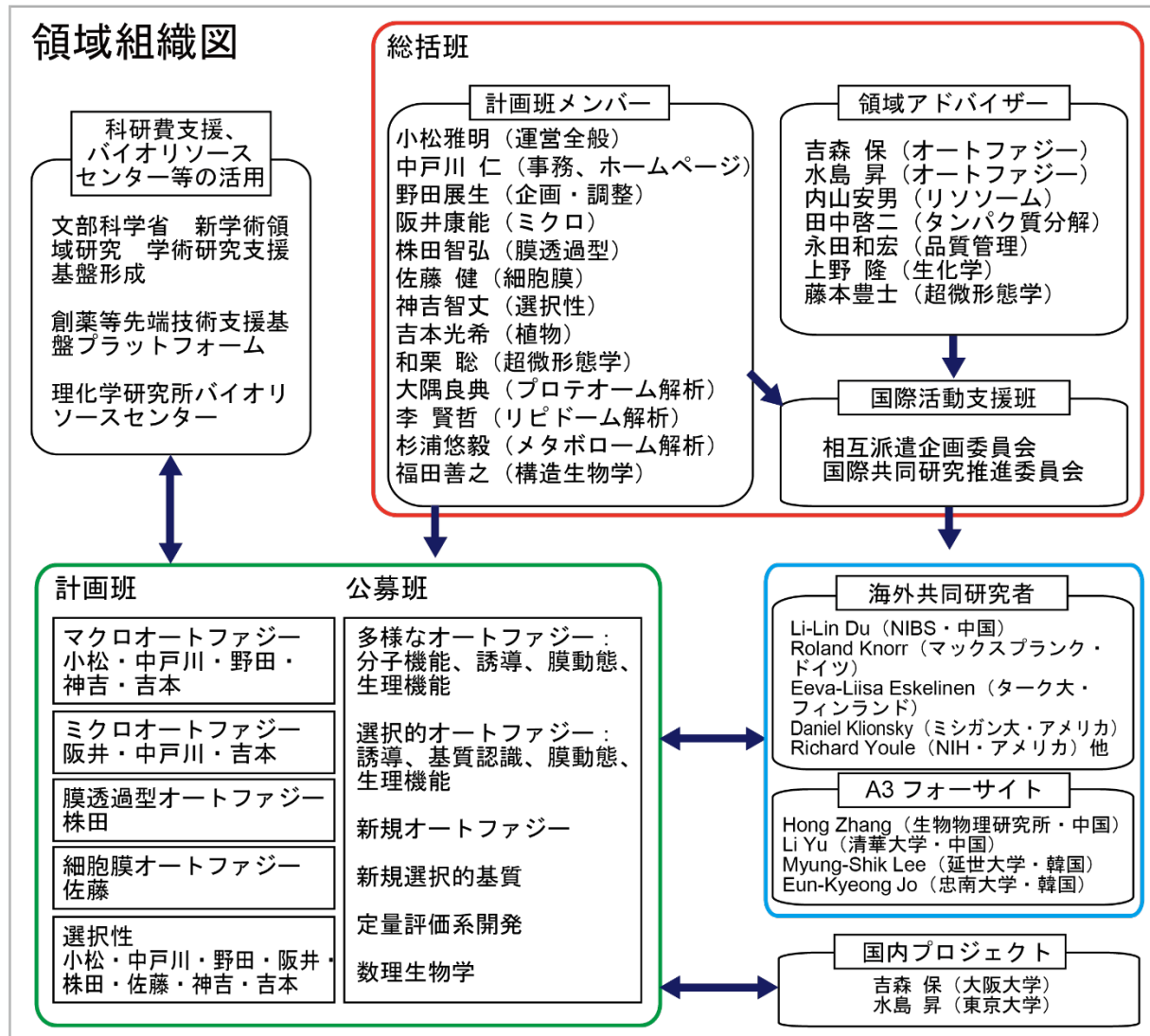
1. 小松雅明 内閣府エビデンスシステム (e-CSTI) こんな研究をして世界を変えよう「若手研究が世界を変える! 各フィールドはこう動いている」オートファジー 栄養補充で活躍するオートファジーは、病気の発症にも関与 <https://www.sekaiwokaeyo.com/wakate/n2063/> 2020年9月24日
2. 奥 公秀 2019年6月29日 雲雀丘学園高校「One Day College 雲雀ヶ丘」「酵母から医学へ: オートファジー研究のあゆみ」
3. 佐藤健 他 群馬大学生体調節研究所主催最先端生命科学セミナー 群馬県立前橋女子高等学校の生徒(22名)を招いて開催 令和3年3月20日(土・祝)13:30~16:00
4. 松田憲之 2020年度 第2回都民講座(2020年10月1日 開講) 遺伝性パーキンソン病の発症の鍵を握るミトコンドリア品質管理メカニズム
5. 佐藤美由紀 前橋商工会議所まちなかキャンパス 「ミトコンドリアを元気に保つ仕組みとは?」2019年12月11日
6. 佐藤美由紀 渋川女子高出前授業 「お父さんのミトコンドリアは要らない?!ミトコンドリア遺伝子がお母さんからだけ受け継がれる仕組み」2020年12月16日
7. 吉本光希 明治高校 高大連携講座『「自身を食べる?!」ことの重要性:植物オートファジーに焦点を当てて』、2020年10月28日
8. 魏范研 2020年11月9日 老化研究の最前線「老化研究産学連携シンポジウム」
9. 丑丸敬史 高校生公開実験講座 ひらめき☆ときめきサイエンス「細胞内をいつも清潔に! 細胞内のお掃除「オートファジー」の仕組みを調べよう!」(2020/11/3 静岡大学理学部) (オートファジー関連の実験を展開)
10. 丑丸敬史 依頼講演: 富士市民大学ミニカレッジ「老いを科学する~老化はどこからやってくるのか?~」(2020/3/3,4 富士市教育プラザ)

## 7 研究組織の連携体制

研究領域全体を通じ、本研究領域内の研究項目間、計画研究及び公募研究間の連携体制について、図表などを用いて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### 【実施体制】

本領域は図のような構成を取り、本領域における計画研究および公募研究の支援と調整を行うことで、領域内の有機的なつながりを促進する。領域アドバイザーには、タンパク質分解、生化学、細胞生物学の専門家を含めており、関連分野との融合的展開を図りやすい体制としている。



すでに「10 今後の研究領域の推進方策」に記載したとおり、計画班内だけでなく、計画班—公募班、公募班内共同研究が多面的に展開されている。

## 8 若手研究者の育成に係る取組状況

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究遂行に携わった若手研究者（令和3年3月末現在で39歳以下。研究協力者やポスドク、途中で追加・削除した者を含む。）の育成に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### 1. 班会議およびオートファジー研究会

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、班員とともに多くの若手研究者が議論・交流できる体制にしている。第1回班会議（令和元年10月25日～26日静岡県掛川市）では154名（口頭発表37名、ポスター46件）、第2回班会議（令和2年10月26日～28日オンライン）では255名（口頭発表52名）の参加があった。このうち、学部生、大学院生、ポスドクの総数は第1回班会議で62名、第2回班会議で125名であった。

### 2 若手の会の開催

本領域では若手育成を目的のひとつとしており、第1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。99名（若手口頭発表17名）の参加があった。令和2年度は、領域内外のタンパク質分解研究者を招聘した若手の会を開催した（令和2年12月21日オンライン）。155名（特別講演1名、指定講演4名、若手口頭発表11名）の参加があった。いずれも若手が熱心に議論を交わしており、若手育成に貢献した。

### 3. 領域ホームページの設置およびオートファジーフォーラムの開設

班員の成果およびオートファジーに関連した論文を紹介するオートファジーフォーラムを開設した（[https://proteolysis.jp/a\\_forum/](https://proteolysis.jp/a_forum/)）。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に論文を紹介する仕組みをとっている。領域発足以降令和3年6月23日現在、46件の論文が紹介されており、多くの若手がこれに貢献しており、領域内の迅速な情報交換に寄与した。

### 4. 若手研究者の昇進など

計画班代表の吉本光希（領域発足時は明治大学・農学部・准教授）が2021年4月に明治大学・農学部・教授に、計画班分担研究者の佐藤美由紀（領域発足時は群馬大学・生体調節研究所・准教授）が2020年5月1日に群馬大学・生体調節研究所・教授に昇進となった。公募班員では、荒川聡子（領域発足時は東京医科歯科大学・難治疾患研究所・講師）が2021年4月に東京医科歯科大学・難治疾患研究所・准教授に、板倉英祐（領域発足時は千葉大学・理学研究院・助教）が2021年4月に千葉大学・理学研究院・准教授に、及川大輔（領域発足時は大阪市立大学大学院・医学系研究科・講師）が2020年7月大阪市立大学大学院・医学系研究科・准教授に昇進した。

計画班、公募班内における若手の研究者の移動・昇進状況は以下の通りである。

計画班小松グループ 森下英晃助教（東京大学医学系研究科）が順天堂大学医学部講師(2019年9月)に昇進。

計画班野田グループ 丸山達朗博士研究員（微生物化学研究所）が無期雇用の微生物化学研究所研究員（2021年4月）に採用。

計画班中戸川グループ 小谷哲也博士研究員（東京工業大学）が東京工業大学特任助教（2019年11月）に採用。

計画班株田グループ 藤原悠紀博士研究員（国立精神・神経医療研究センター）が大阪大学大学院連合小児発達学研究科助教（2021年4月）に採用。

計画班佐藤グループ 森田昌人博士課程大学院生が群馬大学医学部助教（2020年11月）に採用。

計画班吉本グループ 吉竹悠宇志博士研究員（明治大学農学部）が有期雇用の明治大学農学部・助教（2020年6月）に採用。

公募班鳥居グループ 久保田知里博士研究員が高崎健康福祉大学 健康福祉学部・助教（2022年4月）に採用。

公募班中村グループ 泉正範研究員（理化学研究所）が、無期雇用の上級研究員職（2020年10月）に昇進。

その他、本領域の研究推進により、創発的研究支援事業（公募班代表者 板倉英祐、魏范研、荻沼政之、昆俊亮）、AMED-PRIME（公募班代表者 有本博一、計画班野田グループ 藤岡優子）を始めとしたPIへの登竜門と言える競争的資金獲得や受賞などにつながっている。

## 9 研究費の使用状況・計画

研究領域全体を通じ、研究費の使用状況や今後の使用計画、研究費の効果的使用の工夫、設備等（本研究領域内で共用する設備・装置の購入・開発・運用、実験資料・資材の提供など）の活用状況について、総括班研究課題の活動状況と併せて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### 総括班

領域共用設備として共焦点定量イメージサイトメーター CQ1（横河）および Invitrogen™ LentiArray™ CRISPR Human Druggable Genome Library（Thermo）を導入した。顕微鏡の管理・維持、および当該機器を利用した研究の支援に必要な研究消耗品の費用、その他総括班事務活動に必要な消耗品費用として毎年1,000,000～1,700,000円を計上している。班会議への領域アドバイザー・学術調査官の参加費用および成果発表国内旅費（700,000～750,000円）、国際シンポジウム（令和3年度）への海外からの講演者の招聘費用1,800,000円を計上している。領域内の連絡、ホームページの管理、名簿・報告書作成、旅費の支払い、海外研究者との連絡などを行う学術支援補助員が必要であり、1名分の雇用費（3,800,000円）を計上している。

### 計画班で導入した設備

ケミルミイメーシングシステム（順天堂大学）：高感度ケミルミネッセンス／蛍光イメージングシステムであり、ウェスタンブロットの検出、定量に日常的に利用している。

共焦点レーザー走査型顕微鏡（順天堂大学）：液滴、オートファゴソームをはじめとした細胞内構造体の蛍光免疫染色像の観察、タイムラプス観察、蛍光退色後回復測定など幅広く活用している。

GPU サーバー（東京大学）：クライオ電子線トモグラフィーにおいて、傾斜系列像からトモグラムの立体再構成に日常的に使用している。また、サブトモグラム平均化法の改善などにも使用している。

超低温フリーザー（東京工業大学）：本研究で構築した出芽酵母株やタンパク質、購入した抗体等の保存に利用している。

デジタル CMOS カメラセット（東京工業大学）：高感度で高解像度の蛍光顕微鏡画像を取得するために購入し、日常的に使用している。

高速冷却遠心機（東京工業大学）（2,840,400円）：大量培養した酵母および大腸菌細胞の回収に使用している。

共焦点レーザー走査型顕微鏡（京都大学）：液胞・リソソーム等の細胞内構造体の蛍光顕微鏡観察およびタンパク質ターンオーバーの速度解析のため、日常的に利用している。

ケミルミイメーシングシステム（国立精神・神経医療研究センター）：高感度ケミルミネッセンスイメージングシステムであり、ウェスタンブロットの検出、定量に日常的に利用している。

マルチ波長光源、デジタル CMOS カメラ（群馬大学）：線虫およびマウス受精卵のライブイメージングに使用。A06 班と A07 班で共同使用している。

超高感度ケミルミイメーシングシステム（群馬大学）：高感度ケミルミネッセンス／蛍光イメージングシステムであり、ウェスタンブロットの検出、定量に日常的に利用している。A06 班と A07 班とで共同使用している。

ガスクロマトグラフ（明治大学）：栄養飢餓時の植物生体膜脂質およびオートファジー関連構造体脂質の解析・定量などに使用している。

## 10 今後の研究領域の推進方策

研究領域全体を通じ、今後の本研究領域の推進方策について、「革新的・創造的な学術研究の発展」の観点から、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、今後公募する公募研究の役割を明確にすること。また、研究推進上の問題点がある場合や、国際的なネットワークの構築等の取組を行う場合は、その対応策や計画についても記述すること。

### 今後の本研究領域の推進方策

#### マクロオートファジー

これまでのところ、始動、膜伸長ともに極めて順調に進んでいると考えられる。前半期に得られた Atg2、Atg9 の構造情報に基づき、Atg2 による脂質輸送機構および Atg9 と協力した隔離膜伸展機構の解明を進める。具体的には、酵母およびリポソームに関するクライオ電子線トモグラフィーを行い、隔離膜あるいは人工膜上で機能している状態の Atg 因子の構造解析を行う。さらに、Atg9 を組み込んだ人工膜小胞 (giant unilamellar vesicle) と精製タンパク質から成る再構成系の構築を目指し、隔離膜の形成機構を解明する。始動時の Atg タンパク質群の会合機構および膜伸長時の膜の形態制御機構の解明にも取り組む。

#### マイクロオートファジー

前半期では、マイクロオートファジーとマクロオートファジーの連携や使い分けに関する多くの知見が得られた。後半期は、マイクロオートファジーの分子機構、特に ATG タンパク質、ESCRT タンパク質のマイクロオートファジーにおける機能の解明を目指す。さらに、マクロオートファジーとマイクロオートファジーの連携に関しても、その分子基盤および生理的意義を明らかにする。

#### 膜透過型オートファジー

計画班の株田の精力的な解析により、核酸、さらにはタンパク質を基質とする膜透過型オートファジー経路が明らかになった。後半期は、ナノポア技術、クライオ電顕や X 線構造解析などを駆使し、RDA のトランスポーター SIDT2 の基質輸送機構を解明するとともに、RDA の制御シグナル (mTOR シグナル) ・制御因子 (RNA helicase) を明らかにする。さらに、新規に見出したタンパク質を基質とする膜透過型オートファジーを発表するとともに、その実行トランスポーターの機能解析を進める。

#### 細胞膜分解

前半期に蓄積した結果、例えば、線虫卵母細胞膜分解に関与するユビキチンリガーゼや P 顆粒に局在する制御因子の同定と機能解析、マウス受精卵におけるクラスリン依存的エンドサイトーシスによる細胞膜タンパク質の選択的分解機構を論文化する。さらに、多精子受精 (多精) を防ぐ精子受容体の分解機構や発生の時間軸に沿った細胞膜タンパク質と各オルガネラの 4 次元マッピングを進める。また、Chaperone and receptor mediated extracellular protein degradation (CRED) に関わる、新規細胞外シャペロン、細胞膜受容体についても解析を進める。

#### 選択的オートファジー

これまでのところ、多面的に研究が展開されており、新たな選択的オートファジーの発見、新たな受容体の同定や受容体による選択性の分子基盤など順調に推進していると考えられる。後半期は、それらの解析を続けるとともに、新規オートファジー選択的基質の解析や分解基質から始まるオートファジーの始動機構、例えば、前半期に新たに同定したマイトファジーに必要なミトコンドリア分裂因子 AtgX などの解析を進める。さらに、各選択的オートファジー、あるいは全選択的オートファジー阻害モデル生物の解析から選択的オートファジーの生理機能に迫る。

#### オートファジーの統合的理解

前半までに、これまでほぼ手つかずの状態であった各オートファジーの連携が見えてきた。特に、マクロオートファジーとマイクロオートファジーの連携が分子レベルで分かってきた。また、マクロオートファジーにおける非選択性と選択性を区別できる遺伝子改変マウスの開発や複数のマイトファジー経路を個体で評価できる系が確立されるなど、後半期に成果が期待される。

### カバーすべき領域

マクロ、マイクロ、選択的オートファジーに関してはバランス良く研究を展開できている。後半期は、膜透過型オートファジー、細胞膜分解、そして新しいタイプのオートファジーや新規基質分解に関わる課題を積極的に取り入れて、マルチモードオートファジー研究領域を充実させたい。また、各オートファジーの活性をシミュレーション、あるいは可視化できる系を構築し、連携機構に迫る。さらに、データ駆動型科学と分子細胞生物学研究との融合研究を進めることでマルチモードオートファジーの生理機能を明らかにする。



## 11 総括班評価者による評価

研究領域全体を通じ、総括班評価者による評価体制（総括班評価者の氏名や所属等）や本研究領域に対する評価コメントについて、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

吉森保（大阪大学・大学院生命機能研究科長 生命機能研究科及び医学研究科教授 同大学名誉教授）

領域研究のメリットのひとつは、単独の研究者では困難な新しい分野や方向性の創成ができることである。本領域では、勃興しつつあった多彩なオートファジー経路の研究にマルチモードオートファジーと言う名前を与え、意識的かつ戦略的に推進してきた。目論見は、期間前半で既に大きな成功を収めている。予想以上のオートファジーの多様性・重要性が明らかになり、多数の論文として報告されている。中間評価時点でこれほど質の高い論文が数多く出版されている例はあまりないのではないかと。期間後半には、さらに研究の展開を図ると同時に、統一的な概念の構築も考え新たな学術分野として確立して欲しい。

水島昇（東京大学・大学院医学系研究科・教授）

本新学術領域研究は、従来マクロオートファジーが中心であったオートファジー研究を、他の経路や基質などの多様な視点を加えることによって、より総合的な学術分野にした。多くの公募研究を積極的に採択して（38件）、分野の拡大に努めている。特にマイクロオートファジーの広がりや予想を超えている。まだ上半期ではあるものの、計画研究を中心として世界的にも特筆すべき成果が得られている。特に、オートファゴソーム形成部位での液滴形成、オートファゴソーム膜での Atg9 による脂質スクランブル活性、選択的基質の液滴としての性質、選択的オートファジーでの Atg9 の役割、細胞外タンパク質のリソソームでの選択的分解、出芽酵母のオートファジーの mRNA 分解や1炭素代謝での意義など、いずれも画期的な成果であると言える。コロナウイルス感染拡大の困難さの中、領域代表のリーダーシップのもとに領域が適切に運営され、領域内での多くの共同研究、班会議や若手の会の開催、ウェブフォーラム設置などがなされ、後半では大規模な国際会議も計画されている。領域の発展、若手育成などの面からも十分な対応であると考えられる。

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

2年間の計画遂行の過程で特記すべきは、計画班員同士および公募班員を加えての共同研究が進んでいることと、それによって優れた研究結果が得られていることである。領域代表グループにより、オートファゴソーム形成レセプタータンパク質 p62 が抗酸化ストレス応答のプラットフォームを形成すること、そして NBR1 は p62 の役割をアシストすることが明らかにされたこと、さらに、野田グループにより、クライオ EM を用いて、Atg9A が膜貫通タンパク質としてホモ三量体を形成し、リボソームの外葉と内葉との間を貫くチャネルを形成し、膜に開く脂質スクランブレースとして機能し、Atg2 と共に膜の供給に貢献することが示されたことが大きな発見であった。その他6名の計画班員グループもそれぞれに、ERファジーや核孔ファジー分子機構、出芽酵母ミトファジー機構、ペキソファジー分子機構、発生時の細胞膜分解機構関与タンパク質、DNA・RNA 分解に必須な膜透過分子機構、植物ストレス条件下でのマイクロオートファジー誘導機構を明らかにした。以上8名の計画班員に加え、公募班員も計画班員との共同研究により、さらには、公募班員同士の共同研究によって、マルチモードオートファジーの種類と分子機構の解明に多くの貢献をしている。以上、本プロジェクト研究の中心的課題に対して大きな研究成果を得たことは高く評価でき、これからのに向けてさらなる進展が期待できる。

田中啓二（東京都医学総合研究所・理事長）

今日、オートファジーは隆盛を極め生命科学研究の中核で不動の地位を占めつつある。我が国のオートファジー研究は黎明期から円熟期の現在まで、欧米中の研究グループと激しく競合しながら世界を牽引してきたが、本新学術領域「マルチモードオートファジー」は、その原動力となってきた。本領域は、マクロオートファジーやマイクロオートファジー、そして様々なオルガネロファジーなど多様性を基軸として着想され、多彩なオートファジー経路のメカニズムと生理作用の解明を目指して飛躍的に進展してきた。特に世界的なトピックスになっているオートファジーの形成機構や選択性の謎に迫る「液-液相分離」研究においては、細胞生物学的方法や構造生物学的手法を駆使して傑出した成果を挙げ、多くの質の高い論文に結実させた。またコロナ禍で情報の共有や連携活動が困難を極める中、班会議や若手の会等をWEB開催して若手研究者を鼓舞しその育成に努めてきた。本領域の後半には、山積している未解明な課題にチャレンジすると共に、次世代オートファジー研究の礎となるような新しい領域の開拓に挑むことを期待したい。

永田和宏（JT生命誌研究館・館長）

オートファジー研究は、大隅良典らの先駆的な研究によって、今なお、わが国の研究者が世界をリードしている数少ない分野の一つであり、「新学術研究」としてそれらの研究がサポートされていることの意義は大きい。オートファジー研究は、世界で爆発的に研究が進んだ結果、従来のマクロオートファジー以外のさまざまなモードのオートファジーが報告され、分野内外の研究者にとっても理解の及ばないところが多くなっていったが、今回「マルチモードオートファジー」としてそれらを統合的に俯瞰する視点が示されたことは、今後の研究の発展にとっても大きなことであった。特に「多様な経路」だけではなく、「多様な選択的分解基質」の観点から、従来のさまざまなオートファジーの相互関係を一望できるようになったのは意味のあることである。

計画研究、公募研究とも、わが国のこの分野の重要な研究者を終結させており、成果も申し分ないものと思われる。特にこの期間にあっては、野田展生らを中心とした、PAS が液-液相分離によって形成された液滴であることの証明は重要であるし、Atg8-PE による膜摂動活性や Atg9 の脂質スクランブル活性の証明、佐藤健、中戸川仁らによる細胞膜分解やオルガネラ分解の機構に関する担当因子の同定とその機構、また領域代表の小松らによる選択的マクロファージに関する遺伝子改変マウスの作製、さらに大隅らによる mRNA 量の調節に関与するオートファジーなど、いずれもこの分野に大きな知見をもたらすものと考えられる。領域内共同研究の活発さも含めて、本領域はめざましい研究の発展を示し、期待以上の成果をもたらしたと言える。

#### 上野隆 (順天堂大学・医学部・客員教授)

本新学術領域「マルチモードオートファジー」は、欧米や中国の研究グループと激しい競争を繰り広げながら世界を先導する形で成果を挙げてきた。特に、マクロオートファジーにおける p62 液滴を取り囲む隔離膜形成機構や Atg2 と Atg9 の連携による隔離膜への脂質供給過程の解明、また、出芽酵母のオートファジーで供給されるセリンの葉酸代謝への貢献や mRNA の選択的分解の発見は斬新な成果である。さらにマルチモードという観点に立てば、ミトコンドリアに標的化された直鎖状ユビキチンによるマイトファジー誘導と骨格筋の廃用性萎縮でのマイトファジー活性化などの発見がオルガネロファジーへの多面的理解を深めている。一方、植物や酵母でマクロオートファジーとマイクロオートファジーの関係に集中的な解析が進んでおり、両者に関わる遺伝子的基盤の峻別についても新しい成果が期待される。この学術領域研究で特筆すべきことは、領域内での活発な共同研究が行われ若手の育成にも力が注がれていることである。定例の班会議は必ず「若手の会」とセットで開催され、次世代オートファジー研究者の開拓精神を培う機会となっている。

#### 藤本豊士 (順天堂大学大学院医学研究科・老人性疾患病態・治療研究センター・特任教授)

採択時のコメントに真摯に対応して、領域ホームページに「本領域の未解決課題」として具体的な事例を提示して公募研究を募集するなどの積極的な努力を行い、多様性に富むオートファジー現象を解明するために必要な研究組織を作り上げた点は高く評価される。その結果は現時点ですでに具体的な成果として現れており、数多くの論文がトップジャーナルに発表されていることは喜ばしい。今後も計画班、公募班の連携を推進し、オートファジー分野全体として高い研究レベルを維持することに貢献するだけでなく、個別の研究テーマで世界をさらにリードする成果が生み出されることを期待する。またコロナ禍という困難な状況ではあるが、次世代を担う若手がトップランナーの研究者と忌憚なく意見交換できる場の拡充強化にも期待する。

#### 木南英紀 (順天堂大学・学長特別補佐)

本研究は、多様なオートファジー経路の研究をバランス良く推進し、各オートファジー経路間の関係性の分子機構を究明することにより、オートファジーを統合的に理解することを目的としている。領域代表者のリーダーシップにより、計画班と公募班の有機連携を持った強力な組織が作られ、様々なモデル動物を用いて異なる経路に関する多面的な共同研究が展開された。研究前半期には、設定目標に沿って順調に期待する成果が生まれている。コロナ渦にあっても組織内のみならず海外の研究チームとの情報交換が密になされていることも研究推進の後押しとなっており、研究期間の後半でオートファジーの連携機構について革新的な成果が得られ、マルチモードオートファジーの生理機能を含め、統合的な理解が進むことを期待する。