

機関番号：32620
領域設定期間：令和元年度～令和5年度
領域番号：7101
研究領域名（和文）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
研究領域名（英文）Multimode autophagy: Diverse pathways and selectivity
領域代表者
小松 雅明（KOMATSU Masaaki）
順天堂大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：90356254
交付決定（予定）額（領域設定期間全体）：（直接経費）1,199,600,000円

研究の概要

これまでのオートファジー研究は、オートファゴソーム形成を伴う“マクロオートファジー”に集中してきた。しかしながら、実際には多数のオートファジー経路が存在する。たとえば、液胞膜・リソソーム膜が陥入あるいは伸長することにより細胞質成分を取り囲む“マイクロオートファジー”、基質がリソソーム膜を直接透過する“膜透過型オートファジー”、リガンド刺激依存的に展開される“エンドサイトーシスを介した細胞膜分解”、そしてオルガネラが直接リソソームと融合する“直接融合型オートファジー”などである。さらに、オートファジーは一般に非選択的な分解経路であると考えられてきたが、すべてのオートファジー経路が選択性を有し、可溶性タンパク質、液-液相分離した顆粒、凝集体、核酸、さらにはミトコンドリアや小胞体といったオルガネラを選択的に認識、隔離、分解することも明らかになってきた。本領域では、オートファジーの多様な経路とそれらによる選択的分解を統合して「マルチモードオートファジー」とし、その分子メカニズムおよび生理機能を様々なモデル生物を用いて解明するとともに、各オートファジーの連携、誘導の時系列、分解寄与度、機能進化を明らかにし、包括的な自己成分分解の理解を目指す。

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：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

1. 研究開始当初の背景

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 (Nakatogawa *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020)。 *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を背景に、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マイ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）。

2. 研究の目的

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）（生化学 91 巻 5 号 2019 年特集「マルチモードオートファジー-広がり続ける自食作用の世界-企画 佐藤健、小松雅明）。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の分子メカニズムおよび生理機能を様々なモデル生物を用いて解明する。それらの情報を基盤に、各オートファジーの連携、誘導の時系列、分解寄与度、機能進化を明らかにし、包括的な自己成分分解の理解を目指す。

3. 研究の方法

本領域では、「オートファジーの多様性」について研究を推進するが、各研究は分子機構の観点から密接に関連する。具体的には、各オートファジー経路は、Atg 因子をはじめとして、基質認識因子、膜融合因子、膜分裂因子、膜透過因子などを部分的に共有していると考えられる。これら作動因子の情報やマテリアルの共有を通じて領域内研究を有機的に連携させる。また、計画班代表は、酵母、線虫、マウス、植物など様々なモデル生物を用いて研究を展開する。多様なモデル生物からの情報を共有することにより、オートファジーの機能進化や新しい生理機能の解明に結びつくと考えられる。さらに、構造生物学担当の野田グループが分子構造的基盤の解明に積極的に関与する。領域には高度なオミクス技術を有する研究者が複数名参画しており、多階層分子基盤に基づく多様なオートファジーの統合的理解に向けた体制になっている。すでに、領域内では多くの共同研究が進行しており、今後さらに増加することが見込まれている。

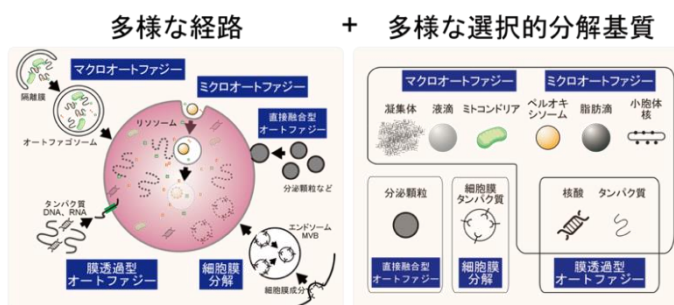
4. 研究の進展状況及び成果

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-液相分離や高次会合体形成の必要性など重要な発見が相次いだ。これら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がその原動力となった。さらに、マクロ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。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、公募班との有機的連携も大きな力になっている。

5. 今後の研究計画

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る。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

マルチモードオートファジー



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

ードオートファジーの生理機能を明らかにする。

6. 主な発表論文等（受賞等を含む）

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. 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
3. 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).
4. 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).
5. Makino S, Kawamata T, Iwasaki S, *Ohsumi Y. Selectivity of mRNA degradation by autophagy in yeast. *Nat Commun.* 12: 2316 (2021).
6. *Robert G, Yagyu 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).
7. 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. N⁶-methyladenosine (m⁶A) is an endogenous A3 adenosine receptor ligand. *Mol Cell.* 81., 659-674, (2021)
8. 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)
9. 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).
10. 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)
11. 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).
12. 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).
13. 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).
14. 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).
15. 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).
16. 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).
17. 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).
18. *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).
19. *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)
20. Yamaguchi H, Honda S, Torii S, Shimizu K, Katoh K, Miyake K, Miyake N, Fujikake N, Sakurai H.T., *Araoka S, *Shimizu S. Wipi3 is essential for alternative autophagy and its loss causes neurodegeneration. *Nat. Commun.* 11:5311 (2020)
21. 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)
22. 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).

ホームページ等

http://proteolysis.jp/multimode_autophagy/