

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	オートファジーにおける膜新生駆動システムの実体と全容の解明
研究機関・部局・職名	東京工業大学・フロンティア研究機構・特任准教授
氏名	中戸川 仁

【研究目的】

我々の細胞が営む生命活動は、細胞を構成する成分の「合成」と「分解」の絶妙なバランスの上に成り立っている。オートファジー（自食作用）は、タンパク質等の細胞質成分のみならず、細胞内小器官のような巨大な構造物の丸ごとの分解をも媒介する、真核生物に高度に保存された大規模な分解系である。その最たる特徴は、分解すべきものを包み込み、種々の消化酵素を包含するリソソームや液胞といった分解コンパートメントに輸送するための脂質膜のふくろ、「オートファゴソーム」の形成にある。栄養飢餓時には、オートファゴソームは細胞質の一部を無作為に包み込み、その分解産物を細胞が飢餓を凌ぐための養分として供給する。また時には、機能不全となったミトコンドリア等の細胞内小器官、異常タンパク質の凝集塊、さらには細胞内に侵入したバクテリア等を特異的に認識して選択的に取り囲み、これらの除去を促す。こうした分解標的の多様性を反映するかのよう、オートファジーは細胞内の物質代謝や飢餓応答だけでなく、発生、分化、老化、細胞死、免疫等、多彩な生命機能に関与することが、近年急速に明らかとなってきた。さらに、オートファジーの破綻が、ハンチントン病やアルツハイマー病等の神経変性疾患や、肝疾患、心不全等、様々な病気の発症につながるとの報告が相次いでおり、これら病気に対する予防法・治療法の開発のためにも、オートファジーの分子機構の解明が急務となっている。

本研究では、オートファジー研究における最重要課題と位置付けられ、なお多くの謎を残すオートファゴソームの形成機構の解明を目指した。オートファゴソームは、オートファジーの誘導に応じて細胞質で全く新規に作り上げられる。これまでの研究から、オートファゴソームの形成は Atg タンパク質と呼ばれる特異な因子群を必要とすることが明らかとなったが、オートファゴソームの膜が何に由来し、どのような過程を経て、どのようにして形成されるのか、という本質的な問いに対する答えは未だ得られていない。本研究では、膜の由来を始点とするオートファゴソーム形成の素過程と、これを支えるシグナル伝達経路や細胞内膜系、さらにこれらを統御する Atg タンパク質群を1つの「膜新生駆動システム」として捉え、その実体と全容を明らかにすることを目標とした。具体的には、主に以下の2つの計画に基づいて研究を推進した。

(1) オートファゴソーム膜前駆体の単離と解析

研究代表者らは、最近、オートファゴソーム形成の素過程の解明のための突破口

となる成果を得た。すなわち、オートファゴソームの「膜の前駆体」を捉えることに成功し、それが蓄積する条件を見出した。本研究では、まず、この膜の前駆体を単離し、その形態を明らかにして、オートファゴソームの膜がどのような形態学的過程を経て作られるのかを明らかにすることを目指した。また、同前駆体を大量調製し、含まれるタンパク質や脂質分子を網羅的に解析することで、オートファゴソーム膜の脂質組成を決定し、オートファゴソームの形成に必要な新規因子を同定することを試みた。また、タンパク質・脂質のプロファイルから、同前駆体が細胞内のどの膜から作られているのか、その由来に関する情報を得ることも計画した。さらに、同前駆体の形成機構およびオートファゴソーム膜への変換機構を追究することで、オートファゴソーム形成の一連の素過程を明らかにすることを目指した。

(2) 新規オートファジー関連因子の探索

非常にダイナミックな膜動態を伴うオートファゴソームの形成過程を、既知の Atg タンパク質のみで支え得るとは考え難い。しかし、これまでの経緯から、生育非必須遺伝子を対象にした関連遺伝子のスクリーニングは飽和に達したと考えられる。そこで、本研究では、出芽酵母の生育に必須な遺伝子を対象に、オートファゴソームの形成に必要な因子を系統的にスクリーニングした。得られた新規因子について、特に Atg タンパク質群との関係に着目しながら、それらのオートファゴソーム形成における役割を明らかにすることを試みた。さらに、動物細胞を用いた新規因子の解析にも着手し、我々ヒトにも通じるオートファゴソーム形成のメカニズムの解明を目指した。

【総合評価】

	特に優れた成果が得られている
○	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

本課題研究は、オートファジーにおける最大の問題、すなわち膜新生のメカニズムとそのオリジンを明らかにすることを目的として、具体的に「膜の前駆体」の実体について明らかにし、さらにオートファゴソームの形成過程に関わる新規遺伝子の探索を主たる課題として計画された。膜前駆体については、本課題発足時にすでに発見されていたが、その後、膜単離法の確立は注目される成果である。しかしながら、その後の研究において、電顕による解析や、膜に含まれるタンパク質の解析をはじめ、全体としてはその実体を解明するに至らなかったのは、残念であった。また新規遺伝子についても精力的にスクリーニングが行われ、いくつかの新規遺伝子とその候補として発見されたが、それらのオートファゴソーム形成における機能はまだ十分解析され

たとは言いがたい。最後の一年を残して終了するという点を考案しても、所期の目的が十分に達成されたとは言いがたい。しかしながら、Atg4, Atg1 を初めとする、いくつかの既知の因子の機能解明に新たな知見を得たことは評価する。

② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

オートファジー形成に関与する膜前駆体の単離法の確立が注目すべき成果である。しかし、その実体解明という観点からは、電顕観察や膜に含まれるタンパク質の解析を通じて、新たな知見を得るには至らなかった。膜調整に伴うアーティファクトを考慮する必要があるものと考察された。またもう一つの計画である、新規オートファジー関連因子の探索に関しては、必須遺伝子の網羅的探索は終了し、いくつかの新規遺伝子候補を得たが、その機能解明には必ずしも至っておらず、成果としては所期の目的が全て達成されたとは判断されなかった。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

膜単離法の確率は、今後のオートファジー研究に大きな貢献をするものと期待され、優位性があると判断される。オートファゴソーム膜前駆体の発見は、ブレークスルーと呼ぶにふさわしいものであったが、それは本課題発足前に既に得られていた知見であり、本課題の遂行によって得られたブレークスルーとは言い難い面がある。概ね、計画どおりに研究は遂行されてきたといえるが、当初の目的以上の成果が得られたとは考えられない。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

研究法の確立という面で関連する分野への波及効果は見込まれるが、社会的、経済的な課題への波及効果という面からは、本来基礎研究であるので、関連は薄い。しかし、オートファジーに関する研究は我が国発の重要な研究分野であることから、新

聞・一般雑誌への成果の発信については、本課題担当者らが今後も引き続き努力を続けることが必要である。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

本事業で新たに博士研究員、研究補佐員を雇用し、代表者も特任助教から特任准教授へと昇任し、責任をもってチームの管理を行った。主任教授の大隅教授との役割分担という点では不分明な部分も残しているが、発表論文においては責任著者としての論文を発表し始めていることから、ある程度の独立性は認められる。本課題終了後は科研費若手研究(A)や新学術領域研究を獲得しており、引き続き研究を推進できる見込みであることは評価できる。