

戦略的創造研究推進事業
発展研究 (SORST)

研究終了報告書

研究課題「オートファジーによる細胞内ク
リアランス機構」

研究期間：平成18年 4月 1日～
平成20年 3月31日

水島 昇
(東京医科歯科大学 教授)

1. 研究課題名

オートファジーによる細胞内クリアランス機構

2. 研究実施の概要

オートファジーとはリソソームを分解の場とする細胞内の大規模分解系である。オートファジーは細胞質成分を飢餓時に過剰に分解してアミノ酸を供給する、飢餓適応反応として主に理解されてきた。しかし、私たちは最近オートファジーによる細胞内クリアランスも、細胞内の品質管理において非常に重要であることを見いだした。そこで本研究課題では、栄養学とは別の切り口で、オートファジーによる細胞内クリアランスの生物学的重要性を明らかにすることを目的とした。

オートファジー能を欠損したマウス (*Atg5* ノックアウトマウス) 新生児の解析から、オートファジーによる細胞内品質管理は特に神経系と肝で重要であることが示唆された。しかしこのマウスは栄養学的問題から出生直後に死亡してしまうため、さらなる解析のために神経系特異的 *Atg5* ノックアウトマウスを作製した。このマウスは細胞内凝集体を伴う広範な神経細胞変性を生じ、生後 4 週目頃より進行性の運動障害を呈した。神経系でのオートファジーの活性はむしろ低いが、この定常的オートファジーが細胞内クリアランス機構として極めて重要であることがこの研究より示された (*Nature* 2006)。

また、オートファジーによるクリアランス不全によって生じる現象を詳細に検討したところ、まず細胞内全域にわたってユビキチン化タンパク質の蓄積が起り、遅れて凝集体の蓄積が観察された。このことは、凝集体そのものがオートファジーによって分解されているわけではなく、凝集体の出現はタンパク質代謝不全の結果として起こっていると考えられた。

このような凝集体の解析を行う途中で、オートファゴソームマーカーとして頻繁に利用されている LC3 タンパク質が、オートファジーとは無関係に凝集体に局在化することを見いだした。これはオートファジーのクリアランス機構の研究を行う上で留意すべき重要なことである。

さらに、受精卵においてもオートファジーが活発におこっていることを発見した。これは母性タンパク質のクリアランスに貢献している可能性が高く、その生物学的意義について卵細胞特異的 *Atg5* ノックアウトマウスを作製するなどして解析にあたっている。

最後に、このようなクリアランス活性を調節しうるオートファジーの制御機構の解析を着手した。その結果、オートファジー制御の比較的上流に位置すると考えられる新規の因子 **FIP200** を同定することに成功した。**FIP200** はすでに他経路での機能が知られているタンパク質であるが、オートファジー因子である **ULK** と結合し、かつ **FIP200** ノックアウト細胞はオートファジー不全となることを見いだした。

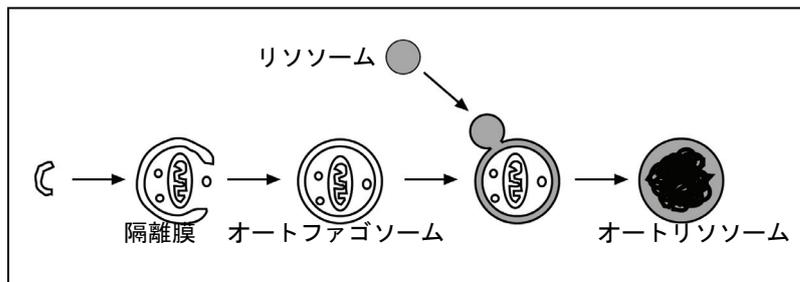


図1. オートファジーの模式図。
細胞質成分はまずカップ状の隔離膜に
囲まれ、オートファゴソームが形成さ
れる。次にこれがリソソームと融合し、
リソソーム加水分解酵素によって内容
物が分解される。

3. 研究構想

オートファジーは原則として非選択的な細胞内の大規模分解系である。これはユビキチン・プロテアソーム系などの選択的分解系とは対照的な関係にある。私たちは既事業（さきがけ）において、飢餓時に誘導されるオートファジーが栄養自給システムとして重要であることを示した。しかしオートファジーは飢餓時以外でも、低いレベルではあるが恒常的におこっている現象である。私たちは既事業の期間中にこの定常的オートファジーは栄養制御とは無関係に、細胞内タンパク質の品質管理に大きく関与しうる証拠を見いだした（図2）。そこで、本発展研究課題ではオートファジーのもつ「細胞内クリアランス機能」について焦点をあてることとした。

本発展研究で当初計画していた主な研究項目は

- (1) オートファジーによる細胞内クリアランスの生物学的意義の解明（組織別）
- (2) オートファジーの基質特異性（特に細胞内凝集体の除去機構）の解明
- (3) オートファジー不全が細胞におよぼす影響と病態・老化との関連についての解析であった。

これについて細胞生物学的、マウス遺伝学的手法を用いてアプローチしてきた。残念ながら途中研究室の移動などもあり、老化についての研究はマウスの成長が間に合わずに計画を断念せざるを得なかった。

一方、これらの研究の過程で「オートファジーによる細胞内クリアランス」が受精直後の初期胚でもおこっていることを示唆するデータを得た。また、オートファジーの応用を考えた場合、その活性制御機構の解析が重要であると考えに至り、オートファジー制御に関わる新規因子の同定の試みを併せて開始することとした。その結果、これらについても、重要な発見に到達することができた。

これらの研究を今後継続することによって、既事業で行った飢餓関連のオートファジー研究とは異なる展開が今後一層期待される。

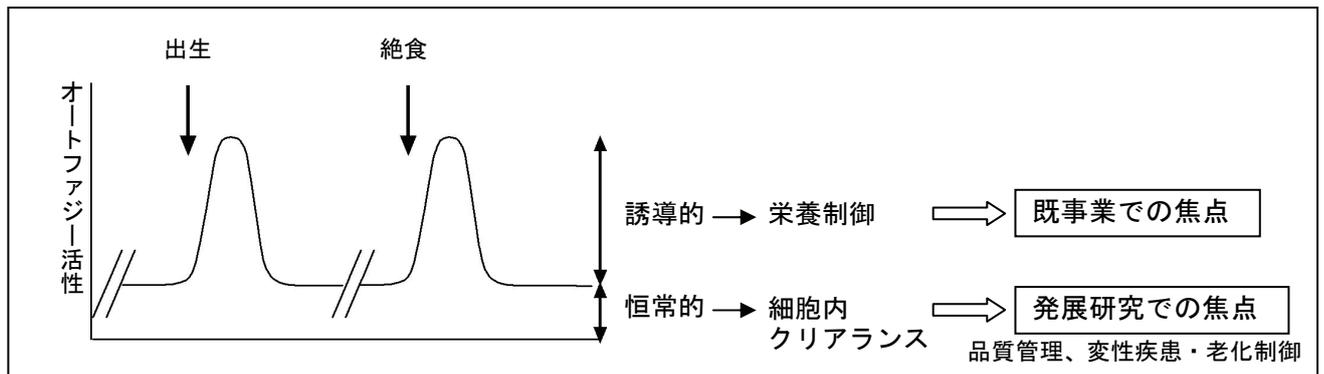


図2. 誘導的オートファジーと恒常的オートファジーの役割（仮説）

4. 研究実施内容

(1) 実施の内容

A. オートファジー欠損による細胞内クリアランスの異常：特に神経変性との関連

私たちはオートファゴソーム形成に必須な *Atg5* を欠損するマウス (*Atg5*KO マウス) を作製した。このマウスはオートファジー不全のために出生直後に深刻な栄養不良に陥ることが明らかとなり、オートファジーの栄養学的重要性が示された (Kuma et al. 2004 Nature)。しかし、この *Atg5*KO マウスは出生時にすでに肝や一部の神経細胞内にユビキチン陽性封入体が蓄積していることが判明した (図3)。これは胎生期のオートファジーによって、細胞内の異常タンパク質の蓄積・凝集が抑制されていたことを示すものであった。

*Atg5*KO マウスは生後 1 日以内に致死となるため、より進んだステージの解析の目的に、神経特異的 *Atg5* ノックアウトマウスを作製した。これには *Atg5*flox マウスと、*Nestin* プロモータ制御による神経特異的 *Cre* 発現マウスを用いた。

このマウスは生直後の栄養飢餓には問題なく耐えることができるが、生後 4 週目より進行性の運動障害 (失調性歩行や *foot clasp*ing reflex など) を呈するようになった。病理組織学的解析では神経系広範囲にわたる神経細胞内封入体形成、軸索腫大、および大脳皮質錐体細胞や小脳プルキンエ細胞の脱落を認めた。これらの結果は、疾患に関連した変異タンパク質を発現していない状態でも、神経細胞内凝集体形成や神経変性に対してオートファジーが保護的作用をしていることを決定づけるものであった (Hara et al. 2006 Nature)。

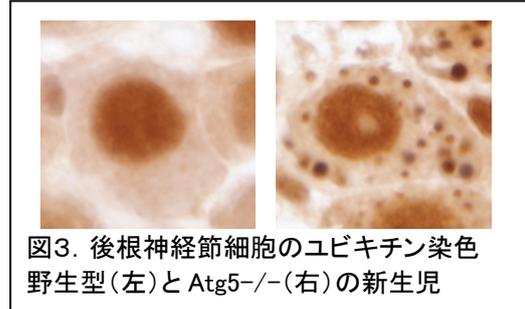


図3. 後根神経節細胞のユビキチン染色
野生型(左)と *Atg5*^{-/-}(右)の新生児

B. オートファジーによる細胞内クリアランスの特異性について

オートファジー不全細胞での凝集体蓄積は肝と神経系で特に顕著に観察された。そこで、なぜオートファジー活性が阻害されるとユビキチン陽性の封入体が形成されるか、という問いについてアプローチした。これには単純に二つの可能性が考えられた。ひとつは、私たちの細胞内には日頃から凝集体が形成されており、オートファジーが恒常的にそれを分解しているという可能性である。もうひとつは、オートファジーは主にランダムに細胞質成分を分解しているが、それが抑制されるとタンパク質の全体的な代謝回転が阻害され、二次的に変性タンパク質や凝集体が増加するという可能性である。そこで私たちはまず蓄積しているユビキチンタンパク質の性状について解析を行った。全身の組織で約 30%がノックアウトとなるようなモザイクマウスの肝をユビキチン抗体で染色したところ、KO 細胞で蓄積しているのは凝集体だけではなく、細胞質全体のユビキチン化タンパク質であることが判明した (図4)。さらに成獣の肝細胞で誘導的に *Atg5* 遺伝子をノックアウトする実験を行ったところ、最初に現れる異常は細胞質全体のユビキチン化タンパク質であり、遅れて凝集体が出現することがわかった。つまり、オートファジーの直接の基質は凝集体そのものではなく、むしろ可溶性のタンパク質であると考えられた (図5)。

次に肝特異的オートファジーKO マウスの肝細胞で特に蓄積しているタンパク質を決定したところ (九州大学、中山敬一博士、松本雅記博士との共同)、グルタチオン-S-トランスフェラーゼとチトクローム P450 の一部のアイ

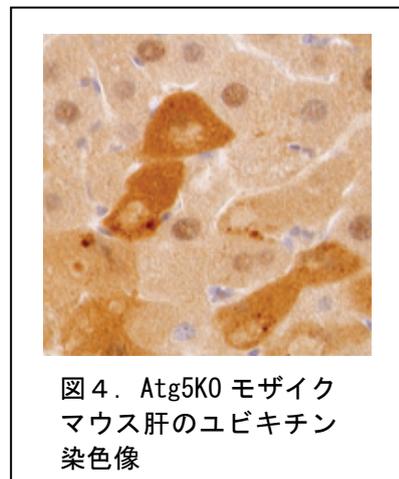
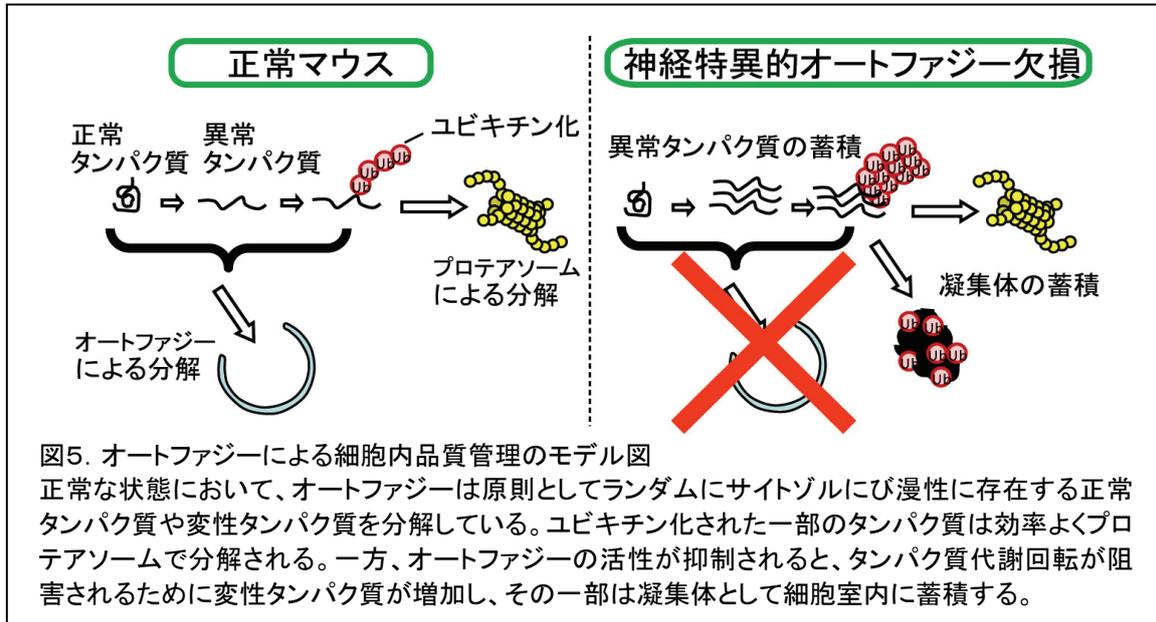


図4. *Atg5*KO モザイクマウス肝のユビキチン染色像

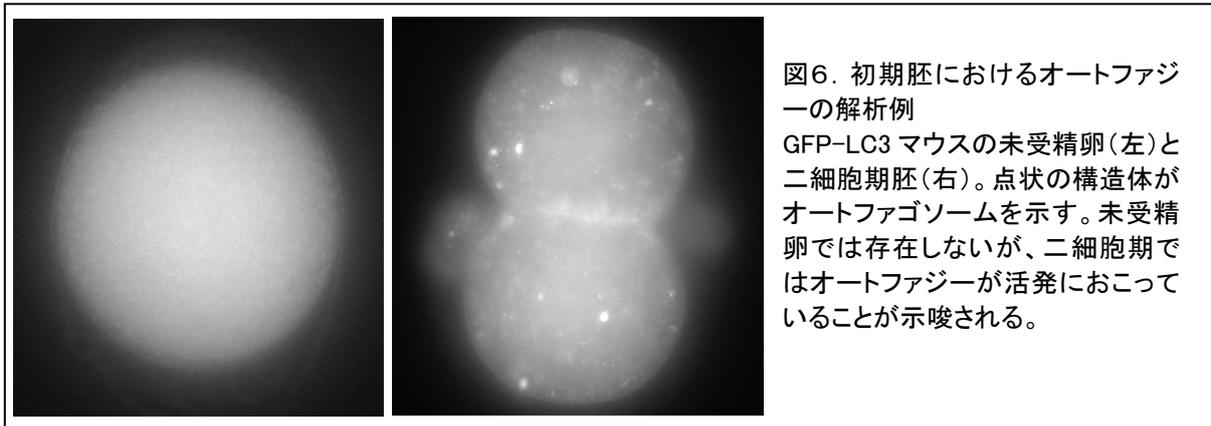
ソフォームが同定された。これらは組織のウェスタンブロットでも確認された。この正確な原因は不明であるが、オートファジーKO 細胞は、単なる凝集体の蓄積のみではなく酸化ストレスなどの、より細胞全体的なストレス状況下にあることが予想された。また、順天堂大学小松准教授らとの共同研究によって、p62 というタンパク質が選択的にオートファジーによって分解され、その蓄積が凝集体形成に重要であることを見いだした。



C. 初期胚の細胞内クリアランスにおけるオートファジーの役割

多くの生物では卵細胞が豊富な細胞質を有しているのに対し、精子の細胞質は乏しい。従って、受精直後の細胞質に存在する mRNA とタンパク質のほとんどは卵細胞由来となる。発生が進むとともにこれらは受精卵ゲノムに由来する mRNA やタンパク質に置き換わっていく。実際、卵細胞由来の mRNA は 2 細胞期までにその 90% が分解され、胚ゲノム由来の転写が活性化されるようになることが知られている。また、新規タンパク質合成も 2-8 細胞期に活性化することが示唆されている。従ってこのステージにおいても「細胞内クリアランス」は重要であると考えられる。しかし、この間のタンパク質分解の情報については非常に限られている。

そこで私たちが従来用いてきた全身のオートファゴソームが蛍光標識される GFP-LC3 マウス由来の卵を解析したところ、図 6 に示すように未受精卵ではオートファジーは起こっていないが、二細胞期胚ではオートファジーが活発に起こっていることが示唆された。



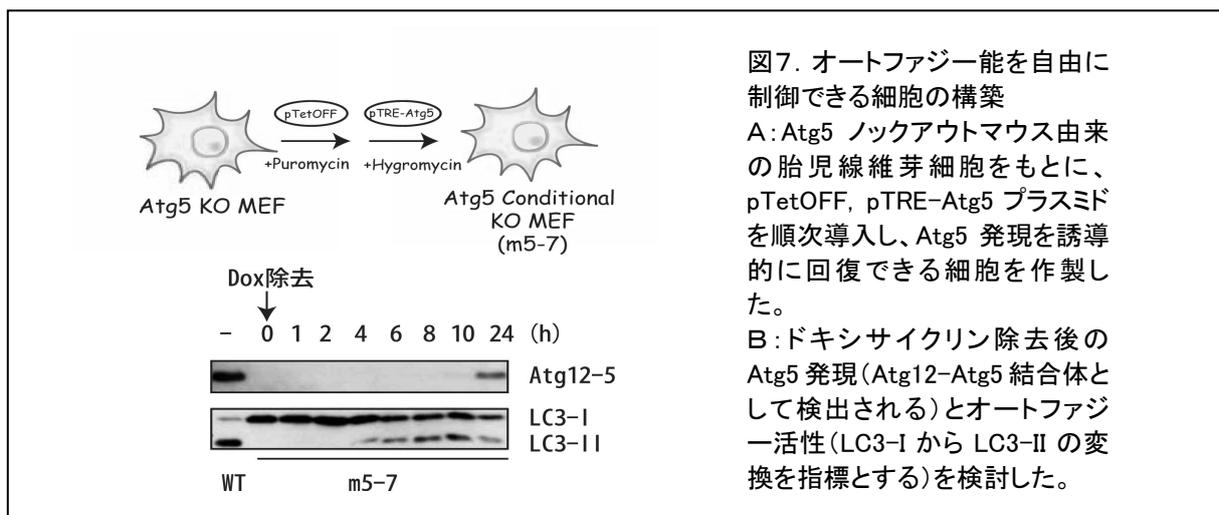
このことは電子顕微鏡観察によっても観察されている。またこの際リソソーム阻害剤 (E64d とペプスタチン) を添加すると、これらの GFP-LC3 のドットの多くはリソソームマーカーと共局在したため、これらは通常速やかに初期胚細胞のリソソームで分解されていると考えられた。

受精から胞胚期までの過程は試験管内でも容易に再現されるが、この際培地にアミノ酸を添加する必要はない。それにもかかわらず卵が正常な胚発生をすることは、この過程の新規タンパク質合成は自己タンパク質分解の結果生じるアミノ酸を利用していることが想定される。従って、この間のタンパク質分解の研究は、単に卵細胞由来因子の除去 (クリアランス) だけではなく、正常発生に必要なタンパク質の合成材料の供給という観点からも重要であると考えられる。

D. 可逆的オートファジー欠損細胞の作製と、細胞の大きさの制御におけるオートファジーの役割

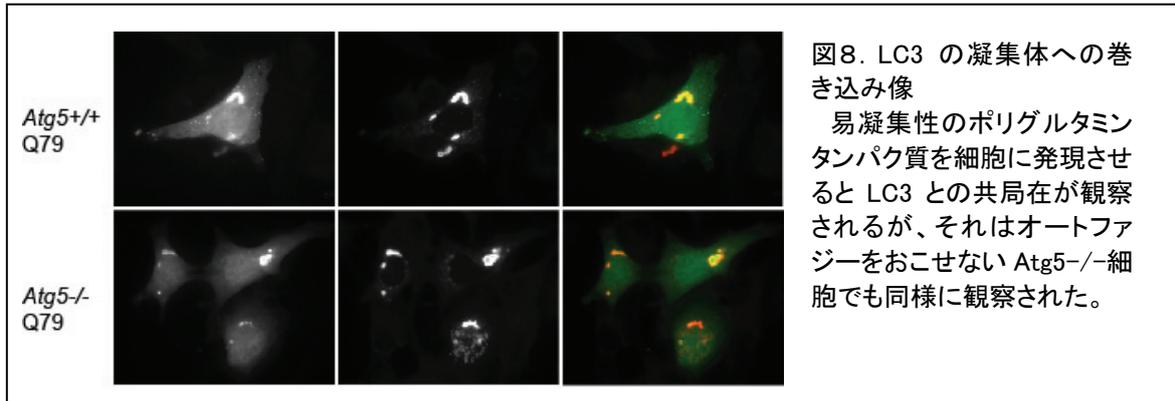
オートファジーの機能を細胞レベルで解析するためには、特異的にオートファジーを阻害する技術が必須である。これまで知られている阻害剤 (3-メチルアデニンなど) は特異性が低い点が問題であった。また最近試みられている RNAi も完全な抑制が困難であり、ノックアウトマウス由来の細胞の使用も常に野生型との比較を必要とするため、時にクローン間の差異が遺伝子型の違いよりも大きくなることがある。そこで、私たちは同一細胞を用いてオートファジー能を自由に制御できる細胞を構築した。これには、Atg5 ノックアウトマウス由来の線維芽細胞を SV40 ウイルスの T 抗原で不死可し、それをもとにテトラサイクリン制御下に Atg5 が再び発現するようなシステムを構築した (図 7)。この細胞では、テトラサイクリン (またはその誘導体であるドキシサイクリン) 存在下では Atg5 の発現は抑制されているが、薬剤除去後速やかに Atg5 発現が回復することが確認された。また、LC3 の脂質修飾を指標にオートファジー活性をモニターすると、ウェスタンブロットでは検出できないレベルの Atg5 でもオートファジー能の回復には十分であることが判明した (図 5)。この細胞を用いることで、同一クローンで非常に厳密にオートファジー能の有無におけるさまざまな細胞機能を解析することが可能となった。

この細胞を用いて、細胞サイズにおけるオートファジーの役割を解析したところ、オートファジーは通常の培地で培養している限り細胞の大きさにはほとんど影響しないが、栄養飢餓による細胞萎縮には正の関与をしていることを明らかとした。



E. オートファジーマーカーである LC3 タンパク質の易凝集性に関する研究

現在多くの研究において LC3 というオートファゴソーム膜タンパク質の挙動でオートファジーの活性が評価されている。特に、細胞内凝集体とこの LC3 が共局在することから、オートファジーが凝集体を特異的に分解しているという仮説がいくつか提唱されている。しかしながら、私たちが注意深く観察したところ、LC3 そのものに凝集体に非特異的に含まれてしまう場合があることに気がついた (図 8)。そこでこの方法の問題点と対応策についてまとめ、論文発表を行った。単に技術的な問題ではあるが、オートファジーの細胞内クリアランス機構を解析する上では留意すべき重要な問題である。



F. 自然免疫におけるオートファジーによる細胞内クリアランスの関与

近年オートファジーによる細胞内クリアランス機構が、内因性タンパク質の抗原提示に関与していることが報告されるようになった。これ以外にも、私たちは Yale 大学の岩崎明子博士らと共同で、一本差 RNA ウイルスである単純ヘルペスウイルスの RNA が、オートファジーによってエンドソーム/リソソームへ輸送され、そこで Toll-like receptor (TLR)7 によって認識されるという新しい自然免疫経路の存在を発見した。

G. 心機能維持におけるオートファジーの役割

神経細胞と同様に心筋も終末分化した細胞であり、その内部の品質管理はとても重要である。また、通常の栄養飢餓時においても心臓でのオートファジー活性は極めて高く、心筋細胞のオートファジー能が高いことが伺える。そこで、大阪大学大津欣也教授との共同研究によって、心におけるオートファジーの役割を解析した。成獣の心臓で Atg5 を欠損させると、それだけで心肥大と心不全が誘導され、この心筋細胞内にはユビキチン化タンパク質の蓄積などが観察されている。よってオートファジーは心臓の恒常性においても重要であることが判明した。しかし、興味深いことに胎生期から Atg5 を欠損させたマウスは正常に成育した。これは長期のオートファジー欠損がなんらかの機序で相補されているためと考えられた。しかし、このマウスに心圧負荷処理を施すと重篤な心不全が引き起こされるため、オートファジーはストレス応答としても重要であると考えられた。

H. 新規オートファジー因子 FIP200 の同定と解析

オートファジーによる細胞内クリアランス活性の調節は非常に大切である。しかしながら、オートファジーの活性がどのように制御されているかについては、いまだ部分的にしか明らかにされていない。そこで、オートファジー制御に重要であると考えられている酵母 Atg1 の哺乳類ホモログである ULK を中心に、オートファジーの制御機構についても解析を進めた。

Atg1 は酵母において、Atg13、Atg17 とともにキナーゼ複合体を形成しており、オートファジーの開始にはそのキナーゼ活性が必須であることが知られている。Atg1 の哺乳類ホモログである ULK1/2 の結合因子として、FIP200 (RB1CC1:RB1 inducible coiled-coil 1)

を同定した。FIP200 は癌抑制遺伝子 RB1 の発現を調節し、癌抑制に働いている約 180kDa のタンパク質であり、RB1 との相互作用以外にも細胞サイズの制御や細胞接着への関与など多機能を有することが報告されている。今回、FIP200 が ULK1/2 と結合することから、FIP200 の新たな機能としてオートファジーへ関与する可能性を考え検討した。

初めに、内因性の FIP200 を認識しうる polyclonal 抗体を作成し、これを用いて FIP200 と内因性 ULK1 との結合を確認した。さらに、FIP200 がオートファジー関連因子 Atg13 の哺乳類ホモログとも結合することが分かり、ULK1 とともに三者複合体を形成していることが考えられた。これらはすべてオートファゴソームを形成する途中段階の隔離膜に特異的に局在することが観察された。

さらに FIP200 のノックアウト細胞を解析したところ、この細胞ではオートファジーの活性が消失していることが明らかとなった (図9)。また、個の細胞では ULK が隔離膜に局在できず、自己リン酸化の程度も低下していた。従って、FIP200 は ULK とともにオートファゴソーム形成過程で必須な働きをする新規オートファジー因子であると結論された。

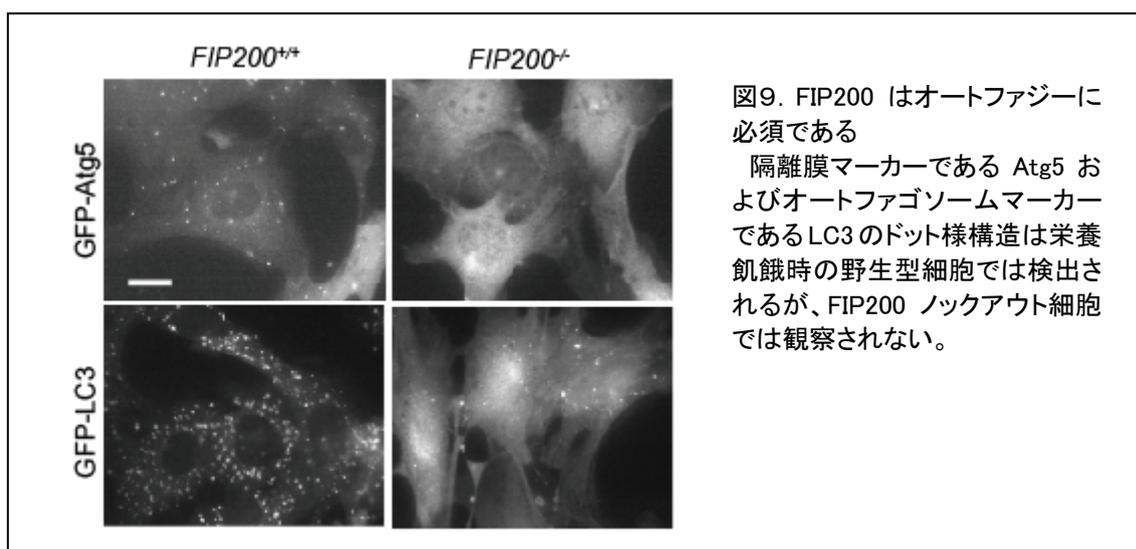


図9. FIP200 はオートファジーに必須である

隔離膜マーカーである Atg5 およびオートファゴソームマーカーである LC3 のドット様構造は栄養飢餓時の野生型細胞では検出されるが、FIP200 ノックアウト細胞では観察されない。

(2) 得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

近年、神経変性疾患の神経細胞でオートファジーが亢進していることを示唆する報告が相次いでいるが、いずれも決定的な証拠を欠いており、かつその意義に至っては不明である。これまでの変性タンパク質の細胞内凝集におけるオートファジーの関与は培養細胞でのみ検討されてきており、ほとんどが 1 - 2 日で完成する一過性高発現系である。しかし、分裂の早い培養細胞を用いた短期間の実験は実際の病態を必ずしも反映しない可能性がある。そこで本研究ではオートファジーの活性を評価しうるマウス、オートファジーの活性が完全に欠損したマウス、さらに活性が低下したマウスなどのさまざまなモデルを用いており、生理的な研究を独自に展開することをめざした。その結果として、オートファジーによる細胞内クリアランスは細胞の恒常性を維持するために必須な細胞内浄化機構であることが明らかとなった。この成果は、神経変性疾患の病態形成の理解に大きく貢献すると考えられる。一方、オートファジーの活性を制御の分子機構の解析はスタートしたばかりであるが、その詳細が明らかにされればこれらの変性疾患の発症遅延などに対する新たな治療ターゲットを提供することも期待される。

オートファジーの多機能性は近年非常に注目されているが、その多くは従来知られていた飢餓適応とは異なるものである。例えば、本課題でも共同研究として行ったような、自然免疫あるいは抗原提示との関わりは、実際の炎症性疾患や自己免疫病の病態形成の理解

や治療法開発にもつながるものである。実際、昨年オートファジー関連因子である Atg16L が炎症性腸疾患であるクローン病の SNP 解析でリスク遺伝子として同定された。クローン病の原因として、腸管上皮細胞の感染がひとつの仮説として提唱されているが、オートファジーによる細胞内細菌のクリアランスと関与する可能性がある。

一方、このような応用的視点とは別に、受精卵の細胞内クリアランスの研究はほぼすべての生物に適応される可能性のある、非常に普遍性の高い法則の発見である可能性がある。遺伝子の適切な転写を制御するのは細胞質をも含めた細胞内タンパク質である。このことはクローン胚作製における細胞質情報の重要性からも明らかである。従って、非常にダイナミックな変化をたどる初期胚発生においては、細胞質タンパク質のプロファイル変化は極めて重要であると言える。本研究は単にタンパク質科学に貢献するのみではなく、ゲノム科学とも大きな接点をもつことになると考えられる。

5. 類似研究の国内外の研究動向・状況と本研究課題の位置づけ

これまでオートファジーといえば、容易に観察される誘導的オートファジーの解析が中心となってきた。今回のテーマである細胞内クリアランスとしての定常的オートファジーの解析は非常に少ない。これは、これまでのオートファジー研究をリードしてきた酵母では定常的オートファジーの重要性が目立たないことや、定常的オートファジーの解析にはオートファジー機能欠損マウスの解析が必須であることなどが理由であると考えられる。したがって、本課題は世界的に見ても独自性の高い研究である。唯一神経系での品質管理の研究が、臨床研田中啓二博士と順天堂大学木南英紀博士の共同グループとマウスの表現型において類似したが、凝集体蓄積のメカニズムについては本研究グループが独自の実験と解釈を行い発表した。その後、共同研究として特異的オートファジーの研究を継続している。

オートファジーの制御機構の解析は世界的にも非常に遅れている。一方、それとは無関係に、低分子化合物のスクリーニングによってオートファジーを活性化あるいは抑制する化合物が取得されつつある。しかしながら、実際のシグナル伝達経路が理解されることが何より重要であると考えられる。本課題ではその第一歩として新規オートファジー因子 FIP200 の同定に成功した。この領域については類似研究はなく、今後のオートファジー制御の研究にあたっては、独自性をもって進めていくことが出来ると考えている。

6. 研究実施体制

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
水島 昇	東京医科歯科大学	教授	研究の総括	平成18年4月～ 平成20年3月
原 太一	東京医科歯科大学	助教	神経特異的 KO マウスの解析。新規オートファジー因子 FIP200 の解析	平成18年4月～ 平成20年3月
久万 亜紀子	東京医科歯科大学	JST 研究員	オートファジーの活性制御と受精卵のクリアランスについての研究	平成18年4月～ 平成19年3月
細川 奈生	東京医科歯科大学	研究補助員(時給制雇用)(大学院生)	実験器具の洗浄、実験動物の飼育・管理 細胞サイズの研究	平成18年4月～ 平成20年3月

7. 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要

(2) 招聘した研究者等

氏名(所属、役職)	招聘の目的	滞在先	滞在期間

8. 発展研究による主な研究成果

(1) 論文発表 (英文論文 17 件 邦文論文 2 件)

原著論文

- Hara, T., Nakamura, K., Matsui, M., Yamamoto, A., Nakahara, Y., Suzuki-Migishima, R., Yokoyama, M., Mishima, K., Saito, I., Okano, H., Mizushima, N. Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. **Nature** 441, 885-889 (2006).
- Hosokawa, N., Hara, Y., Mizushima, N. Generation of cell lines with tetracycline-regulated autophagy and a role for autophagy in controlling cell size. **FEBS Lett.** 580, 2623-2629 (2006).
- Adhami, F., Liao, G., Morozov, Y. M., Schloemer, A., Schmithorst, V. J., Lorenz, J. N., Dunn, R. S., Vorhees, C. V., Wills-Karp, M., Degen, J. L., Davis, R. J., Mizushima, N., Rakic, P., Dardzinski, B. J., Holland, S. K., Sharp, F. R., Kuan, C.-Y. Cerebral ischemia-hypoxia induces intravascular coagulation and autophagy. **Am. J. Pathol.** 169, 566-583 (2006)
- Szeto, J., Kaniuk, N.A., Canadien, V., Nisman, R., Mizushima, N., Yoshimori, T., Bazett-Jones, D.P., Brumell, J.H. ALIS are stress-induced protein storage compartments for substrates of the proteasome and autophagy. **Autophagy** 2, 189-199 (2006).
- Kuma, A., Matsui, M. and Mizushima, N. LC3, an autophagosome marker, can be incorporated into protein aggregates independent of autophagy: Caution in the interpretation of LC3 localization. **Autophagy** 3, (2007) 3:323-328 (2007)
- Lee, H.K., Lund, J.M., Ramanathan, B., Mizushima, N., Iwasaki, A. Autophagy-dependent viral recognition by plasmacytoid dendritic cell. **Science** (2007) 315: 1398-1401 (2007)
- Satoo, K., Suzuki, N.N., Fujioka, Y., Mizushima, N., Ohsumi, Y., Inagaki, F. Crystallization and preliminary crystallographic analysis of human Atg4B-LC3 complex. **Acta Crystallograph. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.** 63:99-102 (2007)
- Pua, H.H., Dzhagalov, I., Chuck, M., Mizushima, N., He, Y-W. A critical role for the autophagy gene Atg5 in T cell survival and proliferation. **J. Exp. Med.** 204:25-31 (2007)
- Alexander, D.E., Ward, S.L., Mizushima, N., Levine, B., Leib, D.A. An analysis of the role of autophagy in replication of herpes simplex virus in cell culture. **J. Virol.** 81:12128-12134 (2007)
- Komatsu, M., Waguri, S., Koike, M., Sou, Y.S., Ueno, T., Hara, T., Mizushima, N., Iwata, J.I., Ezaki, J., Murata, S., Hamazaki, J., Nishito, Y., Iemura, S.I., Natsume, T., Yanagawa, T., Uwayama, J., Warabi, E., Yoshida, H., Ishii, T., Kobayashi, A., Yamamoto, M., Yue, Z., Uchiyama, Y., Kominami, E., Tanaka, K. Homeostatic Levels of p62 Control Cytoplasmic Inclusion Body Formation in Autophagy-Deficient Mice. **Cell** 131:1149-1163 (2007).
- Miller, B.C., Zhao, Z., Stephenson, L.M., Cadwell, K., Pua, H.H., Lee, H.K., Mizushima, N., Iwasaki, A., He, Y.W., Swat, W., Virgin, H.W. The autophagy gene

ATG5 plays an essential role in B lymphocyte development. **Autophagy** 4: (2008)

- Kuma, A., Mizushima, N. Chromosomal mapping of the GFP-LC3 transgene in GFP-LC3 mice. **Autophagy** 4:61-62 (2008)
- Hara, T., Takamura, A., Kishi, C., Iemura, S., Natsume, T., Guan, J.L., Mizushima, N. FIP200, a ULK-interacting protein, is required for autophagosome formation in mammalian cells. **J. Cell Biol.** (2008) in press

英文総説

Mizushima, N. Autophagy: process and function **Genes Dev.** 21: 2861-2873 (2007)

Mizushima, N., Klionsky, D.J. Protein turnover via autophagy: Implications for metabolism. **Annu. Rev. Nutr.** 27:19-39 (2007)

Mizushima, N. The role of mammalian autophagy in protein metabolism **P. JPN Acad. B-Phys.** 82: 39-46 (2007)

Mizushima, N., Hara, T. Intracellular quality control by autophagy: How does autophagy prevent neurodegeneration? **Autophagy** 2, 302-304 (2006)

和文総説

水島昇. 神経細胞内品質管理におけるオートファジーの役割 **臨床神経**
46:885-886 (2006)

原太一、水島昇. 神経細胞内浄化機構としてのオートファジー **細胞工学** 25,
644-645 (2006)

(2) 口頭発表

①学会

国内 11 件, 海外 1 件

②その他

国内 13 件, 海外 5 件

(3) 特許出願 (SORST 研究の成果に関わる特許 (出願人が JST 以外のものを含む))

	件数
国内出願	0
海外出願	0
計	0

(4) その他特記事項

プレス発表

「細胞「自食」で体のゴミ処理」(朝日新聞 平成 18 年 4 月 20 日)

「アルツハイマー病一因 細胞の自食作用が防止」(読売新聞 平成 18 年 4 月 20 日)

「細胞の掃除できず神経性疾患」(毎日新聞 平成 18 年 4 月 20 日)

「異常タンパク質 食べちゃいます 「自食作用」にあらたな働き」(朝日新聞 平成 18年5月26日)

受賞

平成 18年 4月 平成 18年度文部科学大臣表彰若手科学者賞

平成 19年 7月 FEBS Letters Young Scientist Award

平成 20年 3月 第4回日本学術振興会賞受賞

9. 結び

二年間という期間ではありましたが、さきがけプロジェクトと直結していたために効率良く研究を進めることができました。途中、東京都臨床医学総合研究所から東京医科歯科大学への異動のため一部のマウスの飼育が継続できず、長期間の観察を要する研究についてはやむを得ず中断せざるを得ませんでした。その他の部分については概ね目標に近い達成度が得られたと考えています。

私の場合はさきがけ研究の資金を主に利用して研究室を立ち上げたため、多くの設備がJST管理のものであり、それらの移転に際しても大変スムーズに行えた点は大いに助けとなりました。特に、私のように東京都の研究所から国立大学法人への異動のような複雑な場合に強く感じました。さきがけのようなプロジェクトを取得しながら異動する研究者は多いと思われるので、その研究設備がJSTで管理されているということは、研究者にとっては非常に安心できるシステムであると思います。

研究費が受託研究と直接執行に分かれる点は若干複雑で、その意味や違いがやや理解しにくい点もありました。独立前の研究者にとっては直接執行の割合が高い方が独自性を発揮しやすいと思われます。私自身、さきがけ・発展課題でサポートしていただくことで、研究室立ち上げの前後の困難な時期をなんとか乗り越えることができたと考えています。このような若手サポートのシステムがより発展することを期待しております。