

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成24年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	オートファジーの分子機構と生理機能に関する分野横断型研究
研究機関・ 部局・職名	東京大学・大学院医学系研究科・教授
氏名	水島 昇

### 1. 当該年度の研究目的

オートファジーはリソソームを分解の場とする細胞質成分の大規模な分解系である。これまでのオートファゴソームに関わる Atg 因子の遺伝学的階層構造に加え、本年度は時空間的階層構造の解析を行い、オートファゴソーム形成の基本原理の全体像とその形成部位の特殊性を把握する。また、完成されたオートファゴソームとリソソームとの融合機構について解析する。マウスを用いた生理学的解析については、病態モデルとして脱神経を例にとり、筋萎縮におけるオートファジーの誘導状況と意義について明らかにする。一方、これまでの解析が主に Atg5 に依存してきたことを鑑み、他の Atg ノックアウトマウスも作製し、Atg5 ノックアウトマウスで得られた表現型の特異性について検討する。最後に、すでにオートファジーには依存しないことが明らかになった水晶体細胞内の分解について、新規メカニズムの探索を行う。

### 2. 研究の実施状況

Atg 因子は6つの機能的グループに分類され、それらが階層的に働きながらオートファゴソーム形成を司っていると考えられている。今回、それらの時間的相互関係を解析したところ、遺伝学的には上流に位置する FIP200 複合体と下流に位置する Atg16L1 複合体の挙動が非常に類似していることが明らかとなった。さらにこれらの複合体が直接結合していることを見だし、上流因子と下流因子の間の新しい連携およびその結合の意義を報告した。一方、原虫の多くはこれらの Atg 因子の一部だけを保持している。今回マラリア原虫における Atg8 の局在を調べたところ、それはオートファゴソームではなく、アピコプラストというアピコンプレックス門に特異的な細胞内小器官に局在することを見いだした。この結果は、Atg 因子の分子機能を知る上で重要な情報になると考えられる。また、オートファジーの後期ステップとしては、リソソームとの融合に必要なオートファゴソームの SNARE 分子としてシンタキシン 17(Stx17)をはじめて同定した。Stx17 はオートファゴソームの形成中間体には存在しないが、完成したオートファゴソームの外膜に結合するため、なぜリソソームは完成したオートファゴソームとだけ結合できるかを説明することができた。

オートファジーは神経変性抑制に重要であることがマウスの実験から知られていたが、ヒトのデータはこれまで無かった。今回、松本直道、才津浩智両博士(横浜市大)との共同でヒト神経変性疾患(SENDA)の原因遺伝子として *WDR45/WIP14*(酵母 *ATG18* のヒトホモログのひとつ)を同定し、この疾患ではオートファジー活性が減弱していることを示した。その他、脱神経筋でのオートファジー抑制機構、水晶体品質管理におけるオートファジーおよび関連機構の重要性について解析を行った。

## 3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計 12 件
計 19 件	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Morishita, H., Eguchi, S., Kimura, H., Sasaki, J., Sakamaki, Y., Robinson, M.L., Sasaki, T., <u>Mizushima, N.</u> Deletion of autophagy-related 5 (Atg5) and Pik3c3 in the lens causes cataract independent of programmed organelle degradation. <i>J. Biol. Chem.</i> 288:11436–11447 (2013).</li> <li>2. Saito, H., Nishimura, T., Muramatsu, K., Koder, H., Kumada, S., Sugai, K., Kasai-Yoshida, E., Sawaura, N., Nishida, H., Hoshino, A., Ryujin, F., Yoshioka, S., Nishiyama, K., Kondo, Y., Tsurusaki, Y., Nakashima, M., Miyake, N., Arakawa, H., Kato, M., <u>Mizushima, N.</u>, Matsumoto, N. De novo mutations in the autophagy gene encoding WDR45 (WIP14) cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood. <i>Nat. Genet.</i> 45: 445–449 (2013).</li> <li>3. Nishimura, T., Kaizuka, T., Cadwell, K., Sahani, M.H., Saitoh, T., Akira, S., Virgin, H.W. <u>Mizushima, N.</u> FIP200 regulates targeting of Atg16L1 to the isolation membrane. <i>EMBO Rep.</i> 14: 284–291 (2013).</li> <li>4. Quy, P.N., Kuma, A., Pierre, P., <u>Mizushima, N.</u> Proteasome-dependent activation of mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) is essential for autophagy suppression and muscle remodeling following denervation. <i>J. Biol. Chem.</i> 288: 1125–1134 (2013)</li> <li>5. Itakura, E., Kishi-Itakura, C., <u>Mizushima, N.</u> The hairpin-type tail-anchored SNARE syntaxin 17 targets to autophagosomes for fusion with endosomes/lysosomes. <i>Cell</i> 151: 1256–1269 (2012)</li> <li>6. Onoue, K., Jofuku, A., Ban-Ishihara, R., Ishihara, T., Maeda, M., Koshiba, T., Itoh, T., Fukuda, M., Otera, H., Oka, T., Takano, H., Mizushima, N., Mihara, K., Ishihara, N. Fis1 acts as mitochondrial recruitment factor for TBC1D15 that involved in regulation of mitochondrial morphology. <i>J. Cell Sci.</i> 126: 176–185 (2012)</li> <li>7. Imaizumi Y, Okada Y, Akamatsu W, Koike M, Kuzumaki N, Hayakawa H, Nihira T, Kobayashi T, Ohyama M, Sato S, Takanashi M, Funayama M, Hirayama A, Soga T, Hishiki T, Suematsu M, Yagi T, Ito D, Kosakai A, Hayashi K, Shouji M, Nakanishi A, Suzuki N, Mizuno Y, <u>Mizushima N</u>, Amagai M, Uchiyama Y, Mochizuki H, Hattori N, Okano H. Mitochondrial dysfunction associated with increased oxidative stress and alpha-synuclein accumulation in PARK2 iPSC-derived neurons and postmortem brain tissue. <i>Mol. Brain.</i> 5:35 (2012)</li> <li>8. Lin, T.C., Chen, Y.R., Kensicki, E., Li, A.Y., Kong, M., Li, Y., Mohny, R.P., Shen, H.M., Stiles, B., Mizushima, N., Lin, L.I., Ann, D.K. Autophagy: Resetting glutamine-dependent metabolism and oxygen consumption. <i>Autophagy</i> 8: 1477–1493 (2012)</li> <li>9. Kitamura, K., Kishi-Itakura, C., Tsuboi, T., Sato, S., Kita, K., Ohta, N., <u>Mizushima, N.</u> Autophagy-Related Atg8 Localizes to the Apicoplast of the Human Malaria Parasite Plasmodium falciparum. <i>PLoS One</i> 7:e42977 (2012)</li> <li>10. Liu, S., Hartleben, B., Kretz, O., Wiech, T., Igarashi, P., <u>Mizushima, N.</u>, Walz, G., Huber, T.B. Autophagy plays a critical role in kidney tubule maintenance, aging and ischemia-reperfusion injury. <i>Autophagy</i> 8: 826–837 (2012).</li> <li>11. Itakura, E., <u>Mizushima, N.</u> Syntaxin 17: The autophagosomal SNARE. <i>Autophagy</i> Mar 6:9(6). [Epub ahead of print]</li> <li>12. Shpilka, T., <u>Mizushima, N.</u>, Elazar, Z. Ubiquitin-like proteins and autophagy at a glance. <i>J. Cell Sci.</i> 125:2343–2348 (2012).</li> </ol>
	(掲載済み一査読無し) 計 4 件
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 森下英晃、水島昇 生体恒常性維持システムとしてのオートファジー <b>先進医療 NAVIGATOR</b> 79–82 (2013)</li> <li>2. 貝塚剛志、久万亜紀子、水島昇 mTORによるオートファジー制御 <b>細胞工学</b> 31, 1313–1317 (2012)</li> <li>3. 森下英晃、水島昇 オートファジーの制御機構と生理機能 <b>生体の科学</b> 63, 474–477 (2012)</li> <li>4. 森下英晃、水島昇 オートファジーと疾患 <b>Medical Practice</b> 29, 690–691 (2012)</li> </ol>
	(未掲載) 計 3 件
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Koyama-Honda, I., Itakura, E., Fujiwara, T.K., Mizushima, N. Temporal analysis of recruitment of mammalian ATG proteins to the autophagosome formation site. <i>Autophagy</i> in press</li> <li>2. 森下英晃、水島昇 オートファジーとアンチエイジング UPDATE <b>アンチエイジング医学</b> 印刷中</li> <li>3. 吉井紗織、久万亜紀子、水島昇 オートファジーの生理機能 <b>Bio Clinica</b> 印刷中</li> </ol>

会議発表	専門家向け 計 29 件
計 29 件	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 水島昇 “Physiological role and molecular mechanism of autophagy” 第 82 回日本寄生虫学会大会 東京 2013.3.29-30</li> <li>2. 水島昇 「オートファジーの生理的役割と分子メカニズム」 第 155 回日本獣医学会学術集会 東京 2013.3.28-30</li> <li>3. Noboru Mizushima “Molecular Mechanisms of Formation of the Autophagosome and its Fusion with the Lysosome” Keystone Symposium on Autophagy, Inflammation and Immunity Montreal, Canada 2013.2.17-21</li> <li>4. Noboru Mizushima “Molecular mechanism of autophagosome formation and maturation” 第 85 回日本生化学会大会 福岡 2012.12.14-16</li> <li>5. Miyuki Sato, Taichi Hara, Satoshi Tsukamoto, Noboru Mizushima and Ken Sato “Fertilization-triggered autophagy degrades paternal mitochondria in <i>C. elegans</i> early embryos” 第 85 回日本生化学会大会 福岡 2012.12.14-16</li> <li>6. Quy Pham Nguyen、久万亜紀子、Philippe Pierre、水島昇 “Proteasome-dependent activation of mTORC1 is essential for autophagy suppression and muscle remodeling following denervation” 第 85 回日本生化学会大会 福岡 2012.12.14-16</li> <li>7. 内藤貴子、久万亜紀子、水島昇 “Contribution of insulin and amino acids to autophagy regulation in vivo.” 第 85 回日本生化学会大会 福岡 2012.12.14-16</li> <li>8. 森下英晃、江口賢史、木村洋貴、佐々木純子、酒巻有里子、Robinson Michael L、佐々木雄彦、水島昇 “Autophagy-related 5 (Atg5) and Pik3C3 (Vps34) are not essential for the programmed organelle degradation, but important for the quality control and development of the lens, respectively” 第 85 回日本生化学会大会 福岡 2012.12.14-16</li> <li>9. 宇田川理、松永結、宮戸健二、三原勝芳、水島昇、石原直忠 “Analysis of mitochondrial dynamics in ovarian folliculogenesis in mice” 第 85 回日本生化学会大会 福岡 2012.12.14-16</li> <li>10. 尾上健太、水島昇、三原勝芳、石原直忠 “Mammalian Fis1 recruits TBC1D15 to mitochondria that regulates mitochondrial morphology” 第 85 回日本生化学会大会 福岡 2012.12.14-16</li> <li>11. 石原孝也、三原勝芳、水島昇、石原直忠 “The role of mitochondrial fission in muscle tissue” 第 85 回日本生化学会大会 福岡 2012.12.14-16</li> <li>12. 久万亜紀子、吉井紗織、板倉英祐、酒巻有里子、原太一、設楽浩志、江石義信、水島昇 「神経特異的 Atg5 レスキューマウスによるオートファジーの生理機能解析」 第 35 回日本分子生物学会大会 福岡 2012.12.11-14</li> <li>13. 水島昇 「哺乳類オートファジーの代謝生理的役割と分子メカニズム」 第 28 回京都賞記念ワークショップ「オートファジーの 50 年」 京都 2012.11.12</li> <li>14. Noboru Mizushima “ Molecular mechanism of autophagosome formation and maturation” The 6th International Symposium on Autophagy 2012 Okinawa 2012.10.28-11.1</li> <li>15. Hideaki Morishita, Michael L. Robinson, Noboru Mizushima “Autophagy-deficient lens develop age-related cataract” The 6th International Symposium on Autophagy 2012 Okinawa 2012.10.28-11.1</li> <li>16. Taki Nishimura, Takeshi Kaizuka, Ken Cadwell, Sahani Mayurbhai Himatbhai, Tatsuya Saitoh, Shizuo Akira, Herbert W. Virgin, Noboru Mizushima “FIP200 regulates the isolation membrane targeting of Atg16L1” The 6th International Symposium on Autophagy 2012 Okinawa 2012.10.28-11.1</li> <li>17. Ikuko Koyama-Honda, Eisuke Itakura, Takahiro K. Fujiwara, Noboru Mizushima “Temporal Relationships among mammalian Atg proteins for recruitment to the autophagic structures ” The 6th International Symposium on Autophagy 2012 Okinawa 2012.10.28-11.1</li> <li>18. Noboru Mizushima “Autophagy: Its Regulation Mechanism and Selective Substrates” Keystone symposium on Aging Tokyo 2012.10.23-27</li> <li>19. Hideaki Morishita, Michael L. Robinson, Noboru Mizushima “Autophagy-deficient lens develop age-related cataract” Keystone symposium on Aging Tokyo 2012.10.23-27</li> <li>20. Noboru Mizushima “Physiological role of autophagy and its regulation mechanism” The 11th Biennial Meeting of the Asia-Pacific Society for Neurochemistry (APSN) Kobe, 2012.10.1</li> <li>21. Noboru Mizushima “Physiological role of autophagy and its molecular mechanism”</li> </ol>

様式19 別紙1

	<p>Mitochondrial Interest Group Rome Rome, Italy 2012.9.17</p> <p>22. Noboru Mizushima. “Autophagosome formation site and recruitment of selective substrates.” The 20th Euroconference on Apoptosis Rome, Italy 2012.9.14-17</p> <p>23. Noboru Mizushima “Autophagosome formation site and recruitment of selective substrates” The 14th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry Kyoto 2012.8.27</p> <p>24. 水島昇「オートファジー：細胞質からリソソームへ」第8回日本ファブリー病フォーラム 東京 2012.7.22</p> <p>25. 水島昇「オートファジーの生理的役割と選択的基質分解」第18回成人病の病因・病態の解明に関する研究会 大阪 2012.7.7-8</p> <p>26. 水島昇「オートファジーの分子機構、病態生理との関連」“未来へのバイオ技術”勉強会「オートファジー研究－基礎から疾患に挑戦する」東京 2012.7.5</p> <p>27. 水島昇「オートファジーの生理的役割」第17回東京肝臓シンポジウム 東京 2012.6.18</p> <p>28. Noboru Mizushima “Molecular mechanism of autophagosome formation and maturation” 第64回日本細胞生物学会年会 Kobe 2012.5.28-30</p> <p>29. Noboru Mizushima “Physiological role of autophagy and its regulation mechanism” 2012 Asia-Pacific Diabete and Obesity Meeting Seoul, Korea 2012.4.20-21</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書</p> <p>計1件</p>	<p>水島昇、吉森保 編「オートファジー：生命をささえる細胞の自己分解システム (DOJIN BIOSCIENCE SERIES)」化学同人 (2013)</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み)計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p><a href="http://www.cellcycle.m.u-tokyo.ac.jp/">http://www.cellcycle.m.u-tokyo.ac.jp/</a></p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>水島昇、夏休み自由学習(高校生) 講演「基礎医学研究について」東京医科歯科大学、参加者数約10名 (2012/7/12)</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載</p> <p>計2件</p>	<p>2012年12月21日 科学新聞 6面 「細胞内分解オートファジーの鍵分子発見」</p> <p>2012年12月18日 毎日新聞 20面 「不要たんぱく質の分解 仕組み解明」</p>
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	139,000,000	45,000,000	45,000,000	49,000,000	0
間接経費	41,700,000	13,500,000	13,500,000	14,700,000	0
合計	180,700,000	58,500,000	58,500,000	63,700,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	8,183,271	45,000,000	0	53,183,271	49,806,332	3,376,939	0
間接経費	2,454,964	13,500,000	0	15,954,964	12,124,964	3,830,000	0
合計	10,638,235	58,500,000	0	69,138,235	61,931,296	7,206,939	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	29,513,924	実験試薬、実験動物、実験器具類等
旅費	1,175,500	研究成果発表旅費(日本生化学会)等
謝金・人件費等	6,787,285	事務補佐員人件費、技術補佐員人件費
その他	12,329,623	動物施設利用料、シーケンス解析料等
直接経費計	49,806,332	
間接経費計	12,124,964	
合計	61,931,296	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
シリコン浸対物レンズ 30倍	オリンパス UPLSAP030XS	1	945,000	945,000	2012/9/25	東京大学(東京 医科歯科大学か ら移管)
フレークアイスメー カー	ホシザキ社製	1	624,960	624,960	2013/1/18	東京大学
高圧蒸気滅菌器	平山製作所社製	1	1,659,000	1,659,000	2013/2/15	東京大学
グラジェント・ステー ション	エスケーバイオイ ンターナショナル	1	2,973,915	2,973,915	2013/3/5	東京大学
フィードバック式加 温チャンバー	東海ヒット社製	1	1,776,600	1,776,600	2013/3/15	東京大学
バイオミニ紫外吸 収モニター	アトー社製	1	565,110	565,110	2013/3/26	東京大学
冷却CCDカメラ	モレキュラーデバ イスジャパン社製	1	2,835,000	2,835,000	2013/3/27	東京大学
純水製造装置	メルクミリポア社 製	1	2,786,700	2,786,700	2013/3/29	東京大学