

平成29年度 日中韓フォーサイト事業 中間評価資料(進捗状況報告書)

1. 概要

研究交流課題名 (和文)	オートファジー、代謝と神経変性疾患		
日本側拠点機関名	新潟大学		
研究代表者 所属部局・職名・氏名	医歯学系・教授・小松 雅明		
相手国側	国名	拠点機関名	研究代表者 所属部局・職名・氏名
	中国	中国科学院	Institute of Biophysics・Investigator・ Hong ZHANG
	韓国	延世大学	Avison Biomedical Research Center・ Professor・Myung-Shik LEE

2. 研究交流目標

申請時に計画した目標と現時点における達成度について記入してください。

○申請時の研究交流目標

オートファジーは、細胞内の分解オルガネラであるリソソームにおいて細胞内成分を分解する機構である。オートファジーは小胞体ないしはその近傍の構造体から出現した構造体（隔離膜）が伸長して細胞質成分を取り囲んだオートファゴソームが形成される過程と、生じたオートファゴソームがエンドソームないしはリソソームと融合し内容物を消化する2つの過程から構成されている。オートファジーは栄養飢餓に応じて著しく誘導され、細胞質成分の分解を介しアミノ酸、脂肪酸や糖質を供給する。一方、基底レベルで起こっているオートファジーは、細胞質タンパク質や細胞内小器官の新陳代謝を担い、細胞の恒常性維持に不可欠である。事実、オートファジーの障害は神経変性疾患、代謝疾患や腫瘍形成を引き起こす。しかし、その分子メカニズムは未解決問題が多く、オートファジーに関わる研究を分子から個体まで包括的に推進する必要があった。また、ヒト病態発症に関わるオートファジー関連遺伝子の多くは高等動物にのみ存在、あるいは多様性を有しており、進化の過程でオートファジーが複雑かつ高次の機能を獲得してきたことを意味する。

本研究課題では、日中韓のそれぞれの研究室が持つ独自の研究手法や特色を生かし、「高等動物特異的な新規オートファジー必須遺伝子を同定し、その異常による疾患、特に神経変性疾患、代謝疾患やがんの病態発症機構の解明」を目指す。また、オートファジー分析は勿論のこと、新規遺伝子スクリーニング、超微形態解析、網羅的遺伝子発現解析、網羅的代謝物解析等の共同研究体制も構築する。さらに、国際的に活躍できる人材育成のため、若手研究者の相互訪問および多彩な専門分野のシニア研究者による研究指導にも力を入れ、将来にわたる3カ国間の継続的交流発展を目指す。

○目標に対する達成度

上記目標に対する2年分の計画について

- 研究交流目標は十分に達成された。
- 研究交流目標は概ね達成された。
- 研究交流目標はある程度達成された。
- 研究交流目標はほとんど達成されなかった。

【理由】

1. 複数の研究課題における共同研究体制の構築と成果

- ① 韓国拠点との共同研究により、ヒト肝細胞がん細胞において p62/Sqstm1 がユビキチンリガーゼアダプタータンパク質 Keap1 を不活性化し、Keap1 のターゲットであるストレス応答性転写因子 Nrf2 を活性化すること、この Nrf2 の恒常的活性化が糖、アミノ酸の代謝再編成（グルクロン酸経路およびグルタチオン合成の亢進）を引き起こし、肝細胞がん細胞に増殖能、抗がん剤耐性能を付与することを見出し、論文報告した(Saito et al., *Nat Commun.*, 2016)。
- ② 韓国協力機関により開発されたオートファジーをモニターするプローブ (Lee YK et al., *EMBO J*, 2017) やオートファジーに関与する新規遺伝子（未発表データ）の条件付き遺伝子ノックアウトマウスの開発を日本拠点機関が支援することが決定し、推進している。
- ③ 高等動物特異的なコア *Atg* 遺伝子改変マウスの作成を完了し、その表現型解析を中国拠点と共同で行っている。
- ④ 日本拠点機関が進めているリソソーム膜に局在する 12 回膜貫通タンパク質 X の線虫ホモログの機能解析を中国拠点機関と推進する。

2. 人材育成

若手研究者が司会、進行を務める Japan-Korea Joint Young Investigator Conference (A3)（平成 27 年度）、A3 Autophagy Meeting 2017（平成 28 年度）の開催をはじめ、若手研究者の英語による討議の場を提供してきた。さらに、東京工業大学の 大隅良典教授や延世大学の Sue Goo Rhee 教授をはじめ国内外の著名な研究者との交流の機会も提供してきた。さらに、オートファジー以外の著名な専門家を講師とした特別講演を開催し、研究視野の拡大に努めてきた。

3. これまでの研究交流活動の進捗状況

(1)これまで(平成29年7月末まで)の研究交流活動について、「共同研究」、「セミナー」及び「研究者交流」の交流の形態ごとに、派遣及び受入の概要を記入してください。※過去2年度における派遣及び受入実績については、「中間評価資料(経費関係調書)」に記入してください。

○共同研究

【概要】

本研究課題では、日中韓のそれぞれの研究室が持つ独自の研究手法や特色を生かし、「高等動物特異的な新規オートファジー必須遺伝子を同定し、その異常による疾患、特に神経変性疾患、代謝疾患やがんの病態発症機構の解明」、さらにオートファジー分析は勿論のこと、新規遺伝子スクリーニング、超微形態解析、網羅的遺伝子発現解析、網羅的代謝物解析等の共同研究体制も構築することを目的にする。具体的には、以下の研究課題について共同研究を展開してきた。

- ① 代謝が専門である韓国拠点との共同研究により肝障害、肝腫瘍を引き起こすオートファジー関連遺伝子改変マウスの網羅的遺伝子発現、網羅的代謝物解析を行い、ヒト肝細胞がんをはじめとしたヒト疾患との関連を検証してきた。その一部は、昨年論文報告した(Saito et al., *Nat Commun.*, 2016)。
- ② 韓国協力機関により開発されたオートファジーをモニターするプローブ (Lee YK et al., *EMBO J* 2017) のノックインマウスの開発を日本拠点機関が支援し、共同で表現型解析を推進する。すでにプローブに蛍光タンパク質を融合させたモニターマウスが完成した。
- ③ 韓国協力機関が解析を進めてきたオートファジーに関与する分子の条件付き遺伝子ノックアウトマウスの作出を日本拠点機関が支援し、表現型解析を共同で行う。現在、組換え ES 体を選定中である。
- ④ 高等動物特異的なオートファジー関連因子の遺伝子改変マウスを作成し、その表現型解析に関連するコア *Atg* 遺伝子欠損マウスの解析を行ってきた中国拠点と共同で行う。遺伝子改変マウスの作出は完了し、現在は表現型解析を行っている。
- ⑤ 日本拠点機関が進めてきたリソソーム膜に局在する12回膜貫通タンパク質Xの線虫ホモログの機能解析を線虫の遺伝学が専門である中国拠点機関と推進する。Xノックアウト細胞、臓器特異的 X欠損マウスの作出は完了し、現在は生化学的解析と表現型解析を進めている。

○セミナー

	平成27年度	平成28年度	平成29年度(7月末まで)
国内開催	1回	1回	0回
海外開催	1回	2回	0回
合計	2回	3回	0回

【概要】

現在までに、平成27年度に韓国 ソウルおよび日本 新潟で、平成28年度に中国 北京、韓国 ソウル、日本 福島で開催してきた。このうち4回は大学院生、ポスドク、助教を中心とした若手研究者育成の一環として、若手研究者の口頭発表の機会を設けた。また、豊富な経験・知識と深い洞察力を持つ著名研究者を招聘し、研究視野の拡大に努めた。各セミナーの詳細は下記を参照いただきたい。

(平成27年度)

国内開催：

(S-2) H28.2.18, Joint Japan-Korea Young Investigator Conference on Autophagy (A3) (日韓研究報告会／若手カンファレンス)、於 日本・新潟・新潟医療人育成センター

・発表、進行共に、日韓の若手研究者が行った。また、本会にはシニア研究者にもオーディエンスとして参

加頂いており、特別講演（2題）のほか、大学院生、ポスドクをはじめとした若手に対する英語での質疑や研究の進め方についてご教授頂くなど若手研究者の育成に貢献できた。セミナー後は、シニア研究者間での討議、共同研究の打ち合わせが行われた。

海外開催：

(S-1) H27. 10. 28～H27. 10. 30、JSPS A3 Foresight Program “Autophagy, metabolism and neurodegeneration”（日本学術振興会日中韓フォーサイト事業「オートファジー、代謝と神経変性疾患」）、於 韓国・ソウル・延世大学

- ・韓国拠点代表の Dr. Myung-Shik LEE 主催による。日韓の拠点機関、協力機関の研究者だけでなく、Dr. Yong Tae KWON（ソウル国立大学）をはじめとした著名な韓国の研究者による講演や、レドックス分野の権威である Dr. Sue Goo RHEE（延世大学）より共同研究について助言を頂いた。これを機に、韓国協力機関によるオートファジーをモニターするプローブの作成、日本協力機関によるそのプローブの個体レベルでの応用など、新たな共同研究が開始された。

（平成28年度）

国内開催：

(S-4) H29. 3. 10、JSPS A3 Foresight Program “ A3 Japan Autophagy Seminar 2017 “（日本学術振興会日中韓フォーサイト事業「A3 日本オートファジー合同セミナー2017」）、於 日本・福島・ザ セレクトン福島

- ・平成27年度に採用された2つの課題（代表 大阪大学大学院医学系研究科 吉森保教授と代表 新潟大学医歯学系 小松雅明）の合同セミナーとして開催することで、より大きな枠組みで共同研究体制を構築し、本邦、そしてアジアのオートファジー研究をさらに確固たるものにするため、吉森グループとの研究交流を図った。また、これまでのカンファレンスではポスドク・助教クラスの育成が中心であったが、より若い大学院生を中心としたプログラムを編成して大学院生の育成を行ったほか、豊富な経験・知識と深い洞察力を持つ著名研究者による講演を通して、若手研究者にオートファジー研究の歴史、重要性を理解させるとともに、新たな研究手法を用いたこれからの研究展開を考えさせた。

海外開催：

(S-1) H28. 4. 24～H28. 4. 25、JSPS A3 Foresight Program “ Sino-Japan Symposium on Autophagy, 2016 “（日本学術振興会日中韓フォーサイト事業「中日オートファジーシンポジウム 2016」）、於 中国・北京・中国科学院生物物理研究所

- ・中国拠点機関の代表である Hong ZHANG、Li YU と平成27年度に採用された2つの課題（大阪大学：吉森教授、新潟大学：小松）の合同セミナーとして開催。日中の本格的な共同研究体制の構築がなされたほか、日中の若手研究者と大隅良典教授をはじめとした著名なシニア研究者との交流が行われ、若手研究者の育成がなされた。

(S-3) H29. 2. 20、JSPS A3 Foresight Program “ A3 Autophagy Meeting 2017 “（日本学術振興会日中韓フォーサイト事業「A3 韓日中オートファジーミーティング 2017」）、於 韓国・ソウル・ソウル国立大学

- ・実際に実験を行っているポスドクや助教自身がデータについてプレゼンテーションを行い、その後に質疑を受けることで、自身の研究における重要なポイント、欠けているポイントが客観的に明確となり、若手研究者の育成に繋がった。また、共同研究の進捗状況（特に日本拠点による遺伝子改変マウスの作成状況とそれを利用した研究方法）が提示され、今後の研究方針が決定した。

○研究者交流

【概要】

本事業で行うセミナー以外では、著名なオートファジー研究者が集結し、最先端の研究データを発表する国際シンポジウム（Keystone Symposia や International Symposium on Autophagy）や国内のオートファジー研究者が集結するオートファジー研究会を中心に本課題に参加する研究者を派遣し、情報収集と研究者交流を行ってきた。詳細は下記を参照していただきたい。

（平成27年度）

- ・ H27. 11. 15～H27. 11. 18、第9回オートファジー研究会、於 兵庫県（7名派遣）

（平成28年度）

- ・ H28. 6. 5～H28. 6. 9、Keystone Symposia、講演・ポスター発表及び情報収集、於 カナダ（2名派遣）
- ・ H28. 11. 13～H28. 11. 16、第10回オートファジー研究会、於 新潟県（14名派遣）
- ・ H28. 11. 30～H28. 12. 2、第68回日本分子生物学会、於 京都（1名派遣）

（平成29年度－平成29年7月末日まで）

- ・ H29. 5. 29～H29. 6. 1、奈良・8th International Symposium on Autophagy、オートファジーの分子メカニズム、病態生理に関する情報収集など、於 奈良（20名派遣）

(2) (1)の研究交流活動を通じて申請時の計画がどの程度進展したかを「学術的側面」「若手研究者の育成」及び「日中韓における継続的な研究拠点の構築」の観点から記入してください。

○学術的側面

下記の各共同研究計画について進展状況を記載する。いずれも順調に進捗しており、継続的な共同研究が期待される。

オートファジー関連遺伝子改変マウスの網羅的遺伝子発現、網羅的代謝物解析 (日韓)

ヒト肝細胞がん細胞において p62/Sqstm1 がユビキチンリガーゼアダプタータンパク質 Keap1 を不活性化し、Keap1 のターゲットであるストレス応答性転写因子 Nrf2 を活性化すること、この Nrf2 の恒常的活性化が糖、アミノ酸の代謝再編成（グルクロン酸経路およびグルタチオン合成の亢進）を引き起こし、肝細胞がん細胞に増殖能、抗がん剤耐性能を付与することを見出し、論文報告した (Saito et al., *Nat. Commun.*, 2016)。さらに、オートファジー欠損マウス肝臓を用いた網羅的なリピドーム、遺伝子発現解析から、選択的オートファジーによる脂肪酸酸化制御機構の存在を見つけた。現在、その分子メカニズムおよびその異常とヒト疾患との関連の解明を進めている。

オートファジーをモニターするプローブのノックインマウスの開発と表現型解析 (日韓)

生体においてオートファジー活性を評価する次世代マウスの開発を行う。具体的には、韓国協力機関が開発したオートファジー活性測定人工プローブ HyD-LIR(TP)-venus ないしは Luc (Lee YK et al., *EMBO J* 2017) を、Cre リコンビナーゼによる組換え依存的に CAG プロモーターで発現するように ROSA26 ローカスに組み込む。HyD-LIR(TP)-Venus あるいは Luc KI マウスは世界で初めてマウスのライフコース全般あるいは疾患発症過程におけるオートファジーの動態を明らかにできるマウスである。すでに、日本拠点グループにより HyD-LIR(TP)-Venus KI マウスは作製済みであり、韓国協力機関との本格的な共同研究を開始する。

オートファジーに関与する分子の条件付き遺伝子ノックアウトマウスの作出と表現型解析 (日韓)

韓国協力機関が解析を進めてきた複数のオートファジーに関与する分子の条件付き遺伝子ノックアウトマウスの作製を日本拠点が支援する。現在、ターゲティングベクターの構築が終了し、ES 細胞の組換え体の選別を行っている。

高等動物特異的なオートファジー関連因子の遺伝子改変マウスの表現型解析 (日中)

コア *Atg* 遺伝子のうち高等動物において多様性を獲得した遺伝子のノックアウトマウスを作成し、中国拠点との共同研究で表現型解析を進める。すでにノックアウトマウスを作成したところ、驚いたことに今まで報告されてきたコア *Atg* 遺伝子ノックアウトマウスのいずれとも異なる表現型を呈し、胚性致死となることが判明した。これは、多様性を獲得したこのコア *Atg* 遺伝子産物が新たな機能を獲得したことを意味する。今後、中国拠点と詳細な解析を進める。

リソソーム膜局在 12 回膜貫通タンパク質 X の機能解析 (日中)

本研究プロジェクトにおいて、全身性 X ノックアウトマウスが胚性致死となること、神経特異的 X 欠損マウスが強直間代発作をはじめとした重篤な神経症状を呈して生後 4 週間以内に死亡することを見出した。X は糖輸送体と考えられてきたが、日本拠点機関の解析から、糖ではない物質 Y を輸送するトランスポーターであることが強く示唆されている。本共同研究では、X ノックアウト細胞、X 欠失変異線虫および臓器特異的 X 欠損マウスを用い、X の細胞機能を明らかにする。

○若手研究者の育成

現在まで 5 回のセミナーを開催してきたが、そのうち 4 回は大学院生、ポスドク、助教を中心とした若手研究者育成の一環として、若手研究者の口頭発表の機会を設けた。また、豊富な経験・知識と深い洞察力を持つ

東京工業大学の大隅良典教授や延世大学の Sue Goo Rhee 教授らを招聘し、若手研究者との交流の機会を提供した。さらに、新潟大学の南野徹教授、東京都医学総合研究所の反町洋之博士をはじめ異分野の研究者による特別講演を開催した。これらのことは「今後の国際学会での発表や海外研究機関でのキャリアパスに必要なセンスを感じ取れる」、「独創的な科学とは何かを知る」、そして「研究視野の拡大に繋がる」機会となったと考えられる。

当初より本事業に参加してきた大学院生の石村亮輔、特任助教の齊藤哲也は、平成 29 年度より日本学術振興会特別研究員となり、引き続きオートファジー研究分野での一層の活躍が期待される。

○日中韓における継続的な研究拠点の構築

本計画の特色は、現在、国内外で未曾有の発展を遂げているオートファジー研究の中でも、これまでの日本、韓国、そして中国拠点研究者らの遺伝子改変モデルを利用したオートファジーの機能、病態生理学的解析の研究実績を基軸に「高等動物特異的な新規オートファジー必須遺伝子の同定、オートファジーの異常による疾患、特に神経変性疾患、代謝疾患やがんの病態発症機構の解明」を目指した先駆的研究を展開することにある。本事業により開始した研究課題はいずれも遺伝子改変マウスを利用した比較的長いスパンの研究課題であることから、今後より深い共同研究体制が構築されると考えている。オートファジーの重要性は、今日、生命科学の隅々に幅広く浸透しているが、生命活動における役割については、なお未解明な謎が山積しており、本事業はそれらの謎の解明に向けても邁進する。残りの期間では、研究拠点を引き継いでいける若手、中堅の育成も行っていく。

拠点機関は、日本海側で唯一の政令指定都市・新潟という、中国、韓国、極東ロシア、モンゴルなどの東アジア地域を目前に据えた地域に生きる大規模総合大学であり、そのロケーションを強く意識しながら、教育と研究及び社会貢献を通じて、世界と日本の平和と発展に寄与することを大学の第 3 期中期目標に据えている。実際、中国および韓国の多数の大学と大学間交流協定、学生交換協定を締結し、教育、研究を推進してきた。本事業を遂行することにより、新潟大学を中心に中国、韓国との新たな交流、人材育成、そして共同研究の継続的な拠点形成を目指す。また、今後の研究方針を詳細に討議し、拠点形成に必要な Human Frontier Science Program をはじめとした国際グラントの獲得を目指す。

4. 事業の実施体制

本事業を実施する上での「日本側拠点機関の実施体制」、「中国・韓国の拠点機関との協力体制」及び、「日本側拠点機関の事務支援体制」について記入してください。

○日本側拠点機関の実施体制（拠点機関としての役割・国内の協力機関との協力体制等）

新潟大学が日本の拠点となり、共同研究、国内でのセミナー、交流活動全般の取りまとめ、運用を行なった。海外で行うセミナーには日本側の代表として拠点機関のスタッフ、協力機関のスタッフ（特に、東京大学の水島昇教授、福島県立医科大学の和栗聡教授グループ）が参加した。拠点機関の崎村建司教授のグループによる遺伝子改変マウスの作成が、国内外の共同研究体制に大きく貢献した。国内の協力機関との打ち合わせは、国内でのセミナーやオートファジー研究会において行なっている。

○中国・韓国の拠点機関との協力体制（各国の役割分担・ネットワーク構築状況等）

本拠点形成事業では、海外研究者との共同研究、セミナー、研究者交流が主な活動となっており、ホスト国が日程、場所等を主導的にアレンジすることで三カ国が合意している。韓国では、延世大学の Myung-Shik LEE 教授、ソウル国立大学の Yong-Keun JUNG 教授、そして韓南大学の Jin-A LEE 教授が協力しセミナー、交流活動全般の取りまとめ、運用を行なった。中国では、拠点機関の Hong ZHANG 博士がセミナー、交流活動全般の取りまとめ、運用を行なった。

○日本側拠点機関の事務支援体制（拠点機関全体としての事務運営・支援体制等）

本事業にかかる日本学術振興会と新潟大学の窓口となる「日本側支援事務総括部・課」は研究企画推進部研究推進課であり、研究推進課長を事務責任者、研究資金係長を事務担当者としてその任にあたり、実施計画書・報告書等の書類の作成・提出に際し、機関内の取り纏めを行っている。

委託費の執行に係る事務担当は、研究代表者の所属部局である医歯学系の事務部総務課（主に庶務係、会計係、学系研究支援係）であり、研究者の出張・招聘手続きや物品調達等の実務を行っている。

研究代表者又は部局事務担当者において、委託費の執行に関する質問や不明な点が生じた場合は、前述の研究推進課研究資金係長へメール・電話で照会することとなっている。研究資金係長は質問等の内容に応じて、大学の会計規則を掌る財務部財務企画課会計法規係へ確認をとるなどして見解を纏め、判断が適正であるかどうかを振興会担当課へ判断を仰ぎ、その結果を研究代表者又は部局事務担当者に連絡している。このように、振興会と大学事務総括（窓口）、研究代表者ならびに部局事務担当（及び会計法規担当）の間において適切な情報共有がなされる体制となっている。