

p62/SQSTM1：オートファジーにおけるその役割

一村 義信, 小松 雅明

p62/SQSTM1はユビキチン鎖を認識して特異的なタンパク質や細胞小器官（オルガネラ）をオートファジーへと導く受容体タンパク質である。p62/SQSTM1の機能解析によりオートファゴソーム局在タンパク質LC3との直接相互作用やLIRと呼ばれるLC3との相互作用領域などが明らかになり、現在の受容体タンパク質としての基本的条件が確立された。また、ユビキチン鎖との結合により相分離することや、p62/SQSTM1依存的な選択的オートファジーと連動した酸化ストレス応答システムKeap1-Nrf2経路の活性化機構が明らかになった。さらに、p62/SQSTM1の過剰蓄積が肝特異的オートファジー欠損マウスの肝障害や肝腫瘍の原因となることが遺伝学的に証明された。現在までに多数の受容体タンパク質が同定されているが、p62/SQSTM1はその分子動態や細胞制御の点からオートファジー分野において最も注目されている分子の一つである。

1. はじめに

p62/SQSTM1（以降はp62と省略）タンパク質をコードするSQSTM1遺伝子は後生動物（植物ではp62とNbr1のハイブリッド型が存在）に保存され、その発現は酸化ストレス、炎症性ストレス、代謝ストレスにより活性化されるNrf2, NF- κ BおよびMiT/TFEなどの転写因子により制御される¹⁻³。p62は、N末端のPhox1およびBem1pドメイン（Phox1 and Bem1p：PB1）、ジンクフィンガー（Zinc finger：ZZ）、TRAF6結合モチーフ（TRAF6-binding domain：TB）、LC3相互作用領域（LC3-interacting region：LIR）、Keap1相互作用領域（Keap1-interacting region：KIR）、およびC末端のユビキチン会合ドメイン（ubiquitin-associated：UBA）といった多数のドメインを有するタンパク質である（図1）。少なくともマウスにおいては、pre-mRNAのスプライシングによりKIRを欠いたp62バリエーションの発現も認められる⁴。通常、大部分のp62は細胞質や核に散在性に局在するが、一部斑点様構造体として観察される⁵。

p62の半減期は10時間程度であり、特殊な条件下を除いてオートファジー依存的に分解される⁶。本稿では、p62と選択的オートファジーの関連を中心に解説する。シグナル伝達ハブとしてのp62の機能あるいはp62とヒト疾患との関連については他稿を参照いただきたい^{7,8}。

2. 選択的オートファジー

オートファジーは、細胞成分のリソソームまたは液胞での分解と定義される。その様式の違いからマクロオートファジー、ミクロオートファジー、そして膜透過型オートファジーなどに分けられる。そのうちの一つ、マクロオートファジー（以降は単にオートファジーとする）は、小胞体ないしはその近傍の構造体から出現した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二つの過程から構成されている。15のコアATG遺伝子産物が協調的、連続的に働くことでオートファゴソームが形成される⁹（図2A）。

栄養飢餓誘導型のオートファジーでは無作為に細胞質成分を分解すると考えられている一方、ある状況下では特定の積み荷（カーゴ）をオートファゴソームが選択的に取り囲み、分解する。後者は選択的オートファジーと呼ばれ、特定の可溶性タンパク質、タンパク質凝集体、不要なオルガネラ、病原性細菌を分解することで細胞の恒常性維持に貢献している¹⁰。通常のオートファジーと選択的オートファジーにおけるオートファゴソーム膜形成の分

順天堂大学医学部生理学第二講座（〒113-8421 東京都文京区本郷2-1-1）

Roles of p62/SQSTM1 in selective autophagy

Yoshinobu Ichimura and Masaaki Komatsu (Department of Physiology, Juntendo University Graduate School of Medicine, Hongo 2-1-1, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8421, Japan)

本論文の図版はモノクロ（冊子版）およびカラー（電子版）で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910380

© 2019 公益社団法人日本生化学会

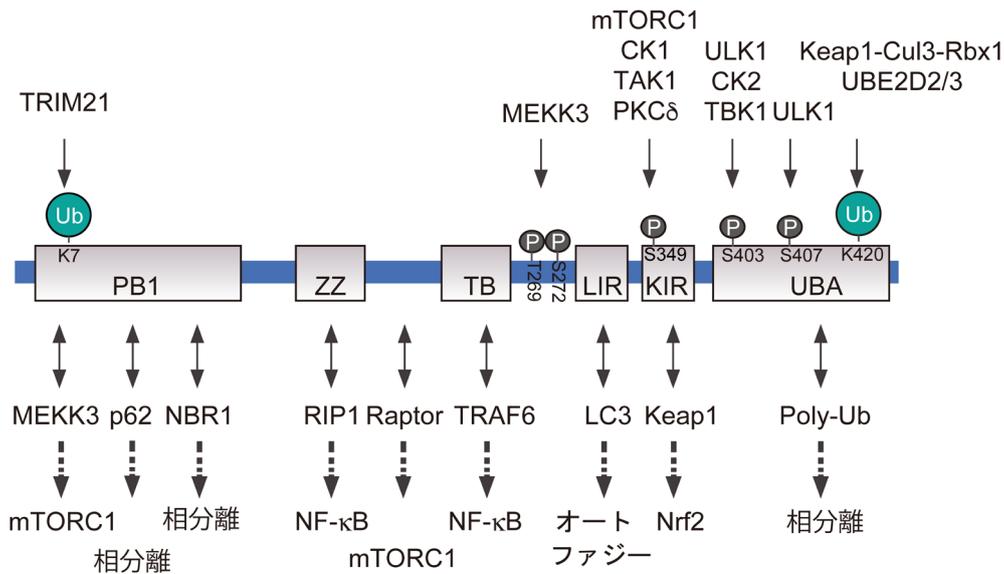


図1 p62のドメイン構造

PB1: Phox1 and Bem1p ドメイン, ZZ: ジンクフィンガー, TB: TRAF6 結合ドメイン, LIR: LC3 相互作用領域, KIR: Keap1 相互作用領域, UBA: ユビキチン会合ドメイン. 上側には, p62 の機能制御に関与するリン酸化部位とそのリン酸化酵素, およびユビキチン化部位とそのE3リガーゼを示している. また, 下側には, それぞれのドメインと相互作用するタンパク質とその制御機構を示している.

子機構は共通であると考えられるが, 選択的オートファジーではストレスに応じた「各カーゴの標識」や「受容体タンパク質」により選択性が担保される。「各カーゴの標識」とは, カーゴのユビキチン化や受容体タンパク質のカーゴへの局在化を意味する. 一方, 「受容体タンパク質」は, カーゴとオートファゴソーム局在タンパク質LC3ないしはGABARAPファミリーに結合するタンパク質群を指す. 受容体タンパク質は, カーゴのユビキチン鎖を認識するユビキチン結合型受容体タンパク質と分解カーゴ上に局在するカーゴ局在型受容体タンパク質の二つに分けられる(図2B, 表1). いずれのタイプの受容体タンパク質もLIRを有しており, オートファゴソーム膜に局在するLC3ないしはGABARAPファミリーに, あるいは両ファミリーに直接結合する(表1). LIRの翻訳後修飾による制御も存在する. 細胞内侵入細菌やミトコンドリアの受容体タンパク質であるOptineurinやNix/Bnip3Lは, LIRの直前に存在するセリン残基のリン酸化によりLC3との相互作用が増強する^{11, 12}. また, LC3ないしはGABARAPに特異的に結合する受容体タンパク質も同定されており¹³, LC3のホモログに使い分けがあることもわかってきた. しかし, 哺乳動物Atg8ホモログをすべて欠損したHeLa細胞においても, 脱分極したミトコンドリアをオートファゴソームが隔離する像が観察されている¹⁴. このことは, 少なくともマイトファジーにおいては受容体タンパク質群とLC3ないしはGABARAPとの相互作用は必須でないことを意味する. 受容体タンパク質はオートファゴソーム形成に必須な上流因子(たとえばFIP200など)との相互作用も示唆されており, LC3やGABARAPとの相互作用は補完的な役割を担う可能性も残る.

3. p62とオートファジーの接点

2005年にTerje Johansenにより, p62はユビキチン化凝集体を隔離膜へ導く受容体タンパク質として機能することが提唱された⁵. p62は初めて同定された受容体タンパク質であり, この報告以降に選択的オートファジーが注目されるようになった. 2007年, 著者らはp62が直接LC3と相互作用すること, そしてオートファジー欠損マウス組織において顕著に蓄積し, ユビキチン化タンパク質とともに凝集体様の構造体を形成することを報告した¹⁵. さらに, 2007年のJohansenらの生化学的解析, そして2008年の著者らのX線結晶構造解析から, p62はDDDWTHL配列(初めて同定されたLIR配列)を介して直接LC3と結合することが判明した^{6, 16}. その後, p62は脱分極したミトコンドリアや細胞内侵入細菌などをユビキチン鎖を介して認識し, それら積み荷(カーゴ)をLC3との相互作用を介して隔離膜に運ぶ受容体タンパク質としての機能が続々と報告された¹⁷⁻¹⁹. 2010年には, 著者やJohansenを含めた複数のグループが独立に, オートファジーカーゴ上でp62がCullin3型ユビキチンリガーゼのアダプタータンパク質Keap1と直接に相互作用し, 酸化ストレス応答のマスター転写因子であるNrf2を活性化する仕組みを明らかにした²⁰⁻²². さらに, 2018年, Yuらはp62がユビキチン結合依存的に相分離することを示し, 相分離したp62構造体の境界に沿って隔離膜が形成されることが提唱された²³. p62は, その分子動態や細胞制御の点からも分子細胞生物学において注目されている分子の一つであり, その研究, 少なくともオートファジーとの関連は, Johansenと著者らのグループが牽引してきた(図3).

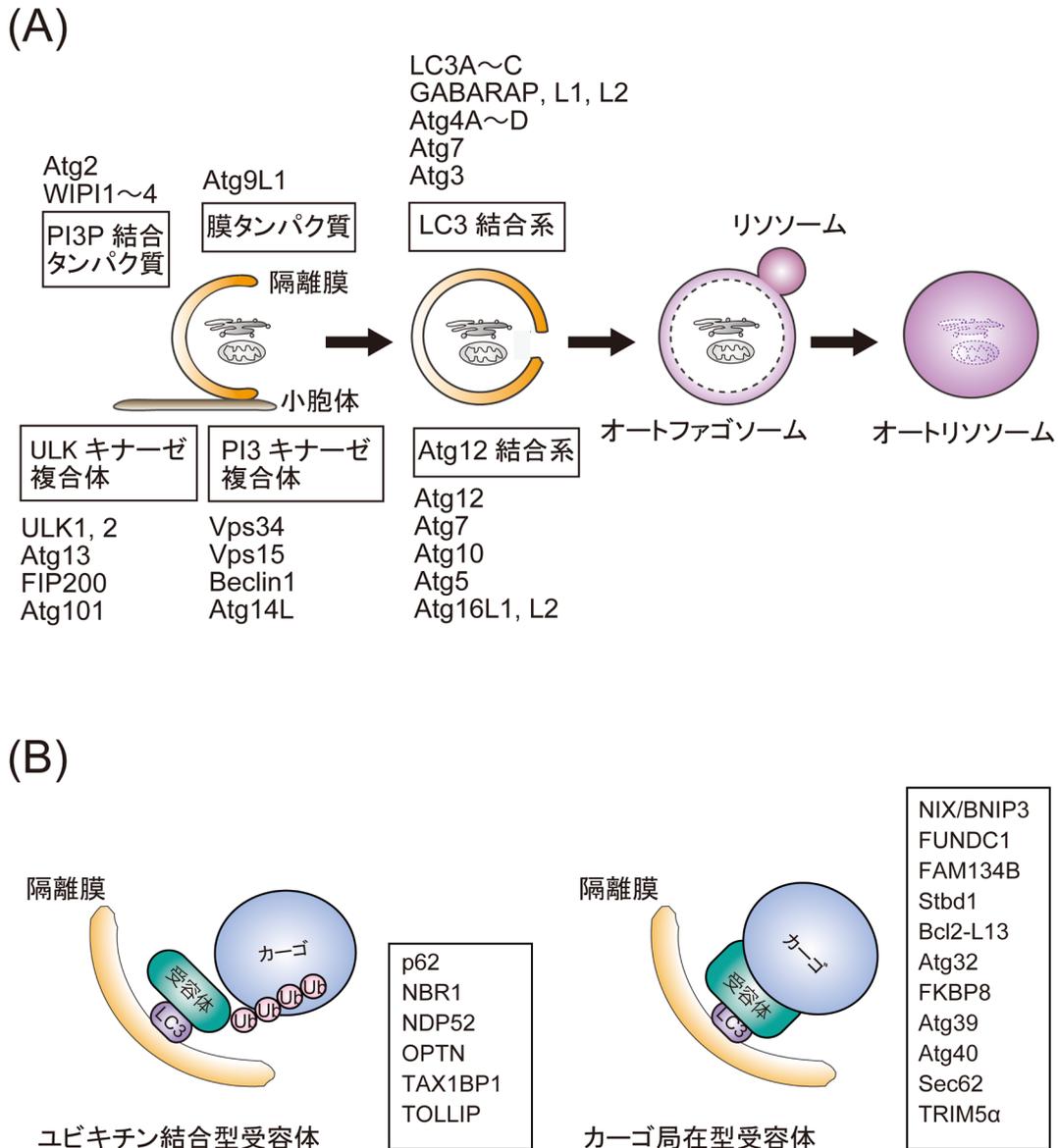


図2 オートファジー

(A) オートファジーの分子機構. オートファゴソームの形成には, ULK1 キナーゼ複合体 (ULK1, ULK2, Atg13, FIP200, Atg101), クラス III ホスファチジルイノシトール 3 (PI3)-キナーゼ複合体 (Vps34, Vps15, Beclin 1, Atg14(L)/Barkor), PI3P 結合タンパク質 (Atg2, WIPI1~WIPI4), 膜タンパク質 (Atg9L1), Atg12 共有結合系 (Atg12, Atg7, Atg10, Atg5, Atg16L1, Atg16L2), LC3 共有結合系 (LC3A~LC3C, GABARAP, GABARAPL1, GABARAPL2, Atg4A~Atg4D, Atg7, Atg3) の六つの機能単位が協調して働く. 生じたオートファゴソームは, リソソームと融合し, その内包物が分解され, 産物であるアミノ酸, 糖, 脂肪酸などがエネルギー源あるいは高分子合成に利用される. (B) 選択的オートファジーの受容体. 選択的オートファジーの受容体タンパク質は, カーゴのユビキチン鎖を認識するユビキチン結合型受容体と分解カーゴ上に局在するカーゴ局在型受容体の二つに分けられる.

4. p62 介在性選択的オートファジーの分子機構

ここでは信頼性の高いいくつかの論文を統合し, p62 介在性選択的オートファジーの分子機構を紹介する. 通常状態では, p62 は, UBA ドメインどうしの会合によりユビキチン鎖と相互作用ができない^{24, 25)}. また, N 末端の PB1 ドメインに存在する Lys7 と Asp69 の間の静電的相互作用による head-to-tail の自己相互作用によりらせん状フィラメントを形成している²⁶⁾ (図4). プロテオスタシス (タンパク質恒常性維持機構) の異常などに応じて UBA ドメイン内

の 407 番目のセリン残基が ULK1 によりリン酸化されると, UBA ドメインどうしの会合が解除されユビキチン鎖と結合可能となる²⁷⁾. その後, ULK1, カゼインキナーゼ 2 または TANK 結合キナーゼ 1 により 403 番目のセリン残基がリン酸化されると, p62 とユビキチン鎖との結合が増強する²⁸⁻³⁰⁾ (図4). ユビキチン鎖の結合により p62 のらせん状フィラメントは断片化し, 相分離し, 液体様の性質を維持したまま細胞質内に濃縮 (相分離) する^{23, 31)} (図4). 最終的に, 相分離した p62 の境界面に沿って隔離膜が形成され, LC3 との相互作用依存的にオートファジーにより分解されると考

表1 選択的オートファジーの受容体タンパク質

受容体	LIR配列	カーゴ
p62	335 DDDWTHL 341	タンパク質凝集体
NBR1	730 SEDYIII 735	タンパク質凝集体, ペルオキシソーム
NDP52	132 EEDILVV 136	ミトコンドリア, 細菌
OPTN	175 EDSFVEI 181	ミトコンドリア, 細菌
TAX1BP1	46 PKDWVGI 52	ミトコンドリア
TOLLIP	130 RIAWTHI 136	ミトコンドリア
TOLLIP	148 EDKWYSL 154	ミトコンドリア
NIX/BNIP3	33 NSSWVEL 39	ミトコンドリア, 小胞体
FUNDC1	15 DDSYEV L 21	ミトコンドリア
Stbd1	200 HEEWEMV 206	グリコーゲン顆粒
FAM134B	452 GSSFELL 458	小胞体
Bcl2-L13	273 PESWQQI 279	ミトコンドリア
Atg32	83 SGSWQAI 89	ミトコンドリア
FKBP8	21 LEDFEVL 27	ミトコンドリア
Atg39	5 DDHWNLV 11	小胞体
Atg40	239 PNDYDFM 245	小胞体
Sec62	360 GNDFEMI 366	小胞体
TRIM5 α	184 SADFEQL 190	ウイルス



図3 Terje Johansen博士(左)と小松(右)
2018年12月1日。極寒のトロムソにて。

えられる(図4)。興味深いことに、p62と同様のドメイン構造を持つ受容体タンパク質NBR1の存在下でp62の相分離が促進される³¹⁾。おそらく、p62フィラメント断片が相分離する過程においてNBR1はp62に作用すると考えられる。

5. p62介在性オートファジーとKeap1-Nrf2経路

主要な酸化ストレス応答機構であるKeap1-Nrf2システムにおいて、Keap1はユビキチンリガーゼ(正確にはCullin 3型ユビキチンリガーゼのアダプタータンパク質)として働き、Nrf2は転写因子として生体防御酵素群の遺伝子発現を調節する³²⁾。すなわち細胞が活性酸素や親電子性物質などのストレスにさらされると、Keap1がセンサーとして

働き、Nrf2の分解を停止して、Nrf2が活性化する。その結果、Nrf2は核内へ移行して、抗酸化タンパク質や抗炎症性酵素の遺伝子発現を誘導し細胞を保護する。Nrf2のKeap1によるユビキチン化には蝶番と門(かんぬき)モデルが提唱されている^{32,33)}(図5A)。Nrf2のNeh2ドメインと呼ばれる領域にあるDLGex領域とETGE配列それぞれがKeap1の β -プロペラ構造の底面にある同じ領域に結合する。1分子のNrf2がKeap1ホモ二量体により認識されるのである。この2か所の結合はNrf2のDLGex領域とETGE配列の間に存在するリシン残基のユビキチン化に不可欠である³⁴⁾。蝶番として機能するETGE配列はKeap1と強固に結合し、門として働くDLGex領域の結合はETGE配列に比して弱い³⁴⁾。ストレスによりKeap1のシステイン残基が酸化修飾を受けるとDLGex領域との相互作用が解除され、Nrf2のユビキチン化が抑制されると考えられている(図5A)。一方、p62はKeap1と直接に相互作用するモチーフKIRを有する。KIRは、LIRの直下に存在する344から356番目のKEVDPST-GELQSL配列を指す(図1)。KIRは、STGE配列を介してNrf2が結合するKeap1の β -プロペラ構造の底面に競合的に結合する。p62のKIRとKeap1との結合様式はNrf2のETGE配列とKeap1とのそれに酷似しているが、その親和性は低い³⁵⁾。これは、Nrf2-ETGE配列のグルタミン酸残基に対応するアミノ酸残基がKIRの場合セリン残基(S349)になっていることに起因する。著者らは、このS349がリン酸化されることを見いだした。このリン酸化によりKIRのKeap1への親和性は30倍以上高まり、おそらくNrf2のDLGex領域とKeap1との結合を競合的に阻害し、Nrf2の分解を抑制し、Nrf2の活性化を導くと考えられる³⁵⁾(図5B)。S349のリン酸化はユビキチン鎖と結合できないF408V変異体や多

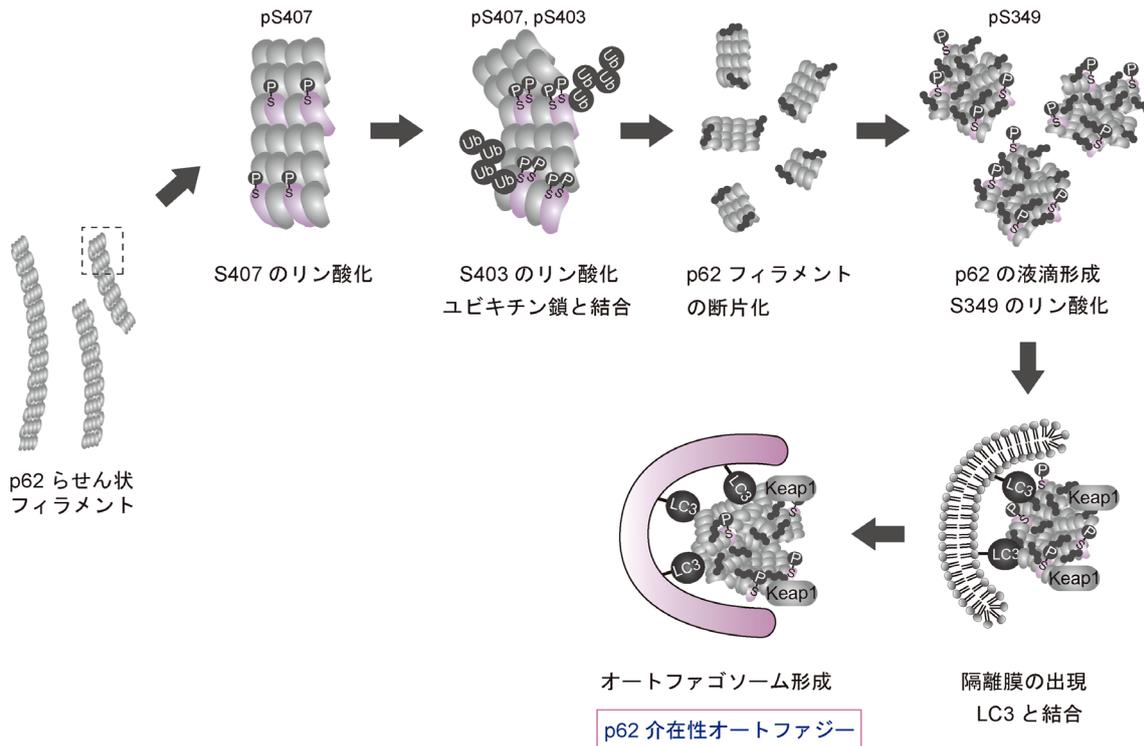


図4 p62 介在性選択的オートファジーの分子機構

p62のUBAドメイン内のS407がリン酸化されると、UBAドメインの自己会合が阻害される。続いてS403のリン酸化がユビキチン鎖とp62との結合を促し、その結果p62フィラメントは断片化する。断片化したp62フィラメントは、濃縮される(液滴化)。液滴化p62は、S349がリン酸化されKeap1と結合するとともに、Nrf2が活性化される。最終的には、p62はLC3との直接相互作用を介してユビキチン化タンパク質、Keap1とともに分解される。

量体を形成できないK7A D69A変異体ではほとんど起こらないことから、相分離が先だって必要なかもしれない³⁶⁾。つまり、p62がユビキチンと結合した場合にのみNrf2が活性化する。相分離は核小体、P顆粒、ストレス顆粒のような膜を持たないオルガネラだけでなく、アクチン重合の活性化にตอบสนองして形成される細胞内シグナリングハブのような一過性の構造体形成にも関わっている^{37, 38)}。したがって、相分離したp62はNrf2活性化のシグナリングハブとして機能し、それを標的とするオートファジーはNrf2シグナルを解除する役割を持つかもしれない。Nrf2の標的遺伝子は、抗酸化タンパク質や抗炎症性酵素のみならずAtgタンパク質やプロテアソームサブユニットの遺伝子発現をも誘導し、タンパク質恒常性維持に貢献する。p62遺伝子もNrf2の標的遺伝子の一つであることから、ポジティブフィードバック機構が存在する¹⁾。

6. オートファジー欠損マウスの表現型とp62

1か月間肝臓においてオートファジー必須遺伝子*Atg7*を欠損させたマウスは、肝実質細胞の膨張を伴った重篤な肝腫大、肝機能障害を引き起こす。その肝実質細胞内には、変形したミトコンドリア、ペルオキシソーム、小胞体に取り囲まれた脂肪滴が蓄積していた³⁹⁾。前述のとおり、変異肝実質細胞においてp62とユビキチン化タンパク質が著し

く蓄積しており、多数のp62およびユビキチン陽性の構造体も観察された。マウス肝臓においてオートファジーの長期的な抑制は腫瘍形成を起こす。全身性にオートファジー必須遺伝子*Atg5*をモザイク状に欠損させたマウスや肝臓特異的*Atg7*欠損マウスは、7か月から9か月齢で小さな腫瘍が肝臓で検出される^{40, 41)}。加齢とともに、腫瘍の数、大きさは増加し、16か月から19か月齢には肝臓はほぼ腫瘍で覆われる^{40, 41)}。長期的にオートファジーを欠いた肝実質細胞は機能を消失した異常ミトコンドリアを蓄積しており、酸化ストレスを被っていた。その結果、ゲノム不安定性が生じ、腫瘍化すると想定される。*Atg5*ないしは*Atg7*欠損で確認される腫瘍は転移能のない良性腫瘍でとどまることから、オートファジーには腫瘍抑制効果がある一方、腫瘍の悪性化にはオートファジー活性が必要なのかもしれない^{40, 41)}。重要なことに、オートファジー欠損マウス肝臓においてp62ないしはNrf2を同時に欠損させると、肝腫大や肝機能障害が大幅に改善された^{21, 42)}。つまり、オートファジー不全マウス肝臓では、持続的なNrf2の活性化が主たる病因であるといえる。一方、*Atg7*およびp62を二重欠損させたマウス肝実質細胞においても、*Atg7*欠損マウス肝実質細胞同様に異常なオルガネラが蓄積し、12か月齢で腫瘍形成も確認された⁴¹⁾。しかし、腫瘍増殖は著しく抑制されていた。肺線がんなど恒常的にNrf2を活性化しているがん細胞は、Nrf2が酸化ストレス応答性遺伝子のみならず、ペントースリン

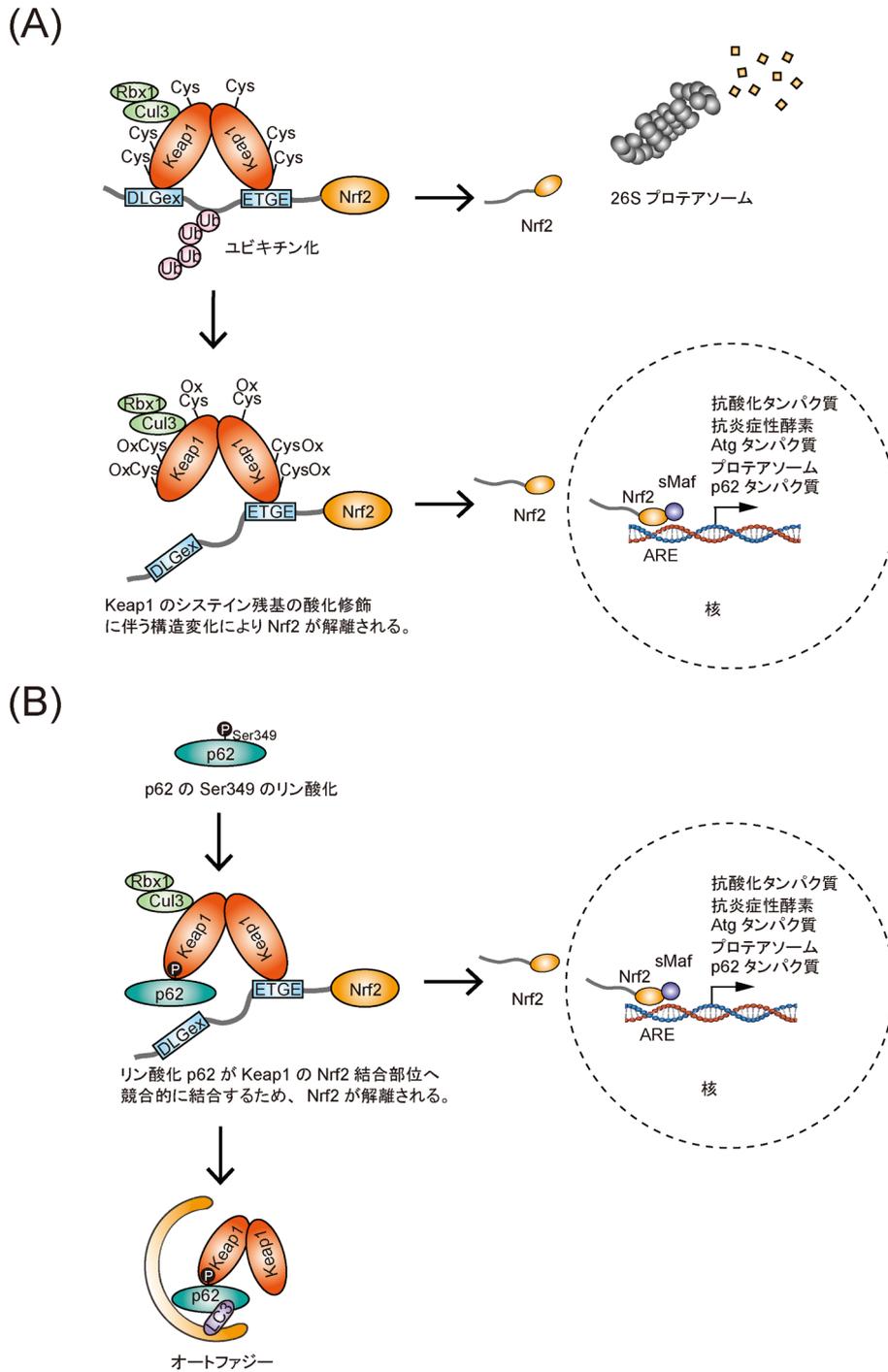


図5 Nrf2 活性化機構

(A) Keap1-Nrf2 経路. Nrf2 は DLGex 領域, ETGE 配列を Keap1 ホモ二量体により認識される. その結果, Nrf2 の DLGex 領域と ETGE 配列の間に存在するリシン残基がユビキチン化され, Nrf2 は 26S プロテアソームにより分解される. 親電子性物質や酸化ストレスにより, Keap1 の特定のシステイン残基が酸化修飾を受けると, Nrf2 のユビキチン化が阻害され, Nrf2 は安定・活性化する. (B) p62 介在性 Nrf2 活性化経路. p62 の 349 番目のセリン残基がリン酸化を受けると, Keap1 と Nrf2 の DLGex 領域との結合を p62 が競合的に阻害し, Nrf2 のユビキチン化を阻害する. この p62 のリン酸化は選択的オートファジーカーゴ上で起こる.

酸経路, プリンスクレオチド合成経路やグルタミンオリシスを制御する酵素群の遺伝子発現も誘導し, これらが腫瘍増殖を支える⁴³⁾. 同様に, オートファジー欠損マウス肝臓では Nrf2 の恒常的な活性化により腫瘍細胞の増殖を促進するグルコース, グルタミンの代謝の再編成が起こっていた⁴⁴⁾.

7. おわりに

酵母の液胞酵素である Ape1 は, 前駆体として細胞質で合成され, Atg19 を受容体タンパク質とする選択的オートファジー (Cvt 経路) により液胞へ運ばれる. Ape1 前駆体

はそれ自身で巨大な多量体を形成するが、Atg19が結合することで多量体形成が抑制され、選択的オートファジーで輸送可能なサイズへ調整される⁴⁵⁾。この制御過程にもApe1の相分離の関与が想像される。RNAとタンパク質からなる構造体である線虫のP顆粒は、分化の過程でSEPA1を受容体タンパク質とする選択的オートファジーにより分解され、生殖細胞にのみ維持される。最近、P顆粒が相分離により形成されることが明らかにされ、そのシグナルにmTORC1、促進因子にP顆粒を構成するPGL-1、PGL-3そしてSEPA-1、サイズを決定する因子としてEPG-2が同定された⁴⁶⁾。さらに、栄養飢餓に応じてリボソームがオートファジーにより分解されることが明らかにされているが、mTORC1の不活化によりリボソームの相分離が起こることが報告された⁴⁷⁾。これらの事実は、選択的オートファジーにおいて相分離は、カーゴを運命づけるための普遍的な機構であることを示唆している。一方、現在のところ、オートファゴソーム形成装置（コアAtgタンパク質）がどのようにして相分離したカーゴの近傍に集まるのか、そしてどのようにして相分離の境界面で隔離膜が形成されるのかは不明であり、今後の研究で明らかにする必要がある。

文 献

- Jain, A., Lamark, T., Sjøttem, E., Larsen, K.B., Awuh, J.A., Overvatn, A., McMahon, M., Hayes, J.D., & Johansen, T. (2010) p62/SQSTM1 is a target gene for transcription factor NRF2 and creates a positive feedback loop by inducing antioxidant response element-driven gene transcription. *J. Biol. Chem.*, **285**, 22576–22591.
- Settembre, C., Di Malta, C., Polito, V.A., Garcia Arencibia, M., Vetrini, F., Erdin, S., Erdin, S.U., Huynh, T., Medina, D., Colella, P., et al. (2011) TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis. *Science*, **332**, 1429–1433.
- Ling, J., Kang, Y., Zhao, R., Xia, Q., Lee, D.F., Chang, Z., Li, J., Peng, B., Fleming, J.B., Wang, H., et al. (2012) KrasG12D-induced IKK2/beta/NF-kappaB activation by IL-1alpha and p62 feedforward loops is required for development of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell*, **21**, 105–120.
- Kageyama, S., Saito, T., Obata, M., Koide, R.H., Ichimura, Y., & Komatsu, M. (2018) Negative regulation of the Keap1-Nrf2 pathway by a p62/Sqstm1 splicing variant. *Mol. Cell. Biol.*, **38**, e00642-17.
- Bjorkoy, G., Lamark, T., Brech, A., Outzen, H., Perander, M., Overvatn, A., Stenmark, H., & Johansen, T. (2005) p62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death. *J. Cell Biol.*, **171**, 603–614.
- Ichimura, Y., Kumanomidou, T., Sou, Y.S., Mizushima, T., Ezaki, J., Ueno, T., Kominami, E., Yamane, T., Tanaka, K., & Komatsu, M. (2008) Structural basis for sorting mechanism of p62 in selective autophagy. *J. Biol. Chem.*, **283**, 22847–22857.
- Sanchez-Martin, P. & Komatsu, M. (2018) p62/SQSTM1-steering the cell through health and disease. *J. Cell Sci.*, **131**, jcs222836.
- Sanchez-Martin, P., Saito, T., & Komatsu, M. (2019) p62/SQSTM1: 'Jack of all trades' in health and cancer. *FEBS J.*, **286**, 8–23.
- Nakatogawa, H., Suzuki, K., Kamada, Y., & Ohsumi, Y. (2009) Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **10**, 458–467.
- Gatica, D., Lahiri, V., & Klionsky, D.J. (2018) Cargo recognition and degradation by selective autophagy. *Nat. Cell Biol.*, **20**, 233–242.
- Wild, P., Farhan, H., McEwan, D.G., Wagner, S., Rogov, V.V., Brady, N.R., Richter, B., Korac, J., Waidmann, O., Choudhary, C., et al. (2011) Phosphorylation of the autophagy receptor optineurin restricts Salmonella growth. *Science*, **333**, 228–233.
- Rogov, V.V., Suzuki, H., Marinkovic, M., Lang, V., Kato, R., Kawasaki, M., Buljubasic, M., Sprung, M., Rogova, N., Wakatsuki, S., et al. (2017) Phosphorylation of the mitochondrial autophagy receptor Nix enhances its interaction with LC3 proteins. *Sci. Rep.*, **7**, 1131.
- Rogov, V.V., Stolz, A., Ravichandran, A.C., Rios-Szwed, D.O., Suzuki, H., Kniss, A., Lohr, F., Wakatsuki, S., Dotsch, V., Dikic, I., et al. (2017) Structural and functional analysis of the GABARAP interaction motif (GIM). *EMBO Rep.*, **18**, 1382–1396.
- Nguyen, T.N., Padman, B.S., Usher, J., Oorschot, V., Ramm, G., & Lazarou, M. (2016) Atg8 family LC3/GABARAP proteins are crucial for autophagosome-lysosome fusion but not autophagosome formation during PINK1/Parkin mitophagy and starvation. *J. Cell Biol.*, **215**, 857–874.
- Komatsu, M., Waguri, S., Koike, M., Sou, Y.S., Ueno, T., Hara, T., Mizushima, N., Iwata, J., Ezaki, J., Murata, S., et al. (2007) Homeostatic levels of p62 control cytoplasmic inclusion body formation in autophagy-deficient mice. *Cell*, **131**, 1149–1163.
- Pankiv, S., Clausen, T.H., Lamark, T., Brech, A., Bruun, J.A., Outzen, H., Overvatn, A., Bjorkoy, G., & Johansen, T. (2007) p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy. *J. Biol. Chem.*, **282**, 24131–24145.
- Pohl, C. & Jentsch, S. (2009) Midbody ring disposal by autophagy is a post-abscission event of cytokinesis. *Nat. Cell Biol.*, **11**, 65–70.
- Zheng, Y.T., Shahnazari, S., Brech, A., Lamark, T., Johansen, T., & Brumell, J.H. (2009) The adaptor protein p62/SQSTM1 targets invading bacteria to the autophagy pathway. *J. Immunol.*, **183**, 5909–5916.
- Geisler, S., Holmstrom, K.M., Skujat, D., Fiesel, F.C., Rothfuss, O.C., Kahle, P.J., & Springer, W. (2010) PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nat. Cell Biol.*, **12**, 119–131.
- Fan, W., Tang, Z., Chen, D., Moughon, D., Ding, X., Chen, S., Zhu, M., & Zhong, Q. (2010) Keap1 facilitates p62-mediated ubiquitin aggregate clearance via autophagy. *Autophagy*, **6**, 614–621.
- Komatsu, M., Kurokawa, H., Waguri, S., Taguchi, K., Kobayashi, A., Ichimura, Y., Sou, Y.S., Ueno, I., Sakamoto, A., Tong, K.I., et al. (2010) The selective autophagy substrate p62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of Keap1. *Nat. Cell Biol.*, **12**, 213–223.
- Lau, A., Wang, X.J., Zhao, F., Villeneuve, N.F., Wu, T., Jiang, T., Sun, Z., White, E., & Zhang, D.D. (2010) A noncanonical mechanism of Nrf2 activation by autophagy deficiency: direct interaction between Keap1 and p62. *Mol. Cell. Biol.*, **30**, 3275–3285.
- Sun, D., Wu, R., Zheng, J., Li, P., & Yu, L. (2018) Polyubiquitin chain-induced p62 phase separation drives autophagic cargo segregation. *Cell Res.*, **28**, 405–415.
- Long, J., Garner, T.P., Pandya, M.J., Craven, C.J., Chen, P., Shaw, B., Williamson, M.P., Layfield, R., & Searle, M.S. (2010) Dimerisation of the UBA domain of p62 inhibits ubiquitin bind-

- ing and regulates NF-kappaB signalling. *J. Mol. Biol.*, **396**, 178–194.
- 25) Isogai, S., Morimoto, D., Arita, K., Unzai, S., Tenno, T., Hasegawa, J., Sou, Y.S., Komatsu, M., Tanaka, K., Shirakawa, M., et al. (2011) Crystal structure of the ubiquitin-associated (UBA) domain of p62 and its interaction with ubiquitin. *J. Biol. Chem.*, **286**, 31864–31874.
- 26) Ciuffà, R., Lamark, T., Tarafder, A.K., Guesdon, A., Rybina, S., Hagen, W.J., Johansen, T., & Sachse, C. (2015) The selective autophagy receptor p62 forms a flexible filamentous helical scaffold. *Cell Rep.*, **11**, 748–758.
- 27) Lim, J., Lachenmayer, M.L., Wu, S., Liu, W., Kundu, M., Wang, R., Komatsu, M., Oh, Y.J., Zhao, Y., & Yue, Z. (2015) Proteotoxic stress induces phosphorylation of p62/SQSTM1 by ULK1 to regulate selective autophagic clearance of protein aggregates. *PLoS Genet.*, **11**, e1004987.
- 28) Matsumoto, G., Wada, K., Okuno, M., Kurosawa, M., & Nukina, N. (2011) Serine 403 phosphorylation of p62/SQSTM1 regulates selective autophagic clearance of ubiquitinated proteins. *Mol. Cell*, **44**, 279–289.
- 29) Pili, M., Arko-Mensah, J., Ponpuak, M., Roberts, E., Master, S., Mandell, M.A., Dupont, N., Ornatowski, W., Jiang, S., Bradfute, S.B., et al. (2012) TBK-1 promotes autophagy-mediated antimicrobial defense by controlling autophagosome maturation. *Immunity*, **37**, 223–234.
- 30) Matsumoto, G., Shimogori, T., Hattori, N., & Nukina, N. (2015) TBK1 controls autophagosomal engulfment of polyubiquitinated mitochondria through p62/SQSTM1 phosphorylation. *Hum. Mol. Genet.*, **24**, 4429–4442.
- 31) Zaffagnini, G., Savova, A., Danieli, A., Romanov, J., Tremel, S., Ebner, M., Peterbauer, T., Sztacho, M., Trapannone, R., Tarafder, A.K., et al. (2018) p62 filaments capture and present ubiquitinated cargos for autophagy. *EMBO J.*, **37**, e98308.
- 32) Suzuki, T. & Yamamoto, M. (2017) Stress-sensing mechanisms and the physiological roles of the Keap1-Nrf2 system during cellular stress. *J. Biol. Chem.*, **292**, 16817–16824.
- 33) Tong, K.I., Katoh, Y., Kusunoki, H., Itoh, K., Tanaka, T., & Yamamoto, M. (2006) Keap1 recruits Neh2 through binding to ETGE and DLG motifs: characterization of the two-site molecular recognition model. *Mol. Cell Biol.*, **26**, 2887–2900.
- 34) Tong, K.I., Padmanabhan, B., Kobayashi, A., Shang, C., Hirotsu, Y., Yokoyama, S., & Yamamoto, M. (2007) Different electrostatic potentials define ETGE and DLG motifs as hinge and latch in oxidative stress response. *Mol. Cell Biol.*, **27**, 7511–7521.
- 35) Ichimura, Y., Waguri, S., Sou, Y.S., Kageyama, S., Hasegawa, J., Ishimura, R., Saito, T., Yang, Y., Kouno, T., Fukutomi, T., et al. (2013) Phosphorylation of p62 activates the Keap1-Nrf2 pathway during selective autophagy. *Mol. Cell*, **51**, 618–631.
- 36) Ishimura, R., Tanaka, K., & Komatsu, M. (2014) Dissection of the role of p62/Sqstm1 in activation of Nrf2 during xenophagy. *FEBS Lett.*, **588**, 822–828.
- 37) Li, P., Banjade, S., Cheng, H.C., Kim, S., Chen, B., Guo, L., Llaguno, M., Hollingsworth, J.V., King, D.S., Banani, S.F., et al. (2012) Phase transitions in the assembly of multivalent signalling proteins. *Nature*, **483**, 336–340.
- 38) Bergeron-Sandoval, L.P., Safaee, N., & Michnick, S.W. (2016) Mechanisms and Consequences of Macromolecular Phase Separation. *Cell*, **165**, 1067–1079.
- 39) Komatsu, M., Waguri, S., Ueno, T., Iwata, J., Murata, S., Tanida, I., Ezaki, J., Mizushima, N., Ohsumi, Y., Uchiyama, Y., et al. (2005) Impairment of starvation-induced and constitutive autophagy in Atg7-deficient mice. *J. Cell Biol.*, **169**, 425–434.
- 40) Inami, Y., Waguri, S., Sakamoto, A., Kouno, T., Nakada, K., Hino, O., Watanabe, S., Ando, J., Iwadate, M., Yamamoto, M., et al. (2011) Persistent activation of Nrf2 through p62 in hepatocellular carcinoma cells. *J. Cell Biol.*, **193**, 275–284.
- 41) Takamura, A., Komatsu, M., Hara, T., Sakamoto, A., Kishi, C., Waguri, S., Eishi, Y., Hino, O., Tanaka, K., & Mizushima, N. (2011) Autophagy-deficient mice develop multiple liver tumors. *Genes Dev.*, **25**, 795–800.
- 42) Ni, H.M., Woolbright, B.L., Williams, J., Copple, B., Cui, W., Luyendyk, J.P., Jaeschke, H., & Ding, W.X. (2014) Nrf2 promotes the development of fibrosis and tumorigenesis in mice with defective hepatic autophagy. *J. Hepatol.*, **61**, 617–625.
- 43) Mitsuishi, Y., Taguchi, K., Kawatani, Y., Shibata, T., Nukiwa, T., Aburatani, H., Yamamoto, M., & Motohashi, H. (2012) Nrf2 redirects glucose and glutamine into anabolic pathways in metabolic reprogramming. *Cancer Cell*, **22**, 66–79.
- 44) Saito, T., Ichimura, Y., Taguchi, K., Suzuki, T., Mizushima, T., Takagi, K., Hirose, Y., Nagahashi, M., Iso, T., Fukutomi, T., et al. (2016) p62/Sqstm1 promotes malignancy of HCV-positive hepatocellular carcinoma through Nrf2-dependent metabolic reprogramming. *Nat. Commun.*, **7**, 12030.
- 45) Yamasaki, A., Watanabe, Y., Adachi, W., Suzuki, K., Matoba, K., Kirisako, H., Kumeta, H., Nakatogawa, H., Ohsumi, Y., Inagaki, F., et al. (2016) Structural Basis for Receptor-Mediated Selective Autophagy of Amino-peptidase I Aggregates. *Cell Rep.*, **16**, 19–27.
- 46) Zhang, G., Wang, Z., Du, Z., & Zhang, H. (2018) mTOR Regulates Phase Separation of PGL Granules to Modulate Their Autophagic Degradation. *Cell*, **174**, 1492–1506.e22.
- 47) Delarue, M., Brittingham, G.P., Pfeffer, S., Surovtsev, I.V., Pinglay, S., Kennedy, K.J., Schaffer, M., Gutierrez, J.I., Sang, D., Poterewicz, G., et al. (2018) mTORC1 Controls Phase Separation and the Biophysical Properties of the Cytoplasm by Tuning Crowding. *Cell*, **174**, 338–349.e20.

著者寸描

●小松 雅明 (こまつ まさあき)



順天堂大学医学部生理学第二講座教授。
医学博士。

■略歴 1972年新潟県に生る。95年明治大学農学部卒業。2010年東京都医学総合研究所タンパク質リサイクルプロジェクトプロジェクトリーダー。14年新潟大学医学部分子遺伝学(旧生化学第一)教授。18年より現職。

■研究テーマと抱負 選択的オートファジーの分子機構と生理機能の解明。ユビキチン様結合反応系

Ufm1システムの包括的研究。学部を問わず大学院生を広く募集中です。

■ウェブサイト https://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labou/kikan_saibou/jpn/members/

■趣味 散策。