オートファジーと脂質恒常性

中戸川 万智子^{1,2}, 中戸川 仁¹

¹ 東京工業大学生命理工学院 〒226-8501 神奈川県横浜市緑区長津田町 4259-B-20

² 日本学術振興会特別研究員 (RPD)

要旨: オートファジーは、細胞質のタンパク質やRNAに加え、小胞体、ミトコンドリア、ペルオキシソーム、脂肪滴など様々なオルガネラをリソソーム/液胞に運び、分解する。したがって、オルガネラを構成する膜脂質もオートファジーを介してリソソーム/液胞に輸送されることになる。しかし、タンパク質やRNAと比べ、脂質の分解やリサイクルに関しては、メカニズムおよび生理的意義も、まだほとんど明らかとなっていない。本総説では、脂質代謝とオートファジーの関係に関する現在の知見をまとめ、オートファジーの脂質の恒常性維持への関与について議論する。

Autophagy and lipid homeostasis

Machiko Nakatogawa^{1,2}, Hitoshi Nakatogawa¹

¹ School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, B-20 4259 Nagatsutacho Midoriku, Yokohama, 226-8501, Japan

² Restart Postdoctoral Fellow (RPD) of Japan Society for the Promotion of Science

Author for correspondence: M. Nakatogawa, nakatogawa.m.aa@m.titech.ac.jp

Summary: Autophagy delivers not only cytoplasmic proteins and RNA but also various organelles, such as the endoplasmic reticulum, mitochondria, peroxisomes, and lipid droplets to lysosomes/vacuoles for degradation. Thus, a considerable amount of membrane lipids is also transported into lysosomes/vacuole via autophagy. However, little is known about degradation and recycling of lipids, and the mechanism and physiological significance of these processes, compared with those of proteins and RNA. In this review, we summarize our current knowledge on relationships between lipid metabolism and autophagy and discuss the involvement of autophagy in lipid homeostasis.

Key words: autophagy, lipid droplet, lipid homeostasis, TOR, UPR

はじめに

オートファジーが誘導されると、脂質二重膜胞である「オートファゴソーム」が細胞内成分を包み込むようにして形成される。続いて、オートファゴソームの外膜がリソ

ソーム/液胞と融合し、内包された成分がオートファゴソームの内膜ごとリソソーム/液胞の内部で分解される(図1)。オートファジーによる分解の対象には、タンパク質やRNAなどの細胞質分子のみならず、核、小胞体、ミトコ

図1 オートファジーの進行過程. オートファジー(マクロオートファジー)が誘導されると、細胞質でオルガネラなどの分解対象を隔離したオートファゴソームが形成される。オートファゴソームは脂質二重膜胞であり、外膜がリソソーム/液胞と融合することで内膜ごと隔離した成分が分解される(A)。これに対し、液胞膜あるいはリソソーム膜の陥入によって分解標的を直接液胞内腔に取り込む経路はマイクロオートファジー(B)、シャペロンによって基質タンパク質がリソソーム膜を透過して分解される経路はシャペロン介在性オートファジーと呼ばれる(C)。また、マクロオートファジーは、細胞質成分を非選択的に分解すると考えられてきたが、近年、ミトコンドリアなどの特定のオルガネラやユビキチン化されたタンパク質の凝集体はレセプタータンパク質を介してオートファゴソームに選択的に隔離され、分解されることが分かってきた(A)。

ンドリア、ペルオキシソーム、脂肪滴などのオルガネラも含まれる。したがって、オートファジーによって、リソソーム/液胞にはオルガネラを構成する脂質が大量に流れ込むことになる。しかしながら、タンパク質やRNAの分解と比べて、リソソーム/液胞に取り込まれた脂質がその後どのような経路で代謝され、細胞内を循環するのか、またその生理的意義などはほとんど明らかになっていない。オートファジーによる脂質のリサイクルは、細胞内での脂質のホメオスタシスにどのように寄与するのだろうか。これまでの知見からその可能性を議論したい。なお、オートファジーは、リソソーム/液胞における細胞内成分の分解経路の総称であり、先に述べたオートファゴソームの形成を介する経路は「マクロオートファジー」と呼ばれる。他には、オートファゴソーム形成を必要とせず、リソソーム膜/液胞膜の陥入によって分解標的が直接液胞内腔に取り込まれる「ミクロオートファジー」、シャペロンを介して特定の基質タンパク質がリソソーム膜を透過して分解される「シャペロン介在性オートファジー」が存在する(図1)。ここでは慣例にならない、マクロオートファジーをオートファジーと呼ぶことにする。

小胞体ストレス応答とオートファジー

小胞体ストレス応答(UPR; unfolded protein response)は、小胞体における変性タンパク質の蓄積に対する細胞応答機構である。小胞体にはストレスセンサー膜タンパク質が存在し(出芽酵母ではIre1, 哺乳類ではPERK, IRE1, ATF6), これらの小胞体内腔ドメインに変性タンパク質が結合すると、これらの細胞質ドメインが活性化する。活性化した細胞質ドメインは転写因子の発現誘導などを介して、タンパク質のフォールディングを促進するシャペロンや異常タンパク質を分解・除去する小胞体関連分解(ERAD; ER-associated degradation)に関わる因子、そして多くの脂質合成酵素の発現を誘導する。興味深いことに、オートファジー関連タンパク質(Atg; autophagy-related proteins)の発現もUPRによって制御されることが分かっている(図2, ①の経路)。マウス培養細胞を小胞体ストレス誘導剤であるツニカマイシンで処理すると、PERKを介した転写因子ATF4とCHOPの発現誘導を介して*Atg16l1*, *Atg12*, *Atg3*, *Atg7*, *Gabarap*などのmRNAレベルが上昇する(B'Chir et al. 2013)。また、出芽酵母においては、Ire1及びIre1によって活性化する転写因子Hac1を欠失させても小胞体ス

図2 脂質代謝とオートファジーの関係。① 小胞体ストレス応答(UPR)によるオートファジー関連因子の発現誘導。ストレスセンサータンパク質の細胞質ドメインの活性化により、IRE1はXBP1(出芽酵母ではHac1)のmRNAをスプライシングして成熟型とし、転写因子として機能するsXBP1が合成される。PERKはeukaryotic translation initiation factor 2 alpha (eIF2α)をリン酸化し(これにより細胞全体のタンパク質合成は抑制される)、転写因子ATF4の翻訳を促進する。ATF6はゴルジ体へ移行し、そこで切断されて生じた断片ATF6nが転写因子として働く。これら転写因子は核へと移行し、ストレス応答に必要な遺伝子の発現を誘導する。② マクロオートファジー/ミクロオートファジーによる脂肪滴(LD)の分解。③ mTORC1の不活性化によりオートファゴソームやエンドソームとリソソームとの融合が促進されると、小胞体のコレステロールが増加し、SREBP-2の活性化(ゴルジ体への移行)が抑制される。④ オートファジーによって細胞内に遊離脂肪酸が増えると小胞体に局在するdiacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1)を介した脂肪滴の形成が促進される。脂肪滴はミトコンドリアに移行し、脂肪滴表層のリパーゼによって分解された脂肪酸がミトコンドリアに供給される。⑤ リン酸化されたスフィンゴイド塩基(LCBP)の蓄積はTORC1非依存的にオートファジーを活性化させる。

トレスに応じてAtg8の発現は上昇するが、活性型(spliced form)のHac1を過剰発現させると、小胞体ストレス非存在下においてもAtg8の発現が上昇することが示されている(Bernales et al. 2006). 他にも、ヒト培養細胞においては、オートファゴソーム形成に必須のホスファチジルイノシトール3-キナーゼ複合体は、小胞体ストレス時、IRE1-TRAF2-JNK経路により活性化される(Wei et al. 2008). ヒト培養細胞を用いたマイクロアレイ解析では、ツニカマイシン及びブレフェルジンAにより小胞体ストレスを誘導すると、ATG12, ATG2Bなどに加えてSQSTM1/p62, NBR1, BNIP3L/NIXといったオートファジーレセプター(ユビキチン化タンパク質やミトコンドリアのオートファジーによる選択的分解を媒介するタンパク質)(図1)の発現が顕著に上昇することが報告されている(Deegan et al. 2015). これらの発現上昇はPERKやIRE1に依存していた. このような小胞体ストレスセンサーが関与するオートファジー関連因子の発現誘導は他にも報告されているが、そのメカニズムは未解明な部分が多い. しかしながら、小胞体で凝集した変性タンパク質がオートファジー依存的に分解される例がいくつか報告されており(Ishida et al. 2009, Teckman and Perlmutter 2000, Houck et al. 2014), ERADによる分解を逃れた、あるいはERADで分解しきれずに蓄積した変性タンパク質の分解・除去が、UPRで誘導されるオートファジーの役割の一つであると考えられている.

一方で、UPRは小胞体のリン脂質組成の異常や脂肪酸の不飽和度の上昇によっても誘導される(Pineau et al. 2009, Ariyama et al. 2010). 出芽酵母では、イノシトールを培地から枯渇させると、ホスファチジルイノシトールなどの膜脂質の組成に変化が生じるが、このとき、変性タンパク質の量は増加しないにもかかわらず、Ire1が活性化することが示されている(Promlek et al. 2011, Lajoie et al. 2012). つまり、イノシトールの枯渇により生じた小胞体“膜ストレス”によって、UPRが誘導されると考えられる. さらに、ヒト培養細胞においては、stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD1) のノックダウンにより飽和脂肪酸を含むリン脂質が増加するとUPRが引き起こされるが、この応答にはIRE1やPERKの変性タンパク質結合ドメインは必要ない(Volmer et al. 2013). 出芽酵母のIre1の変性タンパク質結合部位を欠失した変異体は、タンパク質変性を引き起こすジチオスレイトールやツニカマイシンでは活性化しないが、イノシトールの枯渇条件においては野生型と同様に活性化する(Promlek et al. 2011). さらに、Ire1に関しては、膜の厚さなど、膜の物理的性質の変化に応じて多量体化することがin vitroの実験で示されている(Halbleib et al. 2017). これらの結果は、小胞体膜脂質の異常が小胞体ストレスセンサーを直接活性化しうることを示している. 前述したように、オートファジー関連遺伝子がUPRで誘導されることを踏まえると、オートファジーも、UPR関連因子群とともに、このような小胞体膜ストレスの解消に寄与している可能性が考えられる.

脂肪滴とオートファジー

脂肪滴は中性脂質の塊がリン脂質一重層で囲まれた構造を持つオルガネラである. 脂肪滴は細胞のエネルギー貯蔵庫としての役割を担うと理解されており、栄養欠乏状態に

おいては、脂肪滴の中性脂質が加水分解されて遊離脂肪酸となり、その酸化によりエネルギーが供給される. 脂肪滴の分解は、脂肪滴表層に局在するリパーゼの活性化により促進されることが知られているが、オートファジーによっても脂肪滴が分解されることが報告されている(図2, ②の経路). マウス培養細胞及び個体を用いた実験において、オートファジーによって脂肪滴がリソソームに運ばれ、中性脂質(トリグリセリド)の加水分解および脂肪酸のβ酸化が促進されることが報告された(Singh et al. 2009). 出芽酵母では、窒素源飢餓で蓄積した脂肪滴がマイクロオートファジーによって分解されること、この分解が脂肪酸の新規合成阻害剤存在下での細胞の生育に必須であることが示されている(van Zutphen et al. 2014, Tsuji et al. 2017). 出芽酵母におけるオートファジーによる脂肪滴の分解は、主にマイクロオートファジーを介して起こると考えられている. ミクロオートファジーによる脂肪滴の液胞への取り込みには、液胞膜において形成されるステロール濃度の高いマイクロドメインが重要である(Seo et al. 2017). 脂肪滴のマイクロオートファジーにおけるマクロオートファジー関連因子の必要性については複数のグループが異なる結論を導いており、さらなる検証が必要である(van Zutphen et al. 2014, Wang et al. 2014, Oku et al. 2017). また、脂肪滴のマイクロオートファジーには、ESCRT (endosomal sorting complex required for transport) も必要であることが報告されている(van Zutphen et al. 2014, Vevea et al. 2015, Oku et al. 2017). 一方、マウス培養細胞においては、アミノ酸飢餓に応じて脂肪滴が増加し、ミトコンドリアへの脂肪酸供給に寄与するとの報告があるが、オートファジー欠損細胞ではこのような脂肪滴の増加は見られない(Rambold et al. 2015, Nguyen et al. 2017)(図2, ④の経路). また、オートファジー欠損マウスにおいては、飢餓に応じた肝臓における脂肪滴の蓄積が見られないとの報告もあり、脂肪滴の形成へのオートファジーの関与が示唆されている(Shibata et al. 2009). このようなオートファジーと脂肪滴の形成・分解との関係に関する一見矛盾した結論は、オートファジーと脂肪滴との関係が細胞の種類や培養条件などにより変化することを示しているのかもしれない.

脂肪滴は細胞内脂質の恒常性維持においても重要な役割を果たすことが明らかになってきている. 出芽酵母において脂肪滴の形成に必要な遺伝子を欠失すると、リン脂質組成が変化し、また、脂肪酸が蓄積して、その結果、飢餓条件下において小胞体の形態に異常が生じる(Velázquez et al. 2016). また、脂肪滴形成不全株は、特に不飽和脂肪酸に対する感受性が高くなり、不飽和脂肪酸を培地に添加するとUPRが誘導される(Petschnigg et al. 2009, Garbarino et al. 2009). さらに、ミクロオートファジーによる脂肪滴の分解は、細胞内脂質のホメオスタシスに関わることを報告された. ホスファチジルコリンの合成を阻害するとリン脂質のバランスが崩れ、小胞体やミトコンドリアの形態異常および脂肪滴の蓄積などが引き起こされるが、細胞はこの状況に徐々に適応し、小胞体やミトコンドリアの形態異常は見られなくなる. この細胞適応に、脂肪滴のマイクロオートファジーによる分解が関与している可能性が示された. つまり、リン脂質のアンバランスによって余剰となったリン脂質が、中性脂質に変換された後、脂肪滴を形成してミ

クロオートファジーで分解されるというモデルが提唱されている (Vevea et al. 2015).

TOR経路と脂質合成

TOR (target of rapamycin) キナーゼを中心とするTOR複合体 (TORC) は細胞の栄養状態 (特にアミノ酸レベル) を感知して、細胞の増殖や代謝を調節する。哺乳動物にはmTORC1, mTORC2が、出芽酵母ではTor1, Tor2をそれぞれ含むTORC1, TORC2が存在する。アミノ酸飢餓あるいはTORC1阻害剤によるmTORC1/TORC1の不活性化によってオートファジーが誘導されることはよく知られている。一方、mTORC1はsterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) のうちSREBP-2とSREBP-1aの活性制御を介してそれぞれコレステロールと脂肪酸の合成も制御することが分かっている。SREBP-2は小胞体に局在する膜タンパク質であるが、小胞体のコレステロールレベルが低いとゴルジ体に輸送され、プロテアーゼによる切断を受ける。遊離したN末端ドメインが核に移行し、コレステロール合成酵素の発現を誘導する転写因子として働く。mTORC1によるSREBP-2の活性の制御機構は長らく不明であったが、最近、オートファジーがこれに関与することが見いだされた (図2, ③の経路, Eid et al. 2017)。飢餓条件においてmTORC1の活性が低下すると、小胞体のコレステロールが増加する。このコレステロールの増加には、エンドサイトーシスおよびオートファジーが必要であった。mTORC1の活性低下によってオートファジーやエンドソームとリソソームとの融合が活性化し、リソソームに脂質膜が流入すると、そこからコレステロールが放出される。これにより小胞体のコレステロールレベルが上昇し、SREBP-2の活性が抑制されるというモデルが提唱されている。

TORC1の不活性化に伴って、超長鎖脂肪酸合成酵素の1つであるElo2がGSK3によりリン酸化され活性化することが示された (Zimmermann et al. 2017)。リン酸化されないElo2変異体を発現させると、スフィンゴイド塩基 (超長鎖脂肪酸と結合してフィトセラミドとなる) が蓄積し、TORC1非依存的にオートファジーが恒常的に活性化し、細胞の増殖能力が低下する (図2, ⑤の経路)。オートファジーが活性化するメカニズムは明らかでないが、TORC1、脂質合成、オートファジーの間の密接な関わりが示唆される。また、急激なグルコース飢餓によって、AMP活性化プロテインキナーゼ (AMPK) が活性化すると、マイクロオートファジーによる脂肪滴の分解が誘導されるとの報告がある (Seo et al. 2017)。

AMPKはAMP / ATP比を適切に保持する役割を果たすが、一方でmTORC1の活性を抑制する。以上の結果は、細胞内のエネルギー低下によるAMPKの活性化、mTORC1の不活性化によるマイクロオートファジーやマクロオートファジーの誘導、脂質の分解、脂肪酸の遊離、ミトコンドリアでのATP産生といった流れを彷彿させるものであり、興味深い。

おわりに

本総説では、1) オートファジー関連因子の発現が小胞体ストレスに応じて上昇すること、2) 変性タンパク質の

蓄積だけでなく小胞体膜脂質の異常も小胞体ストレスとなりうること、3) 脂肪滴がマクロまたはマイクロオートファジーで分解されること、4) オートファジーによる脂肪滴の分解が脂質のホメオスタシスに重要であることに関するこれまでの報告をまとめた。また、脂質代謝をTOR経路およびオートファジーと関連づけるいくつかの結果を挙げた。このような知見から、オートファジーはUPR経路やTOR経路と相互に複雑に関係しながら、細胞の脂質恒常性に密接に関与していると考えられる。一方で、脂質合成酵素の変異やオルガネラの形態異常がオートファジーの活性に影響を及ぼすことも知られている (Velázquez et al. 2016, Ogasawara et al. 2017)。すなわち、脂質代謝の変化や恒常性の破綻が、オートファジーを介して様々な細胞機能の制御や疾患の発症と関係している可能性も考えられる。

オートファジーと脂質の変動や動態の相関を示す知見はまだほとんどない。しかしながら、オートファジーによって様々なオルガネラが大規模にリソソーム/液胞内に輸送され、分解、リサイクルされることを考えると、オートファジーはオルガネラの膜脂質組成に少なからぬ影響を及ぼしていると考えられる。オートファジーによる脂質の分解や循環は、環境の変化に応じた脂質組成の制御や、それを介したオルガネラの機能制御に重要な役割を果たしているかもしれない。また、酸化ストレスなどのストレスによって生じる異常な脂質の除去に関与する可能性も考えられる。近年の質量分析に基づく脂質分子解析技術の発展などを受けて、今後、脂質の代謝や細胞内循環におけるオートファジーの役割が明らかになっていくことが期待される。

引用文献

- Ariyama, H., Kono, N., Matsuda, S., Inoue, T., and Arai, H. (2010) Decrease in membrane phospholipid unsaturation induces unfolded protein response. *J Biol Chem* 285: 22027-22035.
- B'Chir, W., Maurin, A. C., Carraro, V., Averous, J., Jousse, C., Muranishi, Y., Parry, L., Stepien, G., Fafournoux, P., and Bruhat, A. (2013) The eIF2 α /ATF4 pathway is essential for stress-induced autophagy gene expression. *Nucleic Acids Res* 41: 7683-7699.
- Bernales, S., McDonald, K. L., and Walter, P. (2006) Autophagy counterbalances endoplasmic reticulum expansion during the unfolded protein response. *PLoS Biol* 4: 2311-2324.
- Deegan, S., Koryga, I., Glynn, S. A., Gupta, S., Gorman, A. M., and Samali, A. (2015) A close connection between the PERK and IRE arms of the UPR and the transcriptional regulation of autophagy. *Biochem Biophys Res Commun* 456: 305-311.
- Eid, W., Dauner, K., Courtney, K. C., Gagnon, A., Parks, R. J., Sorisky, A., and Zha, X. (2017) mTORC1 activates SREBP-2 by suppressing cholesterol trafficking to lysosomes in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 114: 7999-8004.
- Garbarino, J., Padamsee, M., Wilcox, L., Oelkers, P. M., D'Ambrosio, D., Ruggles, K. V., Ramsey, N., Jabado, O., Turkish, A., and Sturley, S. L. (2009) Sterol and diacylglycerol acyltransferase deficiency triggers fatty acid-mediated cell death. *J Biol Chem* 284: 30994-31005.

- Halbleib, K., Pesek, K., Covino, R., Inga, H., Hummer, G., and Ernst, R. (2017) Activation of the unfolded protein response by lipid bilayer stress. *Mol Cell* 67: 673-684.
- Houck, S. A., Ren, H. Y., Madden, V. J., Bonner, J. N., Conlin, M. P., Janovick, J. A., Conn, P. M., and Cyr, D. M. (2014) Quality control autophagy degrades soluble ERAD-resistant conformers of the misfolded membrane protein GnRHR. *Mol Cell* 54: 166-179.
- Ishida, Y., Yamamoto, A., Kitamura, A., Lamandé, S. R., Yoshimori, T., Bateman, J. F., Kubota, H., and Nagata, K. (2009) Autophagic elimination of misfolded procollagen aggregates in the endoplasmic reticulum as a means of cell protection. *Mol Biol Cell* 20: 2744-2754.
- Lajoie, P., Moir, R. D., Willis, I. M., and Snapp, E. L. (2012) Kar2p availability defines distinct forms of endoplasmic reticulum stress in living cells. *Mol Biol Cell* 23: 955-964.
- Nguyen, T. B., Louie, S. M., Daniele, J. R., Tran, Q., Dillin, A., Zoncu, R., Nomura, D. K., and Olzmann, J. A. (2017) DGAT1-dependent lipid droplet biogenesis protects mitochondrial function during starvation-induced autophagy. *Dev Cell* 42: 9-21.
- Ogasawara, Y., Kira, S., Mukai, Y., Noda, T., and Yamamoto, A. (2017) Ole1, fatty acid desaturase, is required for Atg9 delivery and isolation membrane expansion during autophagy in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biol Open* 6: 35-40.
- Oku, M., Maeda, Y., Kagohashi, Y., Kondo, T., Yamada, M., Fujimoto, T., and Sakai, Y. (2017) Evidence for ESCRT- and clathrin-dependent microautophagy. *J Cell Biol* 216: 3263-3274.
- Petschnigg, J., Wolinski, H., Kolb, D., Zelling, G., Kurat, C. F., Natter, K., and Kohlwein, S. D. (2009) Good fat, essential cellular requirements for triacylglycerol synthesis to maintain membrane homeostasis in yeast. *J Biol Chem* 284: 30981-30993.
- Pineau, L., Colas, J., Dupont, S., Beney, L., Fleurat-Lessard, P., Berjeaud, J. M., Bergès, T., and Ferreira, T. (2009) Lipid-induced ER stress: Synergistic effects of sterols and saturated fatty acids. *Traffic* 10: 673-690.
- Promlek, T., Ishiwata-Kimata, Y., Shido, M., Sakuramoto, M., Kohno, K., and Kimata, Y. (2011) Membrane aberrancy and unfolded proteins activate the endoplasmic reticulum stress sensor Ire1 in different ways. *Mol Biol Cell* 22: 3520-3532.
- Rambold, A. S., Cohen, S., and Lippincott-Schwartz, J. (2015) Fatty acid trafficking in starved cells: Regulation by lipid droplet lipolysis, autophagy, and mitochondrial fusion dynamics. *Dev Cell* 32: 678-692.
- Seo, A. Y., Lau, P. W., Feliciano, D., Sengupta, P., Le Gros, M. A., Cinquin, B., Larabell, C. A., and Lippincott-Schwartz, J. (2017) AMPK and vacuole-associated Atg14p orchestrate μ -lipophagy for energy production and long-term survival under glucose starvation. *Elife* 6: e21690.
- Shibata, M., Yoshimura, K., Furuya, N., Koike, M., Ueno, T., Komatsu, M., Arai, H., Tanaka, K., Kominami, E., and Uchiyama, Y. (2009) The MAP1-LC3 conjugation system is involved in lipid droplet formation. *Biochem Biophys Res Commun* 382: 419-423.
- Singh, R., Kaushik, S., Wang, Y., Xiang, Y., Novak, I., Komatsu, M., Tanaka, K., Cuervo, A. M., and Czaja, M. J. (2009) Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature* 458: 1131-1135.
- Teckman, J. H. and Perlmuter, D. H. (2000) Retention of mutant alpha(1)-antitrypsin Z in endoplasmic reticulum is associated with an autophagic response. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 279: G961-974.
- Tsuji, T., Fujimoto, M., Tatematsu, T., Cheng, J., Orii, M., Takatori, S., and Fujimoto, T. (2017) Niemann-Pick type C proteins promote microautophagy by expanding raft-like membrane domains in the yeast vacuole. *Elife* 6: e25960.
- Velázquez, A. P., Tatsuta, T., Ghillebert, R., Drescher, I., and Graef, M. (2016) Lipid droplet-mediated ER homeostasis regulates autophagy and cell survival during starvation. *J Cell Biol* 212: 621-631.
- Vevea, J. D., Garcia, E. J., Chan, R. B., Zhou, B., Schultz, M., Di Paolo, G., McCaffery, J. M., and Pon, L. A. (2015) Role for lipid droplet biogenesis and microlipophagy in adaptation to lipid imbalance in Yeast. *Dev Cell* 35: 584-599.
- Volmer, R., van der Ploeg, K., and Ron, D. (2013) Membrane lipid saturation activates endoplasmic reticulum unfolded protein response transducers through their transmembrane domains. *Proc Natl Acad Sci* 110: 4628-4633.
- Wang, C. W., Miao, Y. H., and Chang, Y. S. (2014) A sterol-enriched vacuolar microdomain mediates stationary phase lipophagy in budding yeast. *J Cell Biol* 206: 357-366.
- Wei, Y., Pattingre, S., Sinha, S., Bassik, M., and Levine, B. (2008) JNK1-Mediated phosphorylation of Bcl-2 regulates starvation-induced autophagy. *Mol Cell* 30: 678-688.
- Zimmermann, C., Santos, A., Gable, K., Epstein, S., Gururaj, C., Chymkowitch, P., Pultz, D., Rødkær, S. V., Clay, L., Bjørås, M., Barral, Y., Chang, A., Færgeman, N. J., Dunn, T. M., Riezman, H., and Enserink, J. M. (2017) TORC1 inhibits GSK3-mediated Elo2 phosphorylation to regulate very long chain fatty acid synthesis and autophagy. *Cell Rep* 18: 2073-2074.
- van Zutphen, T., Todde, V., de Boer, R., Kreim, M., Hofbauer, H. F., Wolinski, H., Veenhuis, M., van der Klei, I. J., and Kohlwein, S. D. (2014) Lipid droplet autophagy in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell* 25: 290-301.

Received: 15 March 2018 / Accepted: 11 April 2018