

# 細胞内エネルギー変換部門

大 隅 良 典

当研究部門は、平成8年4月に新しくスタートしました。現在ようやくスタッフが整い、細胞生物学分野の新しい研究室の確立を目指しています。当面、自食作用の機構とその生理的な意義の解明を合い言葉に研究を進めています。

## 栄養飢餓ストレス

自然界に生息する生命体にとって栄養源をいかに確保するかは、最も重要な進化上の要因であったに違いない。しかし外界に常に十分な栄養源が保証されている訳ではない。従って自己をとりまく環境の様々な栄養条件をいかに感知し、内部の活性を制御するか、さらに飢餓条件下に生存率をいかに維持するかもまた進化の過程できわめて重要な選択圧の1つであったに違いない。

## 自食作用とは

外界の栄養源が枯渇したとき細胞は自己の構成成分を分解する。この自食作用 (autophagy) と呼ばれる生理現象は、真核細胞に普遍的であり、生理的にも重要な意味を持っているものと考えられる。酵母細胞は、窒素源の枯渇を引き金として減数分裂過程、すなわち胞子形成を誘導する。この細胞分化過程には、既存のタンパク質の大規模な分解が必須である。我々の肝細胞では、食事と食事の間の空腹時に活発な自食作用が繰り返されている。まだほとんど機構についての理解は進んでいないが、植物細胞では、個体の不要な部分を分解し、分解産物を新しい組織へ転流する事が日常的に行われているし、いわゆる老化 (senescence) に伴ってきわめて組織だった大規模な自己分解が進行する。自食作用は、無秩序な分解ではなく、高度に組織化された過程であるに違いない。

1955年に de Duve によってリソソームが発見されて以来、細胞内分解コンパートメントの役割と、分解機構は、多くの研究者の興味を駆り立ててきたが、今日に至ってもその分子レベルでの理解はほとんど進んでいない。その理由は、この問題が細胞活動の総合的な理解が必要とされる点と、リソソーム系を構成する膜系が複雑であり、かつきわめてダイナミックな動態を伴うために、解析の手がかりが得られなかったことによるものと思われる。

## 酵母の自食作用の発見

我々は、最近酵母細胞が種々の栄養飢餓に応答して自己の細胞質成分をリソソームと相同なオルガネラとして知られる酸性コンパートメントである液胞に送り込み、大規模に分解すること、その機構



図1 飢餓条件下の液胞蛋白分解酵素欠損株のフリーズレプリカ像

(左) 液胞内に細胞質の一部を囲んだ球形の膜構造，自食体が多数蓄積する。

(右) 細胞質に形成された二重膜構造，オートファゴゾームはその外膜で液胞膜と融合し液胞内に自食体(オートファジックボディ)を放出する。オートファゴゾームの膜は，内膜にはほとんど膜内粒子が認められない特異な構造をしていることが判る。

が高等動物細胞で広く知られている自食作用と同様な複雑な膜現象によって担われていることを見いだした。自食作用は，図1に示すような過程からなると考えられる。

栄養飢餓を細胞がどのように感知し一連の膜現象を誘導するのか，細胞質の一部を取り囲むオートファゴゾームと呼ばれる膜系がどのように形成されるのか，オートファゴゾームは，リソソームといかに特異的に融合するのか，オートリソソーム内でいかに膜系が分解されるのか，自食作用がどのように制御されているのかなど，興味深い課題が未解決のまま残されている。酵母はこれまで細胞周期や分泌などの複雑な過程を分子レベルで理解する上で先導的な役割を担ってきた。それは遺伝学的手法と分子生物学的な手法によって，それらの素過程を明らかにし，関与する分子を明らかにすることができたからに他ならない。

### 自食作用に関与する遺伝子群

我々は自食作用の欠損株 (*apg1-15*) を始めとして自食作用に関わる多数の変異株を分離し，現在これらの遺伝子の多くを単離する事に成功した。酵母は昨年全ゲノムの配列が報告されたが，これらの自食作用遺伝子 *APG* はいずれも未知の遺伝子であった。このことはこの分野の研究がこれまでほとんど手が付けられてこなかったことを示している。現在これらの遺伝子間相互作用，遺伝子産物の同定，発現調節，更に細胞内局在などについて解析を進めている。これらの遺伝子産物の構造と機能を明らかにすることによって自食作用が分子レベルで理解できると期待している。

## Autophagy in Yeast — Degradation System of Cytosol —

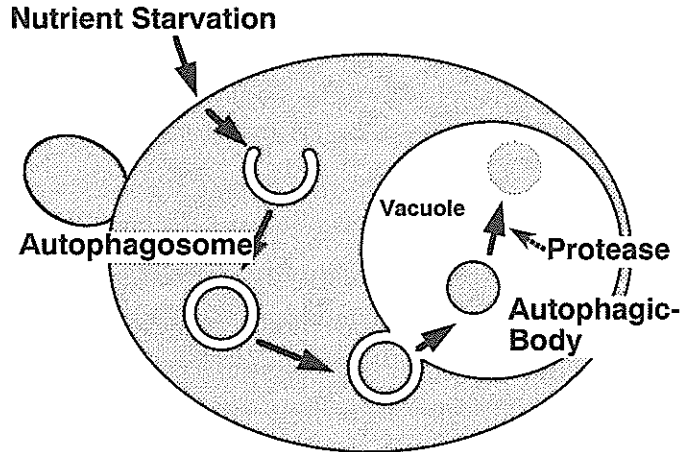


図2 酵母細胞における自食作用の模式図

細胞は様々な栄養源の飢餓を感知すると細胞質の一部を特異な膜嚢が取り囲んで二重膜構造を形成する。それらは液胞と融合して内膜に囲まれた構造を液胞内に送り込む。この過程には、少なくとも14個の APG 遺伝子が関与している。

### 自食作用の更なる理解を目指して

機能と細胞内の膜動態に関わる基本的な分子は、酵母からヒトに到るまで驚くほど進化の過程で保存されている。実際 APG 遺伝子の中には高等真核生物にも明らかに相同性を持つ遺伝子が存在することも明らかになって来た。酵母で得られた新しい知見は、高等動植物細胞の自食作用の機構の解明にも有力な手がかりを与えるに違いない。

細胞内分解コンパートメントにおける分解機構は、我々が解析を進めている非選択的な分解のみならず選択的な酵素やオルガネラの分解機構も存在することも近年明らかになってきた。その機構としてもオートファゴゾーム形成が関与するマクロオートファジーとリソソーム/液胞膜の陥入によるミクロオートファジーも存在するらしい。液胞酵素アミノペプチダーゼ I の液胞内移行に自食作用遺伝子群が必須であることが最近明らかとなった。非選択的な分解と液胞酵素の生合成が共通の分子装置を利用している点は極めて興味深い。細胞にとって重要な細胞内分解のメカニズムは単一な経路によっているとは考えられず、高等真核生物に固有の機構や制御系が存在するものと思われる。従って酵母をモデル系としつつ、高等動植物の示す栄養飢餓応答と自食作用の機構を明らかにするために動植物細胞の構築を現在進めている。

## 参考文献

1. Takeshige, K., Baba, M., Tsuboi, S., Noda, T., and Ohsumi, Y. (1992) Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and its conditions for induction. *J. Cell Biol.* 119, 301-311.
2. Tsukada, M., and Ohsumi, Y. (1993) Isolation and characterization of autophagy-defective mutants in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett.* 333, 169-174.
3. Baba, M., Takeshige, K., Baba, N., and Ohsumi, Y. (1994) Ultrastructural analysis of the autophagic process in yeast: Detection of autophagosomes and their characterization. *J. Cell Biol.* 124, 903-913.
4. Noda, T., Matsuura, A., Wada, Y., and Ohsumi, Y. (1995) Novel system for monitoring autophagy in the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 210, 126-132.
5. Baba, M., Ohsumi, M., and Ohsumi, Y. (1995) Analysis of the membrane structures involved in autophagy in yeast by freeze-replica method. *Cell Struc. Func.* 20, 465-471.
6. Scott, S. V., Hefner-Gravink, A., Morano, K. A., Noda, T., Ohsumi, Y., and Klionsky, D. J. (1996) Cytoplasm-to-vacuole targeting and autophagy employ the same machinery to deliver proteins to the yeast vacuole. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 12304-12308.
7. Kametaka, S., Matsuura, A., Wada, Y., and Ohsumi, Y. (1996) Structural and functional analyses of *APG5*, a gene involved in the autophagy in yeast. *Gene*, 178, 139-143.
8. Funakoshi, T., Matsuura, A., Noda, T., and Ohsumi, (1997) Analysis of *APG13* gene involved in the autophagy in yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene* 179, in press.
9. Matsuura, A., Tsukada, M., Wada, Y. and Ohsumi, Y. (1997) Apg1p, a novel protein kinase required for the autophagic process in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene* 179, in press.

