細胞内エネルギー変換機構研究部門

本研究部門は研究室の立ち上げから3年目に入り研究も軌道に乗り，細胞生物学分野の新しい領域の創出に意欲を燃やしている。細胞生物学の残された課題である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る。

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，最も重要であるに違いない。外界には常に充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機構を獲得するかは進化の過程で，きわめて重要な選択圧の1つであったに違いない。自食作用はそのような栄養飢餓に対する適応機能の1つであるが，生理的意義に関しては今後の課題である。

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。我々の肝細胞では，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。神経細胞においても自食作用が盛んに進行していることが近年報告されている。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と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立った大規模な自己分解が進行する。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不可欠である。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，この問題の解決には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。

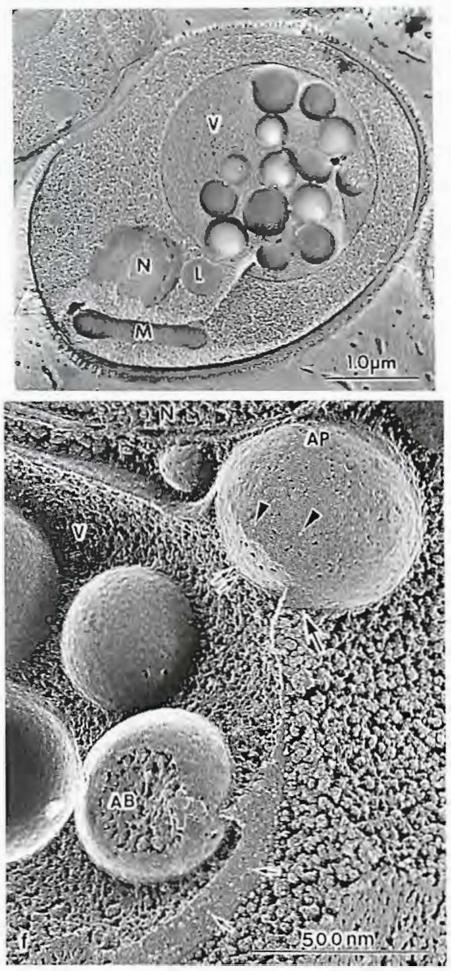

図1．飢餓条件下の液胞蛋白分解酵素欠損株のフリーズレプリカ像
（上）液胞内に細胞質の一部を囲んだ球形の膜構造、自食体が多数蓄積する。
（下）細胞質に形成された二重膜構造，オートファゴソームはその外膜で液胞膜と融合し液胞内に自食体（オートファジックボディ）を放出する。オートファゴソームの膜は，内膜にはほとんど膜内粒子が認められない特異な構造をしていることが判る。

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，その機構が高等動物細胞で広く知られている自食作用と相同で複雑な膜現象によって担われていること見いだした。自食作用

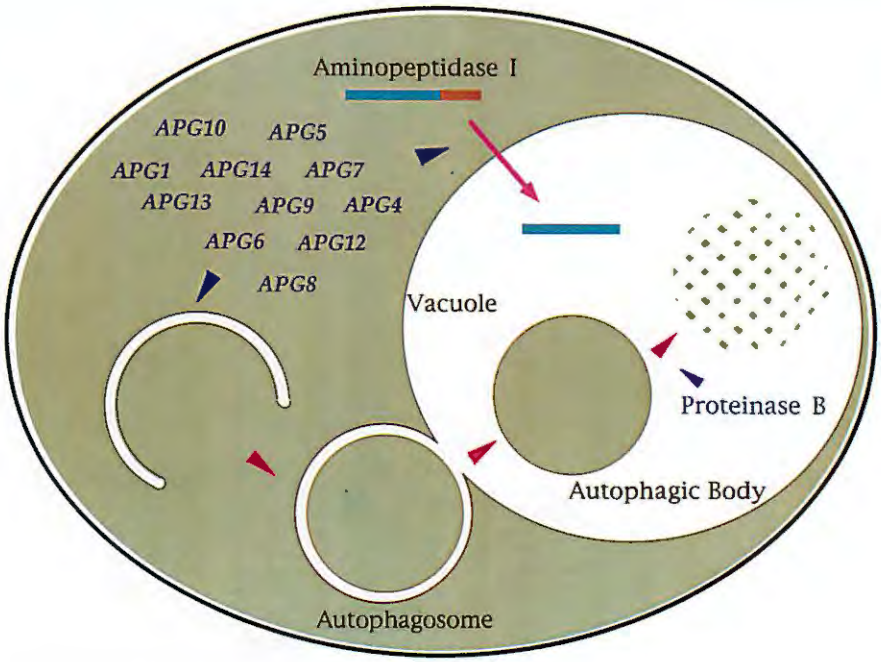

図2．酵母細胞における自食作用の模式図
細胞は様々な栄養源の飢餓を関知すると細胞質の一部を非選択的に特異な膜嚢が取り囲んで二重膜構造を形成する。それらは液胞と融合して内膜に囲まれた構造を液胞内に送り込む。この過程には，少なくとも14個の *APG* 遺伝子が関与している。

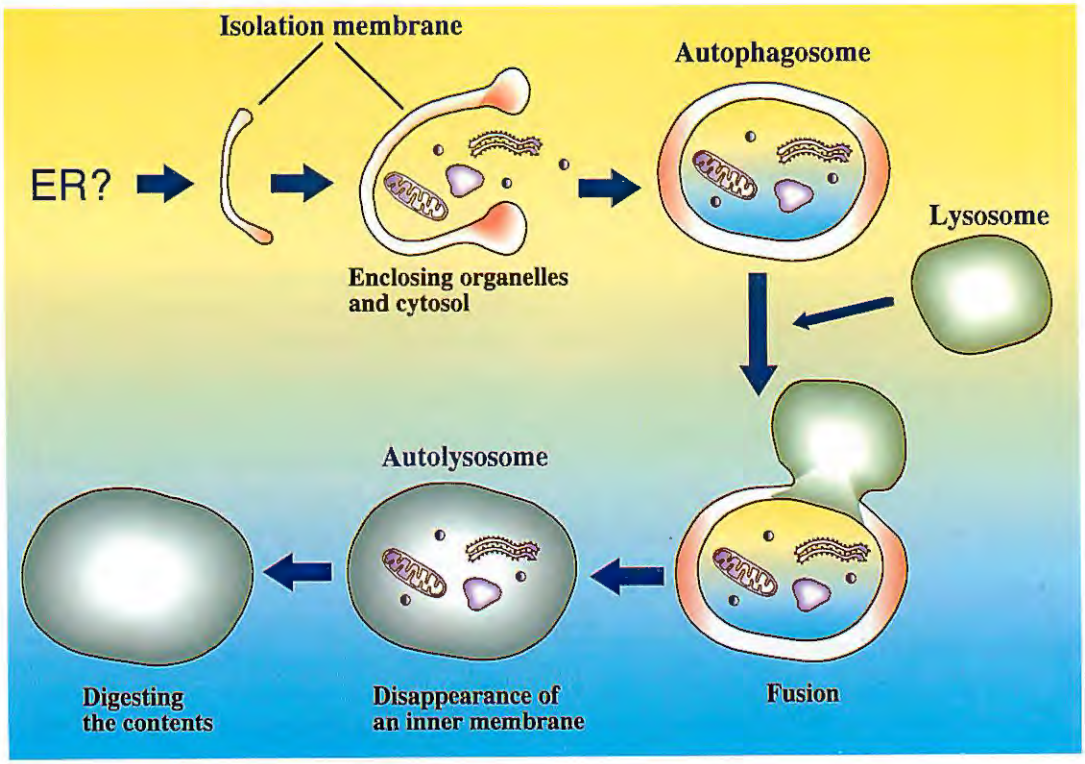

図3．自食作用の膜動態の模式図，栄養飢餓シグナルの伝達，オートファゴソームの形成，リソソームとの融合など，まだ分子レベルではまったく未解決の課題である。

は，図1に示すような過程からなると考えられる。

自食作用は窒素，炭素，リン酸，硫黄源など様々な飢餓によって誘導される。これらの多様な飢餓条件による独立のシグナル伝達系を想定するよりも細胞が外界の栄養飢餓を関知し，共通の機構によって自食作用を誘導することの方が考えやすい。最近我々はフォスファチジルイノシトールキナーゼのホモログである Tor が栄養源の関知に重要な役割を担っていることを見いだした。

自食作用の未解決の問題の1つは自食作用に伴う大規模な膜動態の機構に関するものである。オートファゴソーム形成は細胞内に新たに閉じた空間，コンパートメントを形成する機構であり，これまでに解析されてこなかった膜現象である。細胞質の一部を取り囲む二重膜の構造体，オートファゴソームがどこからどのように形成されるのか。オートファゴソームが，液胞／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なぜオートファジックボディ膜が容易に分解されるのか，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。

自食作用に関与する遺伝子群

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。それは遺伝学的な手法と分子生物学的な手法によって，それらの素過程に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。酵母は1昨年に全ゲノムの構造が明らかになった。我々は自食作用に関わる分子機構を解明することを目的としてこの分野にはじめて遺伝学的な手法を導入した。形態学的な指標に基づき得られた自食作用不能変異*(apg)*の相補を基に，現在までに自食作用に関わる15個の遺伝子を同定した。これらの自食作用遺伝子 *APG* 群はそのほとんどが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産物の系統的な解析が進み，自食作用における個々のタンパク質の機能が明らかになりつつある。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，さら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。

自食作用の更なる理解を目指して

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でバルクな分解のみならず選択的な酵素やオルガネラの除去機構も存在することが近年明らかになってきた。その機構としてオートファゴソ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。

我々は自食作用を遺伝学，生化学，細胞生物学，分子生物学，形態学などを駆使して総合的に解明することを目指している。細胞内の膜動態を担う基本的な分子装置は，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多細胞系に必須な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系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. (1994) *J. Cell Biol.* 124, 903-913.
4. Matsuura, A., Wada, Y., and Ohsumi, Y. Apglp, a novel protein kinase required for autophagic process in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene*, 192, 245-250 (1997).
5. Baba, M., Osumi, M, Scott, S. V., Vlionsky, D. J. and Ohsumi, Y. Two distinct pathways for targeting pro-

teins from the cytoplasm to the vacuole/lysosome. *J. Cell Biol.* 139, 1687-1695 (1997).

6. Noda, T. and Ohsumi, Y. Tor, a phosphatiylinositol kinase homolougue, controls autophagy in yeast. *J. Biol. Chem.* 273, 3963-3966 (1998).