



じつきょう 理科資料

NO. 77

サイエンス・プラザ

オートファジーについて

東京工業大学特任教授 大隅 良典

オートファジーとは、恐らく多くの読者にとって聞き慣れない言葉に違いない。今から26年前に私がオートファジーの研究を始めた当時は、親しい研究者の間でも“それってなに”と問われて、いちいち説明をする必要があった。オートファジーとは、これから説明するように細胞内の分解過程の1つであり、細胞が自身の細胞質構成成分をリソソームに運んで分解する過程であり、日本語では自食作用と呼ばれている。

読者の皆さんも、この頃ヒトの体は約60兆個の細胞からなるという記述にしばしば触れることがあると思う。すごい数だと思ふ反面、あまりぴんとこないかも知れない。一度自分で簡単な計算をして見ると、生命の面白さや不思議さ、本質が実感できることがある。私は今から20年ほど前になるが、東大の教養学部的一年生に対する最初の生物学の講義を、「僅か1秒間に君達の体で赤血球が何個造られるかを計算しなさい」という問いからはじめていた。健康診断や献血など、血液

検査をすると自分の赤血球数を知ることができる。また自分の血液を顕微鏡で見たことがあれば、血液には実に沢山の赤血球があることに気づいたことだろう。日本人男性でおよそ430～570万/ μl (mm^3)、女性では390～520万/ μl である。計算を簡単にするために500万個/ μl として、体重は65kgで、血液は体重の約1/13、赤血球の寿命は120日程度としよう。数分の簡単な計算によって、約300万個/秒という答えが得られる。赤血球の中にあって酸素の運搬に関わる赤い色素タンパク質であるヘモグロ빈は一秒間に 10^{15} 個(千兆個)造られている。我々の体がいかに動的な存在であるかを実感することができよう。

現代生物学は生命の機能が、タンパク質という高分子によって支えられていることを明らかにした。タンパク質は生体の最も主要な構成成分であり、ほぼ全ての生命活動はタンパク質によって支えられている。核の中に収められている遺伝情報の本体であるDNAに書き込まれている情報は、

◆ も く じ ◆

サイエンス・プラザ

オートファジーについて…………… 1

トピックス

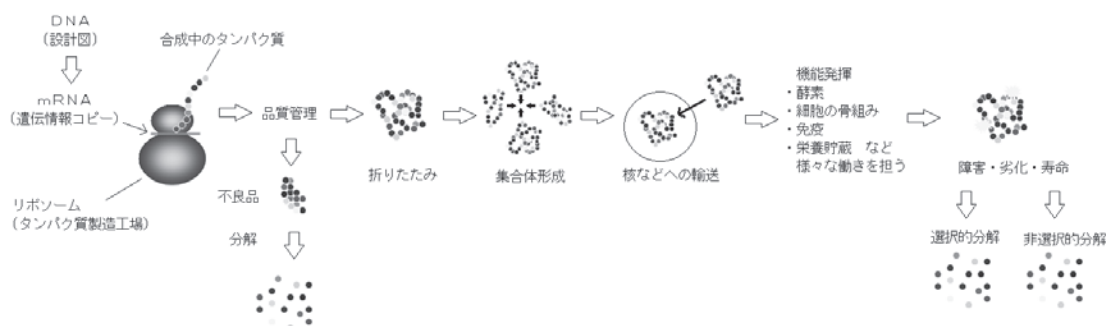
集中豪雨のメカニズム…………… 7

トピックス

文化財の謎を解く科学機器分析…………… 11

高校生へ私が選んだ1冊の本

間違いだらけの物理学…………… 14



どのようなタンパク質を、何時、どこで、どれだけ作りなさいという暗号文である。現代生物学を学ぶと、生命活動の実際の担い手として最も重要な高分子として、タンパク質について学ぶ。実際多くの生物学者は、日々様々な視点からタンパク質の研究に携わっている。タンパク質は、アミノ酸がおよそ100個から1000個程度、決まった配列で直鎖状につながった高分子である。アミノ酸はアミノ基とカルボキシル基という2つの手を持っている化合物で、天然には多数の分子が存在する。しかしタンパク質を構成するアミノ酸は、バクテリアからヒトに至るまで、地球上のすべての生物は、共通の決まった20種類だけが使われている。これは遺伝情報がこれらのアミノ酸を指定していることに起因しており、地球上の全ての生命はただ一つの細胞の子孫であることの、大きな証拠の一つであると考えられている。アミノ酸は2つの手で互いにペプチド結合をすることで、次々とつながることができる。たった5つのアミノ酸を繋いだ分子（ペプチド）を考えると、その種類は $20 \times 20 \times 20 \times 20 \times 20$ 通り、320万種類になることから、タンパク質はほぼ無限の多様性を持っていることが理解できよう。前述の赤血球は末端組織でエネルギー産生を進めるために、酸素を肺から全身に運ぶために特化した細胞で、中にはヘモグロビンという赤い色素タンパク質が密に詰まっていて、肺で酸素を結合して全身の組織へと酸素を運び、二酸化炭素を肺に戻している。ヘモグロビン分子の決まったアミノ酸配列の中の、僅か1つのアミノ酸が変化しただけで、その個体は生死に関わることから、アミノ酸の配列順序は

厳密に決まっており、機能の上でも極めて重要であることが分かる。タンパク質はアミノ酸が並んだ直鎖状の高分子であるが、折りたたまれて決まった形をとって、それぞれ固有の機能を発揮する。違った形のレゴのピースからいろいろな形の構造を作ることができるように、アミノ酸はそれぞれ個性的な形や性質を持っているので、様々な形を作ることができる。また、アミノ酸のきちんとした立体構造が失われると、タンパク質はその機能を失ってしまう。

赤血球の例からも分かるように、私達の体の中では絶えず細胞が入れ替わっているが、細胞の中に目を転じて、同じようなことが起こっている。即ち、タンパク質も激しく入れ替わっている。これが生命体と我々が造る機械との、最も大きな違いである。

一方、タンパク質という言葉に初めて接するのは小中学校で、大事な栄養素の一つとして学習する。肉や大豆などに含まれるタンパク質は、胃や腸で分解酵素の働きでアミノ酸に分解され、小腸で吸収されることも学ぶ。このタンパク質の消化という過程は、理解しにくいかもしれないが、我々の体の外で起こる反応だということを理解して欲しい。口から肛門に至るいわゆる消化管は、外と繋がっていて、アミノ酸は小腸で吸収されることで初めて体の中に入ったことになる。この過程で大切なことは、食事から得るタンパク質は、直接タンパク質として利用されるわけではなく、自分に必要なタンパク質を合成するための原料であるアミノ酸を得るためであるということである。アミノ酸はタンパク質の原料として生命にとって

最も基本的な化合物であり、微生物や植物はそれらを全て自分で簡単なアンモニアや硝酸などの窒素化合物から合成することができる。一方ヒトも含めた動物は、他の生物を食べ物としてタンパク質を摂るという進化を遂げてきたので、一部のアミノ酸を自分自身で作ることを止めて、アミノ酸の合成に必要な酵素タンパク質を作るための遺伝子を捨ててしまった。そのためヒトでは8個のアミノ酸は必須アミノ酸と呼ばれ、食物中のタンパク質から摂取する必要がある。

タンパク質は私達の体の中で一番存在量が多い物質でもあり、我々は1日に300g程度のタンパク質を合成していると見積もられている。ところが一日の食事に含まれるタンパク質は70g程度である。ではこれらのタンパク質の合成に必要なアミノ酸はどこからくるのであろうか。

その答えは、生物は自分自身のタンパク質を分解して生じるアミノ酸を効率よく使い回し、リサイクルして必要なタンパク質を合成しているのである。その効率は高いので、食べ物として摂らなければいけないタンパク質は少なくて済む。よく新聞やテレビで、海や山で遭難して、ただ水だけで1週間生き抜いたといった記事に出くわす。なにも食べ物を摂らなくても、生存を確保するために必要なタンパク質合成が続けられる秘密は、この見事なリサイクル機構のお陰である。タンパク質はそれぞれ寿命があって、短いものは合成されて数分で分解される物から、数ヶ月安定的に存在しているものもある。我々の見た目には日々殆ど変化しているようには見えないが、私達を構成しているタンパク質は、ほぼ2・3ヶ月で完全に入れ替わっているのである。

さて本稿の主題である、細胞内でのタンパク質の分解機構に話を進めよう。タンパク質の合成は勿論エネルギーを必要とする過程であるが、ものを分解する過程は無秩序に向かわせる方向の反応なので、一般的にはエネルギーのいらない反応である。タンパク質は壊れるのでそれを補填している、即ち分解は受動的な過程であると考えられていた。1930年代の末に同位元素を使ってタンパク

質の分解を測定した Schoenheimer の先駆的な研究に基づいて、タンパク質の代謝回転という概念が提出されたが、一般には受け入れられなかった。

細胞内のタンパク質分解を研究する端緒は、de Duve



Dr. Christian de Duve

によるリソソームの発見である。彼は、細胞分画法により様々な分解酵素を含んだ膜構造体を発見し、リソソーム (lysosome, ライソソーム) と名付けた。タンパク質合成の装置であるリボソームは、細胞質にあり、全てのタンパク質は細胞質で造られる。できたタンパク質が細胞質で無差別に分解されると、ただ無駄な合成と分解が進行し、細胞の機能が維持できなくなることは容易に想像される。タンパク質の分解は何らかの機構で厳密に制限される必要があるが、リソソームと呼ばれる膜構造の中に分解酵素を閉じ込めて、分解をその内に閉じ込めることは、合理的な戦略である。リソソームが発見されて以来、リソソームに分解されるものを運ぶ経路が、電子顕微鏡によって調べられた。その結果、細胞外の細菌やタンパク質が細胞内部に取り込まれて、その膜構造がリソソームと融合することで中身が分解される、今でいうエンドサイトーシスやファゴサイトーシス、いわゆる貪食作用が明らかとなった。さらに膜の袋が自身の細胞質の一部を取り囲んで2重膜構造、オートファゴソームが造られ、それがリソソームと融合して、中の膜ごと中身が分解される過程が見いだされた。後者の自分自身の構成成分の分解を、de Duve はオートファジーと名付けた。オートは「自分」を意味し、ファジーは「食べる」を意味する造語である。このようにオートファジーの研究はそれなりの歴史があるが、その後も電子顕微鏡によるオートファジーの様々な細胞での

形態学的な記載に留まり、大きな進展が見られなかった。オートファジーが非選択的な分解であり、それを検出するためのいい手段がなく、その検出には高度な電子顕微鏡技術が必須であったことがその一因であろう。

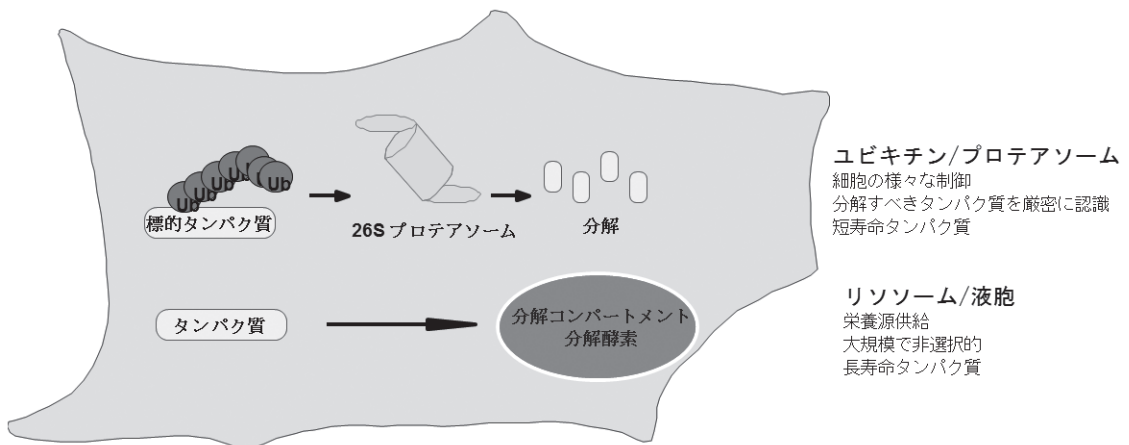
ところが30年ほど前に、ユビキチン/プロテアソームという細胞内の分解系が見いだされた。この系では一つ一つのタンパク質を分解するための目印として、ユビキチンと呼ばれる小さなタンパク質が付けられて、細胞質にある巨大なプロテアソームという酵素で分解される。この過程には分解すべきタンパク質を厳密に認識して標識する過程と、それらをプロテアソームで分解する過程にエネルギーを必要とする。この経路が寿命の短い制御に関わる重要なタンパク質の分解に関わり、細胞周期を始めとする様々な生命現象を制御していることが次々と明らかになってきた。実はタンパク質は壊れるのではなく、積極的に壊していることが明らかになった訳である。こうしてタンパク質分解が生物学の表舞台に登場することになった。

私は酵母の液胞と呼ばれるオルガネラの研究を進めて、その比較的大きなコンパートメントが、アミノ酸を貯蔵したりして細胞の恒常性に大事な役割を担っていることを示した。またリソソームと同様に、液胞の内部は酸性に保たれていることが知られていたが、その酸性化がV-type

ATPase と呼ばれるプロトンポンプによっていることを示してきた。リソソーム酵素は酸性領域で活性を持っており、細胞質では活性が抑えられることが重要であると考えられている。

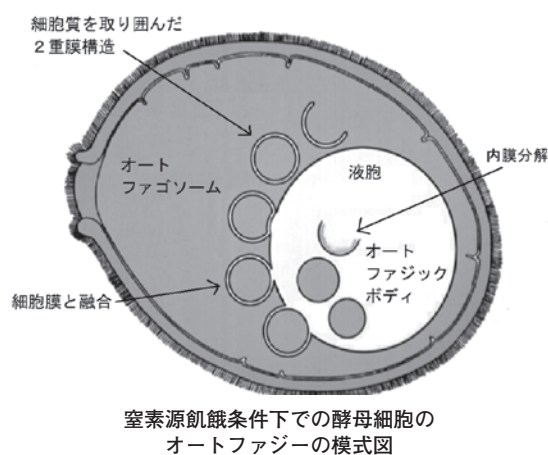
酵母の液胞には様々なタンパク質分解酵素を始めとする分解酵素が含まれていることは知られていた。しかしその役割は全く分かっていなかった。1988年に小さな研究室を立ち上げたのを機に、液胞の分解コンパートメントとしての機能の解明を研究テーマにしよう考えた。何が、何時、どのような機構で液胞内の酵素によって分解されるのかという問題である。酵母は外部環境に窒素源がなくなると、減数分裂をして、4つの胞子を形成する。この細胞の大きな作り替えが窒素源のない状況で起こるためには、細胞内で大規模な自分自身のタンパク質の分解が起こるに違いないと考えた。

もう一つ、私は液胞を研究する過程で、始終顕微鏡で液胞を観察していた。実際に液胞は光学顕微鏡で唯一見ることができるオルガネラである。ある時、液胞内のタンパク質分解酵素を欠損した酵母を、窒素源を欠いた培地で培養すると、分解されるべく液胞に運ばれたものが、壊されずに顕微鏡下に見えないだろうかと考えた。結果はまさにその通りで、30分もすると、液胞内に球形の構造が現れ、3時間後には液胞中がこの球形で埋め尽くされた。野生株では直ちに分解されるので



細胞内タンパク質分解システム

その蓄積は認められない。この過程を電子顕微鏡で詳細に調べた結果、液胞内の球形の構造はまさしく細胞質の一部を膜で囲んだ構造であることが分かった。このような細胞質を含む膜構造が液胞内に生じる可能性は2つ考えられた。液胞膜が貫入してちぎれるか、まず細胞質中に細胞質を取り囲んだ2重膜の構造が造られ、その外膜が液胞膜と融合する過程である。電子顕微鏡観察の結果、液胞内に現れた、オートファジックボディと名付けた構造と同じ大きさで2重膜を持つ構造、酵母のオートファゴソームが細胞質に見いだされた。従ってこの過程が、それまで動物細胞で報告されてきたオートファジーと、液胞がリソソームに比べて遥かに大きいことを除けば、膜のトポロジーとしては全く同じであることが明らかとなった。



酵母は生物学上で大変大きな役割を担っていたが、その最大の利点は遺伝学的な解析が容易であり、複雑な現象に関わる遺伝子、その関わるタンパク質を知ることができる点にある。そこでオートファジーの過程に必要な遺伝子を明らかにするために、遺伝学的アプローチを試みた。遺伝子変異によってオートファジーができない変異株、オートファジー不能変異株を取ることとなった。しかし不能変異株がどのような性質を示すかに関しては何も情報がないので、飢餓条件下にオートファジックボディが蓄積できない株の単離をすることにした。詳細は省くことにするが、我々はこう

して形態学的な指標を用いて、オートファジーには少なくとも15個のATG遺伝子が必要であることを示すことに成功した。それらの株はいずれも、飢餓下にタンパク質分解を誘導できず、胞子形成不能であった。栄養が十分にありある培地での増殖は野生株と全く変わらないが、窒素源飢餓下に長くおかれると2日目から死に始めること、則ちオートファジーが飢餓下の生存に必須であることが分かった。その後僅か3つの遺伝子がオートファジーに必須であったことから、このスクリーニングが大変効率的であることがわかり、その後の解析が容易になった。

一旦変異株が得られると、次のステップはそれらのオートファジーに必要なATG遺伝子をクローニングして、その遺伝子がコードするAtgタンパク質を同定することである。幸い酵母の全ゲノムが決定されたこともあり、短期間の間にそれらの遺伝子を同定することができた。しかしそのほとんどが新規の遺伝子であり、タンパク質の機能を推定することはできない時期が続いた。しかしほぼクローニングが完了に近づいた頃、一気にそれらのタンパク質の役割があきらかとなった。則ちそれらが6つの機能単位からなることが示された。驚いたことに、その約半数はユビキチン経路と同様な反応経路でタンパク質同士を結合する系、膜リン脂質の1つであるホスファチジルエタノールアミンと結合する反応にかかわることが見いだされた。またリン脂質のリン酸化反応を担う、イノシトール3リン酸キナーゼ複合体、タンパク質キナーゼ複合体などを構成していることが次々に見いだされた。これらのAtgタンパク質はいずれもオートファジーに特異的な膜現象、オートファゴソーム形成に関わっている。これらのAtgタンパク質の大半は、その後、酵母からヒトに至る哺乳類、さらに植物にまでよく保存されていることが明らかになった。

こうしてATG遺伝子が見いだされたことで、オートファジー研究は新しい時代を迎えることになった。Atgタンパク質に蛍光タンパク質を付けることで、細胞内や組織内でのオートファジーの

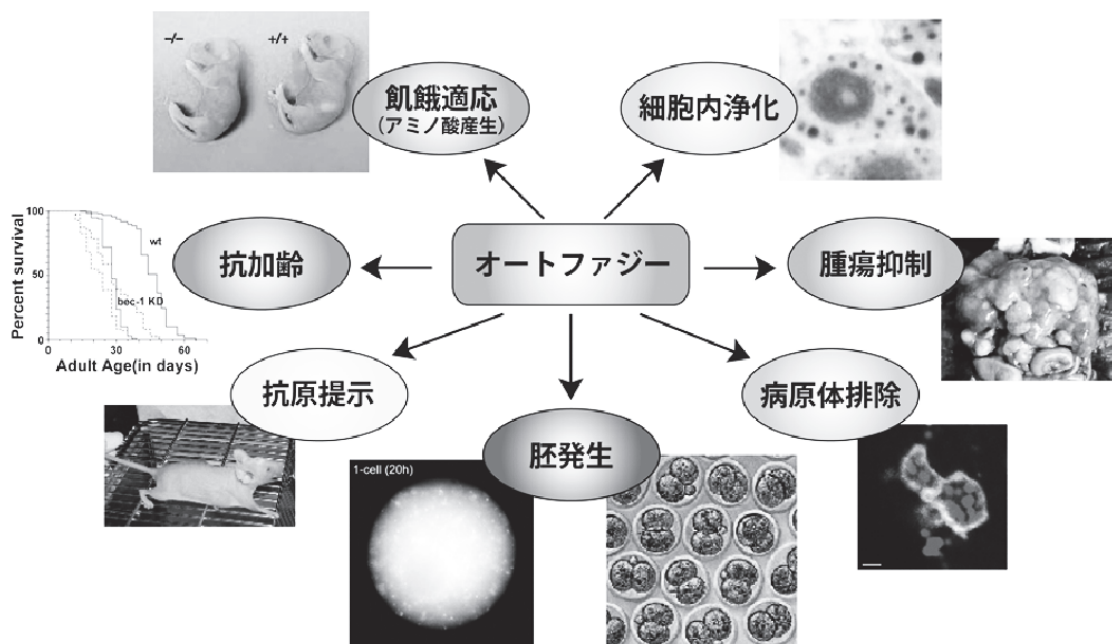
進行を蛍光顕微鏡下に実時間観察することが可能となった。またそれらの遺伝子を破壊することによって、様々な細胞、器官、個体におけるオートファジーの生理的な役割が続々と見いだされている。こうしてオートファジー研究は目覚ましい勢いで世界中から注目される領域に発展し、今も新しい発見が続いている。

当初考えられていた細胞の飢餓に対する応答としての栄養素のリサイクルに留まらず、細胞内で不要であったり、危険なタンパク質や障害したオルガネラなどの分解を通じて、細胞の質や量の管理機構として大切であったりすることが明らかとなった。細胞内に入り込んだ病原体の除去を通じた免疫機構、さらには神経変性疾患やガンなどの病態との関連など続々とその重要性が明らかとなってきた。これらに関しては他の書に譲ることにしたい。

タンパク質の分解は、合成に劣らず生体の機能に多彩で必須の機能を果たしていることがこれまでの研究から明らかになってきた。

もう一つ強調しておきたいことは、このように現在非常に大きな広がりを持つ領域に発展してき

たオートファジー研究のきっかけは、酵母という小さな細胞を使った研究であったという点である。研究は予想を超えた展開をするし、基礎的な研究から急速に医療などの応用面が開けてくることも理解して欲しい。



オートファジーは、生活習慣病・多種多様な疾患の発症抑制、免疫・老化など健康維持との関連をもつことなどが明らかになってきている。