

オートファジー

竹居 孝二*, 山田 浩司

岡山大学学術研究院医歯薬学域 生化学

Autophagy

Kohji Takei*, Hiroshi Yamada

Department of Neuroscience, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University

はじめに

オートファジー (autophagy) は、生物が生命維持に必要なアミノ酸を生成するために細胞内で自らのタンパク質を分解する現象で、酵母から哺乳類、植物にも共通して広く存在する。大隅良典博士 (東京工業大学栄誉教授) が、出芽酵母を用いた実験によりオートファジーに必要な遺伝子を発見したことが契機となり、オートファジー研究が飛躍的に発展し、オートファジーの分子機構が解明されてきた。本稿では、オートファジーの発見の経緯と、そのプロセスと分子機構について概説する。

オートファジーの発見

“Autophagy” はギリシャ語の auto (自己) と phagein (食べる) を組み合わせた “自食作用” を意する造語である。1963年に開催されたリソソームのシンポジウムにおいて、クリスチャン・ド・デューブ (Christian de Duve: リソソームの発見により1974年ノーベル生理学・医学賞受賞) が、細胞外成分の取り込み・分解を “heterophagy”, 細胞内成分の分解を “autophagy” と区別したのが始まりである¹⁾。オートファジー研究は、

1990年頃までは生化学と電子顕微鏡による形態学的観察が主体であったが、酵母遺伝学の手法によりオートファジーの機能分子を同定し、その後のオートファジー研究発展の先鞭をつけたのが大隅良典博士である。1980年代には、出芽酵母を低栄養培地に移すと細胞のタンパク質分解が誘導され、液胞 (哺乳類のリソソームに相当するオルガネラ) でタンパク質が分解されることが示唆されていたものの、その機構は全く不明であった。1988年に研究室を立ち上げた大隈博士は、液胞での分解酵素を阻害することにより、分解のプロセスを可視化しようと考えた。液胞内タンパク質分解酵素の欠損株や、特異的プロテアーゼ阻害剤を添加した野生株の出芽酵母を、位相差顕微鏡と電子顕微鏡により観察することにより、1992年には液胞内で分解されずに蓄積した構造体 (オートファジックボディー) を²⁾、1994年には液胞と融合するオートファゴソームを発見した³⁾。併行して、オートファジー不能変異株を単離し、1993年には酵母のオートファジーに必要な ATG (autophagy-related) 遺伝子14種類を発見した⁴⁾。その後 ATG 遺伝子がつくる Atg タンパク質群の機能解析をすすめ、分子レベルでのオートファジー研究の礎を築いた。大隈博士は2016年にオートファジーのメカニズムの発見によりノーベル生理学・医学賞を単独受賞したが、その

際、最も評価された業績が1993年の ATG 遺伝子発見の論文である⁴⁾。

オートファジーのプロセスと分子機構

オートファジー過程の概略を図1に示す。オートファジーは、細胞内に小さな扁平状の膜小胞 (前駆体) が出現することにより開始される (I)。膜小胞は伸張しながら凹むように変形して隔離膜となり、分解する物質 (細胞質のタンパク質、ミトコンドリアなど) を包み込むようになる (II)。最終的に隔離膜は封鎖され、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、二重膜 (内膜と外膜) により分解する物質を周囲の細胞質から隔離した状態にする (III)。その後、オートファゴソームは分解酵素を内包するリソソーム (酵母や植物では液胞) と融合し (IV)、オートファゴソームの内膜とその内容物は、液胞/リソソーム内の分解酵素により分解される (V)。分解産物は細胞質に戻されて再利用される。

次に、オートファジーの各プロセスの分子機構について概説する。前駆体の出現 (I) から隔離膜の伸張 (II) までは ATG 遺伝子がコードする Atg タンパク質により制御されている。Atg タンパクのなかでもコア Atg タンパク質とよばれる分子群 (Atg1-10, 12-14, 16, 18) は、以下の6種の機能ユニットを構成する (①~⑥、分子名は酵母と哺乳類ホモログ名を

2023年5月26日受理

*〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話: 086-235-7120

FAX: 086-235-7126

E-mail: kohji@md.okayama-u.ac.jp

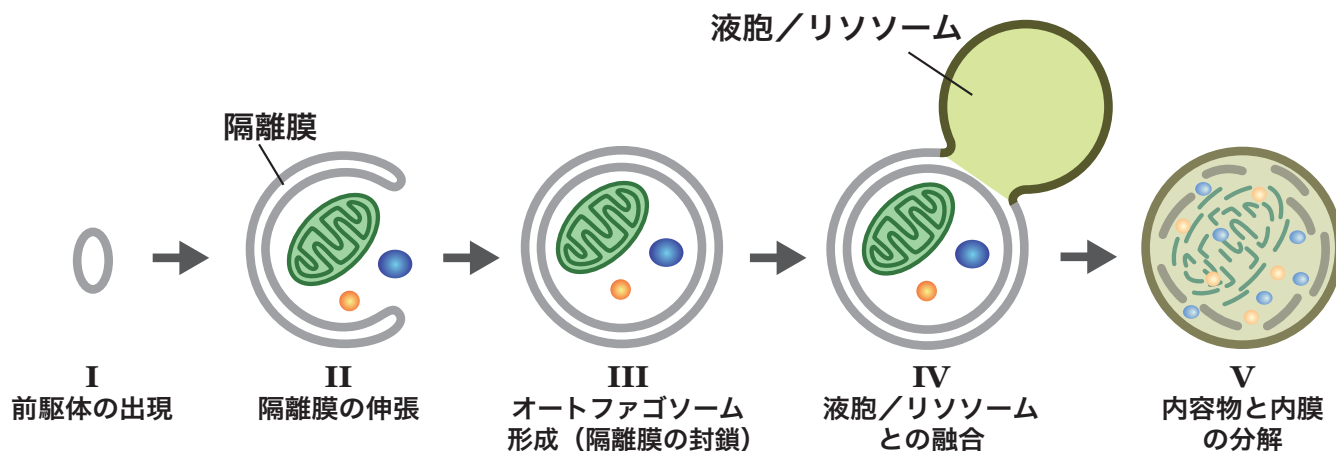


図1 オートファジーのプロセス

併記)。

- ① Atg1/ULK1 タンパク質リン酸化酵素複合体 (Atg1/ULK1 複合体)
- ② Atg9/ATG9 小胞
- ③ ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ複合体 I (PI3K 複合体 I)
- ④ Atg2-Atg18/ATG2-WIPI 複合体
- ⑤ Atg12-Atg5-Atg16/ATG12-ATG5-ATG16L 複合体 (Atg16/ATG16L 複合体)
- ⑥ Atg8-ホスファチジルエタノールアミン(PE) 結合反応系 (Atg8/LC3 反応系)

オートファジーが誘導されると、オートファゴソームの“形成の場”にこれらの機能ユニットが集まる。その場所は、出芽酵母では液胞の近傍で、pre-autophagosomal structure (PAS) と呼ばれる。哺乳類では小胞体上 (特にミトコンドリアとの接触部位) の複数の場所が“形成の場”となる⁵⁾。まず、Atg1/ULK1 複合体 (①: Atg1, Atg13, Atg17, Atg29, Atg31を含む) により足場が形成され、そこに Atg9/ATG9 小胞 (②) が結合する。続いて PI3K 複合体 I (③) がリクルートされる。さらに Atg2-Atg18/ATG2-WIPI 複合体 (④) と Atg16/ATG16L 複合体 (⑤) が局在化すると、Atg16/ATG16L 複合体 (⑤) に依存して Atg8/LC3 反

応系 (⑥) が膜リン脂質である PE に共有結合し、Atg8/LC3 は隔離膜に安定して局在ようになる (このため、Atg8/LC3 は隔離膜、オートファジーのマーカーとして頻用される)。

以上のように、各機能ユニットにはヒエラルキーがあり、それらが段階的に機能することにより隔離膜前駆体が出現する。ヒエラルキーのトップにいたのが、オートファジーのための“足場”を形成する Atg1/ULK1 複合体 (①) である。飢餓時には TOR (target of rapamycin) 複合体 1 (TORC1) のプロテインキナーゼ活性が低下して Atg13 (Atg1/ULK1 複合体の構成分子のひとつ) が脱リン酸化されると、Atg1/ULK1 複合体が多数集まって超複合体となり、これが“足場”となる。実験的にオートファジー誘導に頻用されるラパマイシン (mTOR 阻害剤) も、飢餓刺激と同様に Atg13 を脱リン酸化状態にして足場形成を促進し、オートファジーを誘導する。Atg1/ULK1 複合体は、液-液相分離により液滴を形成し、さらに液滴は分子間相互作用を介して膜に結合することが *in vitro* で観察されており、Atg1/ULK1 複合体の液-液相分離が、液胞膜付近でオートファジーを

起こすための仕組みであると考えられる⁶⁾。

Atg1/ULK1 複合体 (①) により形成された足場には Atg9/ATG9 小胞 (②) が結合するが、隔離膜の伸張 (Ⅱ) には Atg9/ATG9 小胞のみでは不十分で、隔離膜は主に小胞体からの脂質膜供給を受ける。この脂質膜供給の役を果たすのが Atg2-Atg18/ATG2-WIPI 複合体 (④) である。この複合体の Atg18/WIPI は隔離膜上で PI3K 複合体 I (③) が生成する PI3P に結合し、一方、Atg2/ATG2 は隔離膜と小胞体膜に結合して、小胞体から隔離膜へ膜脂質を移動させる脂質輸送タンパクとして機能する^{7,8)}。その他、小胞体からゴルジ装置への輸送小胞である COPII 小胞も膜供給源となる⁹⁾。

隔離膜の開口部は、最終的に封鎖されてオートファゴソームになる (Ⅲ)。これにより、一層の連続した膜で構成された隔離膜が、オートファゴソームの二層の膜 (内膜と外膜) になるので、隔離膜の封鎖は、膜を切断する過程とみなすことができる。この膜切断に機能するのが ESCRT (endosomal sorting complex required for transport) である¹⁰⁾。ESCRT はエンドソーム膜上に重合して内腔に膜を押し込み、膜をくびり切って多

胞体を形成する因子として同定されたもので、細胞質分裂においても、細胞膜狭窄部にらせん状に重合して、細胞膜を切断することが知られている。オートファゴソーム形成も含めて、ESCRT の機能が“膜切断”という点で共通していることは興味深い。

オートファゴソームと液胞／リソソームとの融合 (Ⅳ) は、先ず、これらのオルガネラがテザリング (繋留) され、次にオートファゴソーム外膜と液胞／リソソーム膜との膜融合が起こる。テザリングの主要分子は vacuolar protein sorting 11 (VPS11), Vps16, VPS18, Vps33A, VPS39, および Vps41 からなる HOPS 複合体である。膜融合はオートファゴソームに局在する Q-SNARE タンパク質である Syntaxin 17 が、リソソーム側の R-SNARE タンパク質である VAMP8 と、可溶性の SNAP29 と形成する SNARE 複合体^{11,12)} により行われる。出芽酵母では、オートファゴソーム上の Ykt6 液胞上の SNARE (Vam3, Vam7, Vti1), Ypt7 (Rab7 の酵母ホモログ) により膜が融合する。

おわりに

かつて“オートファジー”は、自己のタンパク質を分解する仕組みを調べる、細胞生物学の一研究分野にすぎなかったが、オートファジー研究の発展により、オートファジーが

個体の発生・分化、老化、免疫など多様な生理現象と密接に関わっており、オートファジーの異常が、神経変性疾患、癌、免疫疾患などさまざまな疾患、病態と関連することもわかってきた。上述のように、オートファジーは多くの機能分子が関わるプロセスであり、それらが遺伝学的ヒエラルキーを有し、細胞内で時空的に制御されることによって、オートファジーが正常に行われる。従って、オートファジーが関連する生理現象や疾患、病態を研究する際には、関連するオートファジー機能分子が、どの段階で、どのような役割を果たすのかを考える必要がある。

文 献

- 1) Klionsky DJ: Autophagy revisited: A conversation with Christian de Duve. *Autophagy* (2008) 4, 740-743.
- 2) Takeshige K, Baba M, Tsuboi S, Noda T, Ohsumi Y: Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *J Cell Biol* (1992) 119, 301-311.
- 3) Baba M, Takeshige K, Baba N, Ohsumi Y: Ultrastructural analysis of the autophagic process in yeast: detection of autophagosomes and their characterization. *J Cell Biol* (1994) 124, 903-913.
- 4) Tsukada M, Ohsumi Y: Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* (1993) 333, 169-174.
- 5) Hayashi-Nishino M, Fujita N, Noda T,

Yamaguchi A, Yoshimori T, et al.: A subdomain of the endoplasmic reticulum forms a cradle for autophagosome formation. *Nat Cell Biol* (2009) 11, 1433-1437.

- 6) Fujioka Y, Alam JM, Noshiro D, Mouri K, Ando T, et al.: Phase separation organizes the site of autophagosome formation. *Nature* (2020) 578, 301-305.
- 7) Kotani T, Kirisako H, Koizumi M, Ohsumi Y, Nakatogawa H: The Atg2-Atg18 complex tethers pre-autophagosomal membranes to the endoplasmic reticulum for autophagosome formation. *Proc Natl Acad Sci USA* (2018) 115, 10363-10368.
- 8) Osawa T, Kotani T, Kawaoka T, Hirata E, Suzuki K, et al.: Atg2 mediates direct lipid transfer between membranes for autophagosome formation. *Nat Struct Mol Biol* (2019) 26, 281-288.
- 9) Shima T, Kirisako H, Nakatogawa H: COPII vesicles contribute to autophagosomal membranes. *J Cell Biol* (2019) 218, 1503-1510.
- 10) Takahashi Y, He H, Tang Z, Hattori T, Liu Y, et al.: An autophagy assay reveals the ESCRT-III component CHMP2A as a regulator of phagophore closure. *Nat Commun* (2018) 9, 2855.
- 11) Yu L, Chen Y, Tooze SA: Autophagy pathway: Cellular and molecular mechanisms. *Autophagy* (2018) 14, 207-215.
- 12) Tian X, Teng J, Chen J: New insights regarding SNARE proteins in autophagosome-lysosome fusion. *Autophagy* (2021) 17, 2680-2688.