タンパク質代謝回転からオートファジーへ

From Protein Turnover to Autophagy

オートファジー (autophagy, ふつう自食作用と訳す) といってもおおかたの人はピンとこないかもしれない。オートファジーをやってますといっても「それ、何？」と首をかしげる人が多い。現在、栄養学分野の人にオートファジーを議論する人はほとんどおらず、逆にオートファジーをやる人で栄養の立場の人はまずいない。では一体何故、本誌でオートファジーなのか？

栄養学でタンパク質のところを勉強すると、「体内のタンパク質代謝はタンパク質の合成と分解のバランスによって決まる。これをタンパク質の代謝回転 (turnover) という。」などと書いてあり、なるほどとよくわかったような気になる。それでは、とタンパク質の合成について生化学の教科書を開いてみると、あるわあるわ、気が遠くなるほどの細かい知識が羅列されており、ああ、もうほとんどのことはわかっているんだと納得してしまう。いまさら自分達が入っていく余地はないように見える (実際には栄養学が必要とするタンパク質合成の調節機構の詳細は意外なほどわかっていないのだが)。他方、ではタンパク質の分解はと探してみると、不思議なことに目次のどこにもない。おかしいなとさらに探してみると、どこか隅の方に申し訳程度に載っている。これでは読者 (多くの場合、若い学生諸君) はタンパク質分解という現象はなにかタンパク質合成とはまったく関係ないこと、生命科学の中でもとるに足らないマイナーな出来事なのだと思ってしまう。これではやる気は起こらない。いやそんなことはない、合成量とおなじだけ毎日起こっている現象ということだからきつと重要なのだろうけど、たまたま未開拓の分野でまだよくわかっていないだろう、などと好意的に考える人はむしろ奇人・変人の部類に入るだろう。そこで今回ちょうど良い機会をいただいた。この小文はこのオートファジーなるものがタンパク質分解、代謝回転、ひいてはタンパク質栄養学にどう貢献し得るのかということを紹介し、好意的な人を一人でも増やしてみようという試みである。

体タンパク質代謝回転における分解の重要性

近年、タンパク質栄養では安定同位体の利用法の発達

もあり、ヒトにおける体タンパク質代謝回転の知見が格段に増えてきた。この25年を振り返ってかの碩学 J.C. Waterlow (1995) は次のように述べている。

Ever since Schoenheimer's discovery of the dynamic state of body constituents, we have been faced with the question of how to maintain a steady state... Amino acids and hormones are effectors that can stimulate these processes, but we do not know how they are coordinated, *i.e.*, who conducts the orchestra. The evidence (presented in this review) suggests that protein degradation is more sensitive than protein synthesis... It is remarkable in how many studies the main effect was on protein breakdown.¹⁾

つまり、積み重なってきたデータはこの分野の権威さえも驚くほど、日々の生命維持のためにタンパク質分解の演じる役割がいかに重要であるかを指し示しているのである。また動物実験においても、とりわけ肝臓でのタンパク質代謝回転の調節は分解速度が支配的であるということはすでによく知られている。では、生体の恒常性維持にとってきわめて重要なそのタンパク質分解とは一体どのようなものなのだろう。

タンパク質分解の多様性

はじめに明確にしておきたいのは、ここでは個々のタンパク質ではなく、むしろ集団としてのタンパク質を相手にするということである。というのもわれわれは体の窒素バランスや体タンパク質の増減を説明するためのタンパク質分解を考えているからである (よく bulk proteolysis という言葉が用いられるが、良い訳語がない。ここでは仮に大規模タンパク質分解とでも表現しておく)。肝臓を例に取ると、プレラベルしたアミノ酸の放出のカイネティクスからタンパク質は短寿命と長寿命の2種類に大別される。そのアミノ酸放出量における両者の寄与割合は約1:2とされるが、タンパク質の存在量としてはその割合は0.5:99.5と計算される²⁾³⁾。つまり、大部分のタンパク質は長寿命に属することになる。短寿

命タンパク質には最近脚光を浴びているユビキチン-プロテアソーム系で分解されるものが多く、続々と報告されている。他方、長寿命タンパク質はその大部分がリソソームで分解されることが知られている。さまざまな栄養・生理条件で変化を受けるのはこの後者のグループである。

オートファジーについて

オートファジーは自食作用と訳すと最初に述べたが、これは細胞が自分自身の構成成分をリソソーム内に取り込み消化する現象である。長寿命タンパク質がリソソーム系でこわされることはすでに多くの研究者により認められてきたが、これがオートファジーという細胞生物学的なダイナミックな現象そのものであるという明確な理解に到達し得たのは Mortimore, Glenn E. 教授 (Penn. State Univ., USA) の息の長いきわめて独創的な研究の成功に負うところが多い。彼はタンパク質分解という生化学的反応とオートファジーという形態学的現象を定量的に対応づけることに見事に成功した⁴⁾。しかもこの長寿命タンパク質が血中のアミノ酸やホルモンなどにより鋭敏に調節されることを示した⁵⁾。栄養学者が求めていたタンパク質合成量に匹敵する大規模なタンパク質分解、さまざまな生理状態の変化に伴って変動するタンパク質分解はこのグループのタンパク質であり、したがって、体タンパク質代謝回転の機構を解明するためにはとりもなおさずこのオートファジーの機構解明が必要ということが明らかになったのである。

さて、このオートファジーという現象にはマクロとミクロがあるが、ここではアミノ酸やホルモンによる調節を受けるマクロオートファジーに話を絞ろう⁶⁾。現在、おもに電子顕微鏡などの形態的観察から、これは図に示すような複雑な過程からなることがわかっている。まず、細胞内の一定の微小な領域がおそらく粗面小胞体の一部から生じた二重膜により取り囲まれ、周囲から隔離される (自食胞の径 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$)⁷⁾。ここに取り込まれるものは細胞質はもちろん、ミトコンドリア、小胞体、パーオキシゾームなどのオルガネラも含まれる。したがってタンパク質だけではなく RNA や糖、脂質などもともに

図 1. マクロオートファジーの概略

rER, 粗面小胞体; AVi, オートファゴソーム; AVi/d, 後期オートファゴソーム; AVd, オートリソソーム; DB, 残余小体; Ly, リソソーム。

運命共同体として分解されてしまう。このできたばかりの自食胞 (オートファゴソーム, AVi) はまだ消化酵素を含まず、したがって中身の形が判別できる。やがて自食胞膜に存在する液胞型 ATPase により内部が酸性化され、消化酵素を含むリソソームと融合する。その後、オートリソソーム (AVd) となって速やかに分解が進行していく。最終的には残余小体 (DB) となって、次のサイクルに入る。この一連の過程は速やかで、半減期は約 8 分と測定されている。

近年、細胞内小胞輸送やエンドサイトーシス・エクソサイトーシスといった現象に関して驚くほどの進歩が見られ、これらの現象と同様オートファジーも細胞内膜系と細胞骨格や各種調節タンパク質が織りなす、きわめて高次に組織化された現象であるという考えが定着してきた⁸⁾。したがって、こうした膜動態や各種調節タンパク質の解明こそが必須の作業であり、はじめて大規模タンパク質分解の詳細な分子機構解明にもつながっていくと考えられる。

こうした新しい考え方の展開には新しい実験系の導入・開発が強力な推進力になるのはいうまでもない。これまでこのオートファジーは細胞を壊してしまうと現象の再現がどうしてもできなかった。けれども 94 年になってとうとうセミインタクト細胞の作成が成功し⁹⁾、分子レベルのアプローチが可能になった¹⁰⁾。 α -トキシンとストレプトリジン O という細菌毒素で作成した 2 種類のセミインタクト肝細胞により、このオートファジーの

⁴⁾ 言葉の使い方が一見矛盾するようであるが、本来ゆっくり分解されるタンパク質でも、そのごく一部 (たとえば存在量の 2~3% 程度でも) の分解は速やかに応答しうる。そうした長寿命タンパク質の量が積み重なって大規模になれば (細胞内の 99% 以上) 緊急時のアミノ酸供給という生理的役割には十分答えられる。

⁶⁾ ミクロオートファジーについてはここではアミノ酸やホルモンによる調節を受けない小型の自食胞群 (径 $0.1 \mu\text{m}$ 程度) による分解とだけ定義しておく。その機構については現在研究者の間で大きな混乱があり、詳細はまた別の機会に論じたい。

⁷⁾ この段階がタンパク質分解量を決定すると考えられるが、どのようにしてこのような容量依存的な取り込み (volume-uptake process) が厳密に調節されているのか、また、この取り込む領域は完全に at random なのか、あるいは何らかの選択性が働いているのかなどについてはまったく推測の域を出ず、今後の解明に待つしかない。

形成段階と成熟段階にそれぞれGTP結合タンパク質が関与することが初めて示されたのである⁸⁾。また、ここ数年の世界の展開はだんだん加速されつつあり、この経路においてもリン酸化-脱リン酸化、カルシウム、PI 3-kinase、細胞骨格系 (microfilaments や microtubules) の関与などシグナル伝達における数多くの役者が続々と顔を出し始めている。さらにこの経路の特徴として栄養素である血中アミノ酸が主要な調節因子であるという点がある。タンパク質の構成素材であるアミノ酸自身が調節因子であるということは他の数多くの代謝調節におけるフィードバック調節を思い出させるが、その作用機構についてはこれまでほとんど深く議論されることがなかった。この点について筆者らは最近、アミノ酸が細胞内プールで直接作用するのではなく、細胞膜上で情報受容され細胞内伝達因子を介するという新しい仮説を提案している⁹⁾。この議論は、アミノ酸による体タンパク質代謝の改善という優れて栄養学的な課題についての本質的理解に関わってくるものと考えている。

なお、リソソーム経路のうちでも Dice, J.F. (Tufts Univ., USA) のグループによる特定の配列 (KFERQ) をもつタンパク質の選択的分解の議論は現在最も分子レベルで進んでおり、目を離すことができない⁹⁾。最近ではリソソーム上にその配列を認識するレセプター分子も報告された。この機構は分解されるタンパク質が選択的にリソソーム膜を貫入していくものであり、同じくリソソーム系でありながら大規模な細胞内分解を担うマクロオートファジーとは明らかに異なるものであるが、はたしてどのくらいの量的寄与をしているかはいまひとつ明確ではない。

あのタンパク質合成装置の壮大さを想うとき、それに対峙して同じ量のタンパク質の分解を担う装置、周囲の環境に全く影響を与えることなく正確にその作業を遂行していく機構は、一つや二つのプロテアーゼで説明がつくものではなく、われわれの安易な予想を遙かに越えた大がかりなものであるに違いない。他方、細胞内タンパク質分解の全体像を考えた場合、もちろんこのオートファジーのみですべてを説明することはできない。さまざまなタンパク質の寿命の多様性の問題を例に上げるだけでも十分であろう。けれども、ここで少なくとも‘まるごと’の代謝に興味をもつ方々にはこのマクロな視点からみたオートファジー経路の意義をぜひとも理解して

いただきたい。生体にとって必要な材料を供給することを栄養というならば、この経路は体内で最大の (かつ、絶食時には唯一の) タンパク質栄養の供給基地ということができよう。常に最小限の損失で最大限の効率的な材料供給を采配している。かくして、オートファジーこそは‘まるごと’のタンパク質代謝回転を説明するための欠くべからざる主要調節機構であり、今いよいよその詳細が解明され始めようとしている。

最 後 に

ここまで読まれた先生方には、是非ともこの次の講義でタンパク質分解の現象もいよいよ明らかにされつつあるということをつけ加えていただければ、この小文の目的は達せられたことになります。さらに、一人でもこの分野に将来性を感じて戦線に参加してみたいという若い人が現れてくれれば、これに過ぎる喜びはありません。

なお、読みやすくという本稿の目的から、最新の知見についての個々の引用は省略させていただきました。もし、興味のある方は E-mail (kadowaki@agr.niigata-u.ac.jp) などでお問い合わせくだされば、すぐにご返事いたします。

文 献

- 1) Waterlow, J.C. : *Ann. Rev. Nutr.*, **15**, 57 (1995)
- 2) Hutson, N.J. and Mortimore, G.E. : *J. Biol. Chem.*, **257**, 9548 (1982)
- 3) Kato, H., Takahashi, S., Takenaka, A., Funabiki, R., Noguchi, R. and Naito, H. : *Int. J. Biochem.*, **21**, 483 (1989)
- 4) Mortimore, G.E. and Kadowaki, M. : *Cellular Proteolytic Systems* (Ciechanover, A.J. and Schwartz, A.L., eds.), 65-87 (1994), Wiley-Liss (New York)
- 5) Seglen, P.O. and Bohley, P. : *Experientia*, **48**, 158 (1992)
- 6) Dunn, W.A., Jr. : *Trends Cell Biol.*, **4**, 139 (1994)
- 7) 門脇基二 : 生化学, **67**, 41 (1995)
- 8) Kadowaki, M. and Mortimore, G.E. : *Proceedings of 11th ICOP*, in press (1997), IOS Press (Amsterdam)
- 9) Dice, J.F. and Terlecky, S.R. : *Cellular Proteolytic Systems*, (Ciechanover, A.J. and Schwartz, A.L., eds.), 55-64 (1994), Wiley-Liss (New York)

門脇基二
(新潟大学農学部応用生物化学科)

⁸⁾ 残念ながらまだ完全なセルフリー系への道は遠い。まず、各ステップの素過程を *in vitro* で再現する必要がある。