

特 別 講 演

30年のオートファジー研究を振り返って
ーオートファジー研究における酵母細胞ー

大 隅 良 典

東京工業大学 教授

Yoshinori OHSUMI Prof

Tokyo Institute of Technology



ご紹介ありがとうございました。大隅です。私はほぼ2年前にノーベル賞をもらったのですが、私自身も、なぜ私がもらったのかなということに関して、いつもいろいろな思いがあります。ノーベル賞受賞以来、自分の生活が一変して大変忙しくなっていて、本当にこんなことを私は望んでいたのかなという気も致しております。でも、そんな中で、やはりノーベル賞というのは社会的インパクトが大変大きくて、たくさんの本当に知らない全国津々浦々の方から励ましといろいろなメッセージをもらいました。昨年は子どもたちが将来の職業として科学者になりたいというのが十数番目からいきなり1位になったというニュースを聞いて、科学というのが少しでも理解されるきっかけになってくれたなら、それが私がノーベル賞をもらったことの意義かなと思っています。

私はもう大学院を出て50年になりますけれども、今日は自分の研究を振り返りながら最近、どんなことに興味を持っているかということをお話し、最後に私の若者に期待することについて話させていただこうと思います。

私はサイエンスというのは人類が長い歴史の中で営々として蓄積してきた知の体系そのものだと思っています。人間は生き物がどういう仕組みで生きているのか、地球、宇宙がどうなっているかといった好奇心に基づく活動をずっと続けてきました。そしてその結果、サイエンスというものがあっていると思っています。

私の今日の話は、そういう人間活動の一部なので、決してその時代から切り離しようがありません。私がどういう時代に生きてきて、どういうことを思って、この50年間サイエンスを進めてきたかということをお話したいと思っています。

もう一つ申し上げておきたいのは、日本では科学技術という言葉をはっきりと区別して語ることが多いのですが、科学と技術というのは非常に違った概念でありまして、科学というのは発見という言葉、原理なり法則の発見ということに裏打ちされたもので、技術というのは発明という言葉で表されるように、違った概念だということを強調しておきたいと思っています。ただ、現在は科学と技術は非常に

に相互に強く関連してしまっていて、技術の進歩が科学を支えるし、科学の進歩が技術を支えるという関係にあるということでもあります。

次に、簡単に私の履歴なのですが、私は終戦の半年前に福岡で生まれました。まだ自然がたくさん残されているところで少年時代を過ごしたということが私に少なからぬ影響があったのだろーと思っっています。ただ、皆が等しく非常に貧しい時代で、そういう意味では、戦後復興と共に若い頃ずっと右肩上がりの人生を歩めたということはありません。私は化学、ケミストリーに興味があって科学者になろうと思って大学に入りましたが、幸い、1960年代というのは皆さんご存じのように分子生物学というのが確立してくる時期で、遺伝暗号が次々と明らかになっていって、生命の原理が分子の言葉で語られるという、そんな時代の幕開けでした。というわけで、将来は分子生物学者になりたいと思って、今日に至っています。途中、ロックフェラー大学に留学をいたしました。帰国後、酵母の液胞の研究、オートファジーの研究へと進んでまいりました。

今日の講演ですが、タンパク質というのがキーワードになります。タンパク質というのは生命活動のほぼすべてを担っている最も重要な分子です。もう一つ、私の話の中で出てくる重要なキーワードは脂質二重層、生体膜であります。地球上に生命が誕生したときに自分と環境とを分けるために生物は、こういう非常に柔軟な自己集合体を利用することになりました。つまり、非常に薄い脂の層で外界と自己を分けたということになります。ただ、生命というのは非常に動的な存在で、分子を取り入れたり出したりします。そういう意味で脂質二重層というスタティックな構造ではなくて、タンパク質が埋め込まれている生体膜が真核細胞ではさらに細胞の中に、さまざまな発達をしてきたというのが私たちの細胞像であります。

ここ30年くらいの細胞生物学の最大の問題についてですが、タンパク質は、すべて細胞質にあるリボソームで作られるのですが、作られればいいわけではなくて、各々あるタンパク質は核に、あるタンパク質はミトコンドリアの二つの膜を超

えてマトリックスに行くというふうに、細胞の中の位置の情報を持っていて、それが大変重要になってきます。そして、その位置情報はどうやって決まっているか、実はそれはタンパク質自身に書き込まれている、という仕組みが分かってくる、この解明がここ数十年の細胞生物の最大の課題でありました。ここで欠けている情報というのは実を言うとタンパク質がどうやって一生を終えて、壊されていくかという問題だと思えます。

実験生物学は何か材料が必要ですが、私はサッカロマイセス・セレビシエという出芽酵母というものを飽きもせず40年間研究の対象にしてまいりました。ご存じのような酵母というのは紀元前数千年前から、まだ微生物という概念が成立する以前から人類とともにある微生物でありまして、さらに言えば真核生物のモデルとしても大変重要な役割を果たしてきている生物だということになりました。

私は1977年にロックフェラー大学の留学から帰って、東大理学部植物の安楽教授の研究室に助手のポストを幸いに得ることができまして、そのときに安楽先生に、酵母で何をやってくれてもいいよと言っていた。それが、そのあとを決定したと思いますが、さて、何をやろうかと考えたのですけれども、私はその研究室が大腸菌の輸送の研究をしていたということもあって、あまり内部構造も何も持っていない液胞というコンパートメントの研究をやりたいと思ったわけです。その当時、液胞というのは細胞のゴミためというくらいに考えられていました。ただ、植物細胞というのはご存じのように成長した細胞の90パーセントくらいは液胞で占められていて、いろいろな機能がだんだん分かってきていますが、その当時、ゴミためと考えられていた液胞が何か大事な役割を果たしているのではないかという興味が今につながったということになります。

それで10年ほど液胞膜の生化学的な解析をして、この膜には当時全く知られていなかったアミノ酸とかカルシウムとかの能動輸送系が存在するという事実と、その駆動力を与える細胞生物学で非常に重要なVタイプATPアーゼというプロト

ンポンプを持っているということを示すことができました。このままこういうことを続けてもよかったのですけれども、1988年に、東大の教養学部一人だけの研究室を持つという機会を得て、せっかくだから何か違うことをやりたいと思いました。私はタンパク質の分解に興味を持っていて、細胞の中のタンパク質ってなんで各々決まった寿命を持っているのだろうかとか、タンパク質が細胞の中でどうやって壊れるかということを知りたいと思うようになりました。私は東大の教養学部の1年生に生物学の最初の講義にいつも、こういう質問からスタートしていました。私たちの体の中でわずか1秒間に何個の赤血球が作られるか計算してくださいと。これは数字をいくつか与えると計算は極めて簡単で、赤血球は1秒間に私たちの体で3掛ける10の6乗個、300万個作られると。赤血球の中にあるヘモグロ빈は何個作られるか計算すると1掛ける10の15乗個、1,000兆個1秒間に作られているということになります。こういう計算から私の授業を始めた理由は、生体というのはこれだけ作られているということは、これだけ分解もされているということなので、非常にダイナミックな存在だと伝えることから生物学の授業を始めたからです。

体の中のタンパク質の代謝を考えると、私たちは1日に70グラム、80グラムのタンパク質を食べなさいと言われていますが、いろいろな計算がありますけれども、200グラムから300グラムくらいのタンパク質が1日に作られていて、この二つの数字が示していることは実は私たちのタンパク質の合成を支えている大半のアミノ酸は実は私たちの体のタンパク質が分解されてアミノ酸になっていると。つまり、私たち生命の生体というのは実にタンパク質とアミノ酸の非常に巧妙なりサイクルシステムからなっているということを示しています。タンパク質の合成が大事だということは自明の理で、たくさんの人が遺伝子発現にチャレンジしてきましたが、分解というのはどうもネガティブなイメージを持たれていて、なかなか多くの人が関心を持つ領域ではありませんでした。

私は、分解って実は大事だということを、この

頃こういうスライドで示すことにしています。東大の正門から撮った銀杏並木の四季をあらわしています。私たち日本人は非常にきれいな四季を持っています、こういう四季を通じて自然が展開されているということを身をもって知っています。春には銀杏の芽が芽吹き始めて、夏には緑の葉っぱを展開して光合成をして、秋に寒くなってくると私たちが楽しむように銀杏が紅葉をして、冬には完全に葉が落ちてしまうというサイクルを持っています。同じようなことが稲の水田では、夏には緑の葉を展開していて、緑の葉の上で光合成をしてたくさんデンプンを作っています。秋には、これも当たり前のように葉が黄色くなってしまうことを知っているのです。この変化は何を意味しているかということ、葉っぱの中にたくさんあった葉緑体を含んだ光合成装置が見事に分解された結果、緑の色素がなくなって、黄色くなったということになります。このアミノ酸はどこへいったかということ、アミノ酸は転流されてお米のタンパク質に変化している。つまり、分解というのはお米にとって次世代をつくり出す大事な作業だということになります。こうして見ると、私たち生命というのはタンパク質の合成と分解の平衡によって成り立っているのだということになります。

一方、地球上の進化を考えるうえで、おそらく栄養源が最初原始の海ではたくさんあったところからスタートして、栄養源をどうやって確保するかというのは生命にとってとても大事なことだったと思いますし、栄養源が切れた飢餓を生き延びるというのは生命にとってとても大事なプロセス、進化の強い選択圧だったのだと思います。なので、飢餓に耐える機構が生物の進化の初期に獲得されたのだらうと私は思っています。今日の話にも出てきますが、分解というのは、ずっと壊れるのだと思われていましたが、実は私たちが今知っているのは壊れるのではなくて生物は積極的に壊しているという非常に能動的な過程で、実は合成に劣らないくらいたくさんの遺伝子が分解という過程にかかわっているのだということが分かってまいりました。つまり、分解というのは実を

言うと生命にとっては合成と同じくらい重要な過程なのだということになって思っています。

細胞の中のタンパク質の分解という過程は、昔から興味を持っていた人がいるのですが、解析は難しかったということがあって、なかなか進展を見なかったのです。一つのブレイクスルーは1955年にクリスチャン・ド・デュブというベルギーの細胞生物学者がライソゾームというオルガネラを発見したことにあります。一重膜で、中にたくさんの加水分解酵素を含んでいるオルガネラで、まさしく分解にかかわっているという意味でライソゾームという名前が付けられました。みんなこの中で分解されているのだらうというのでロックフェラーのグループを中心にして、細胞の中のものや、細胞質がこの中に運ばれる過程を自分自身を食べるという意味で、ギリシャ語の造語からオートファジーと名付けられたことになりました。先ほどの水島さんの話にもありましたように、オートファジーというのは、そういう実は長い歴史を持っています。先ほど言われたようにオートファジーというのは膜が延びたりしてオートファゴソームを作ってライソゾームが融合して分解を進めるという過程になります。ただし、オートファジーの研究というのは、その後、なかなか分子やそれにかかわる遺伝子がずっと明らかにならないという状況がずっと続いていました。

数十年前にユビキチン-プロテアソームという系が発見されて、タンパク質の分解というのは俄に細胞生物学の非常に重要な分野の一つになりました。つまり、いろいろな精緻な制御がユビキチン-プロテアソームという系でされているというので、分解が生物学の重要な一つの柱になってきたのですが、依然としてライソゾーム系での分解というのはなかなか進まないという状態が続いていました。おそらくいいモデルシステムが必要だったのだらうと今、私は思っています。

これから私の話に戻りますが、私は液胞の研究をしていました。酵母の液胞って、これくらいの体積を占める、内部が酸性なオルガネラであって、この中に加水分解酵素があるということはその当時から知られていました。酸性コンパートメント

で分解酵素を含んでいるのならば、これはライゾゾームと似たような働きをする分解コンパートメントではないだろうかということを思いました。そうだとすると、私が最初に持った疑問は、いったい何がいつ、どうやって、この液胞膜という膜を超えて分解酵素にアクセスされるのだろうかという問題ということになります。いつということに関しては、これは酵母は栄養があると出芽という方法で分裂を繰り返していくのですが、窒素源がない状態になると実は二倍体の酵母は減数分裂をして孢子形成という細胞分化を誘導します。この非常にドラマチックな細胞の作り替えが、外に栄養源がないということで誘導されるとすると、孢子形成に必要なタンパク質というのは自分自身の分解をする以外にないだろうと、おそらく窒素源の飢餓というのが大量の分解を見るときに、いい実験条件だろうと思いました。

もう一つ、私は十年来、この液胞を顕微鏡下に毎日のように眺めていました。この中はタンパク質の濃度が極端に低くて、ほぼ水溶液で加水分解酵素が非常に低濃度存在していることになりました。ご存じのように細胞質というのは数百ミリグラム/mlくらいで非常に高いタンパク濃度なので屈折率にもものすごく大きな差があるので酵母の液胞というのは光学顕微鏡で唯一簡単に見られるオルガネラであります。総体的に結構大きくて、この中に物が入ったら見えるということを私は知っていました。非常に単純な発想で、そうならば孢子形成の初期過程を顕微鏡で見たら、この中に、もしこれが本当に分解コンパートメントだったら入っていくものが見えるだろうと思いました。ところが、何も大きな変化を認めることができませんでした。ある日、タンパク質の分解酵素である液胞の分解酵素をなくしたら運ばれたものが壊されないで見えるのではないかと思います。幸いなことに、すでにこういう加水分解酵素を三つ欠いた株がストックセンターにありましたので、それを窒素源飢餓に置いてみよう、そして顕微鏡で観察しようと思ったわけです。これが私のそのあとの30年を決めてしまった瞬間となりますが、液胞の中に、こういう球形の構造体がたくさん、

これは3時間後ですが溜まっていくということが分かりました。

これが私の研究の出発点になったのですが、ここにはいくつか大変幸運があったと思っています。もちろんタンパク質が顕微鏡で見えるわけではないので運ばれていく構造が絶妙の大きさをしていて、これはブラウン運動なのですが、ブラウン運動していたから私はこういう現象を低倍率の顕微鏡下で見付けることができました。しかも大き過ぎたらあまり動かないし、小さ過ぎたら早過ぎて見えませんので、絶妙な大きさ、500 ミリナノメートルくらいの大きさを持っていたということが大変大きな意味を持っていたのだと今は思っています。

この現象のタイムコースなのですけれども、飢餓に置いたら30分後くらいに、こういう構造が現れて、徐々に蓄積をしていって3時間では、今、ムービーでお示したようにたくさん液胞の中に溜まって、これはとても私にとってはおもしろい現象だと思って、馬場美鈴さんという電顕学者と電顕の解析をスタートすることになりました。これが窒素源飢餓3時間後の液胞で、どの液胞の中にも確かに球形構造が溜まっていて、強拡大すると単膜で囲まれていて、中には黒い点々はリボソームなので、ほぼ細胞質と同じ密度のリボソームがあったり、粗面小胞体(ER)だったり、細胞の中のいろいろな構造が取り込まれているということが形態学的には明らかになりました。こういうふうに液胞のすぐ近傍に、こういうカップ型の膜を認めることができて、いかにも細胞質の一部分を取り囲みつつあるということが見えました。これが酵母のオートファゴソームで二重膜の構造が細胞質に形成されると。それは、このフリーズフラクチャーの電顕で示すように、オートファゴソームの外の膜が液胞膜と融合した結果、外膜が連続して中の膜は、ここに見えていますが、これが私たちがオートファゴソームと名付けた非常にユニークな膜オルガネラで一つも膜内粒子がないという、非常に特化した膜で中身が確かに細胞質だということが明らかになりました。

この電顕で示していることは、この辺に形成さ

れつつある膜構造が見えると同時に、ここにミトコンドリアが1個、2個、3個オートファジックボディの中に取り込まれています。ユビキチン-プロテアソームが細胞質のタンパク質を一個一個厳密に認識して壊すという系と対比的に、オートファジーという現象はリボソームはすでに非常に何百万という超分子構造ですが、そういうものを何千個というふうにいっぺんに分解することができるし、オルガネラを丸ごと分解することができるという意味で、多分、真核生物は二つの分解系というのが使い分けられているのだろーということになります。二十数年前に私たちは酵母のオートファジーは、こういう経路から成り立っているのだろーということを描くことができました。窒素源飢餓だけではなくて、いろいろな飢餓で、膜の小さい袋ができて伸び出してオートファゴソームという二重膜ができて、それが液胞にターゲットして膜融合が起こると、中の膜が液胞の内部に運ばれていくという過程だということですよ。野生株では、このオートファジックボディの膜は数十秒で壊れてしまうので、その当時誰も見付けることが出来なかったのでしょう。私は液胞の加水分解酵素を欠いている株を使ったので、オートファジックボディの蓄積としてオートファジーの過程を可視化することができたということになります。

酵母のオートファジーの系から分かったことは液胞はライソゾームに比べたらはるかに大きいわけですが、膜現象としてはトポロジカルに、それまで知られていたマクロオートファジーとまったく同じ過程からなっているということが一つ。オートファジーは今言ったように細胞の中で起こる膜現象、光学顕微鏡下にも実質時間で観察できたということが私たちの系の非常に大きな特徴だということになります。当然、酵母でこうなってくると、それにかかる遺伝子を取りたいということが次のステップになります。ただ、私たちはオートファジーができない不能株がどういふ表現型を示すかということは予め全く分からなかったもので、オートファジックボディが溜まらないという形態学的手法で取ろうということで、最初に私のところに来た大学院生の塚田美樹さんが頑張って

くれて、一つだけ *Atg1* という、その当時は *apg1* と名付けた変異株を取ることができました。その株は確かにタンパク質の窒素源誘導のタンパク分解ができないということが分かりましたが、栄養豊富な培地の中では何の表現型も示しませんでした。ただ、私たちが気が付いたことは、この *Atg1* というオートファジーの不能株が2日くらいの飢餓後に急速に生存率が低下してしまうということで、これはオートファジーが不能な株の特徴なのではないかと思って、それを一次スクリーニングに入れようということにしました。最初に飢餓下に死にやすい株をたくさん取って、そいつをもう一回顕微鏡でオートファジックボディが蓄積をしないというのを調べていくと、100個くらいのオートファジー不能株が一挙に取られたことになります。遺伝学的な解析から少なくとも14個のオートファジーの遺伝子が必須だということが最初のスクリーニングで得ることができたということになりました。その後、私たちは18個の *Atg* 遺伝子がオートファゴソーム形成に必要なだということをつきとめたので、最初のスクリーニングで、その大半が取れていて、それがその後の解析に非常に大きな役割を果たしたのだと思います。*Atg* 変異株というのは全部オートファゴソームができないということから、実はオートファゴソーム形成に必要な因子なのだろうということになりました。

ここで、酵母では寄ってたかっていろいろな人がいろいろな変異株を取って名前を付けているわけですが、*Atg* 遺伝子はそっくりそのまま、相当に遺伝学が進んでいた時代にほとんど手つかずの遺伝子群がまだあったということになります。なんでこんなことが起こったのか考えると、酵母の研究者はその当時、やはり必須遺伝子を知りたいというので栄養が豊富な培地が標準培地なので、それで増殖に必須な遺伝子というのに多くの人の興味が集まっていたので、こういうふうにある条件のときに表現型を示すという遺伝子の解析がそっくり抜けていたのだろーということになります。事実、*Atg* の遺伝子は先ほども言いましたように栄養が豊富な培地の中では、ほとんど表現型

を示さないということになります。

次は、私たちにとっての課題は変異株が取れたら *Atg* ってどんな遺伝子なのだろうと、クローニングをして、シーケンスしてコードするタンパク質を決めるという時代が訪れました。ひたすら *Atg* 遺伝子の正体を明らかにしようということになりましたが、*Atg* 遺伝子は全部新規の遺伝子で、今だったらもう少しいろいろな情報があって分かったと思うのですが、その当時はすべて新規で、機能未知の遺伝子だということで、アミノ酸配列からは何の手掛かりも得られないという時期が数年続きました。そうこうしているうちに私は幸いなことに東大の教養学部から基礎生物学研究所という非常に恵まれた研究所に職を得ることができました。一気にいろいろなことが明らかになったということになります。

吉森さんが参画してくれて、次の年に水島さんが加わり、酵母の研究をする二人の助手がいてくれるという非常に恵まれた研究環境で、一挙に *Atg* タンパク質のなぞが解けていくという時代になりました。これは先ほど水島さんが示した絵そのものですが、*Atg12* が当時、ちょうどクローニングされたので、このタンパクを調べようというのが水島さんが最初に手掛けてくれたことで、そうすると *Atg12* は自身の分子量以外に非常に高いところに、もう一つバンドが現れてくる。*Atg* の変異株を全部並べてみると *Atg5*, 7, 10 の変異株の中では高いバンドが現れない。これが *Atg* の中の関係が初めて明らかになったという意味でも歴史的な出来事でありました。

水島さんは *Atg12* というものがユビキチン様のタンパクで、*Atg7* という E1 で活性化されて、*Atg10* という E2 酵素に渡されて最終的に *Atg5* というタンパクと共有結合して *Atg16* という因子で束ねられて、このような二量体として機能している。このどれが欠けてもオートファジーが進まないということが明らかになりました。

もう一つ、私たちが興味を持っていたタンパク質は *Atg8*、動物細胞でいう LC3 ですが、なぜ興味を持ったかという、この immuno 免疫電顕に *Atg8* というのは形成過程のオートファゴソーム

膜に非常にきれいに乗っかるので、膜形成に大事な因子なのだろうということを思っていました。

時間がないので申しませんが、一村さんと桐浴君という大学院生だった二人の努力で、*Atg8* というタンパク質もユビキチン様タンパク質で、これは *Atg4* という私たちのコレクションになったプロテアーゼで、C 末のアルギニンが外されてグリシンが露出した形になると同じ E1 酵素で活性化されて *Atg3* に渡されていくと。ところが、この *Atg8* というタンパク質は、タンパク質に結合するのではなくて、非常にユニークな分子で、膜リン脂質の一つであるホスファチジルエタノールアミンのヘッドグループとアミド結合をする。こういう反応経路からなっているということが明らかになったわけです。こうして見ると *Atg* のタンパク質のほぼ半数は、この二つのコンジュゲーション系からなっているということが明らかになりました。

続々といろいろなことが分かりまして、その当時に野田さん（現、阪大の歯学部の教授）が、彼はラパマイシンという Tor 阻害剤を加えると栄養豊富な培地の中でも全く同様のオートファゴソーム形成が起こりオートファジーが進行するということで Tor というキナーゼが上流の制御因子だということを初めて突き止めました。これはあとで少し申しますが、Tor は *Atg13* というタンパク質をリン酸化することで、日頃はオートファジーは起こりませんが、これが阻害されると脱リン酸化が誘導されるということで、こういう複合体が活性化されるというのがオートファジーの誘導の機構なのだろうということが分かってまいりました。

もう一つ大事な発見は、オートファジーには PI3 キナーゼが必要で、オートファジースに特異的な PI3 キナーゼ複合体が大事な役割を果たしていると、*Atg9* という唯一の膜タンパク質があって、もう一つ *Atg28* というコンプレックスがあって、18 個の *Atg* は、こういう六つの機能的なグループに分かれるのだろうということが比較的短時間に基礎生物学研究所の時代に明らかになったということになります。

そうすると、次の興味は Atg のタンパク質がいったいどこにいて何をしているのだろうかということになるのですが、幸い GFP という蛍光タンパク質が見つかったことで、Atg のタンパク質がどこにいるかということ私の研究室にいた鈴木君が調べることになりました。すべての Atg タンパク質に GFP をくっつけてみると、多かれ少なかれ液胞の近傍に、こういうドットの構造が形成されていくということで、そこがオートファゴソームの形成部位であろうというので、これをオートファゴソームストラクチャー (PAS) と私たちは名付けることになりました。Atg のタンパク質は細胞の中に数百個から数千個くらい、非常に存在量の少ないタンパク質なので蛍光顕微鏡で捉えるのは大変難しかったのですが、いろいろな顕微鏡技術が進展した結果、今、私たちのイメージは Atg のタンパク質は、これは Atg17 というタンパク質で、実は Atg17, 29, 31 というトライマーの 2 量体なのですが、そういうものは細胞質の中を激しくブラウン運動を普段はしているタンパク質で、これが飢餓状態で PAS というのが確かにあるのですが、依然として大半のタンパク質は細胞質の中を激しくブラウン運動していて、つまり Atg のタンパク質はほんの一部分がある瞬間にはオートファゴソーム形成にかかわっているのだということになりました。それで私たちの描いたオートファゴソーム形成にかかる因子というのは順序立てて先ほどの機能単位が PAS というところにリクルートされては仕事をして膜形成をしていく。最初に、Atg1 キナーゼ複合体がスキャフォールドとしてファンクションして Atg9 が来て、PI3 キナーゼが参画してきて、Atg2-18 が最後の仕事をして二つの結合反応系がかかわっているというイメージを描くことができました。まさしく私たちは、そのあとは、この過程がどういう素過程からなっているかということ解析することになったわけです。

もう一つ、私たちにとって大事だったことは Atg のタンパク質は酵素は Atg4 くらいしかなくて、なかなか構造からその機能を類推することができなくて構造情報というのが大変そういう意味

で大事で、亡くなられた北大の稲垣先生と野田さんたちとの共同で、すべての Atg タンパク質の構造を決めるというのを合い言葉にして、ずっと Atg タンパク質と複合体の構造を決定をしてきました。それも Atg 遺伝子の機能を解知する上で大変大事な情報を与えてくれるということになりました。

それで、先ほど水島さんが示されたように私たちは基生研という恵まれた研究室にいたこともあって、私たちの研究室で吉森さん、水島さんを中心に哺乳類の Atg の遺伝子を同定することが始まりまし、二人のポスドクと大学院生でシロイロナズナ、植物の Atg 遺伝子というものが明らかにされてきました。こうして Atg の遺伝子は酵母に特異なものではなくて広く保存されているということが明らかになったということになります。

この Atg の遺伝子が分かったということは、それまで形態学に頼っていたオートファジー研究の質をガラッと変える契機になりました。これも水島さんが示したように、Atg の遺伝子が分かってしまうと、その一つの LC3 に GFP をくっつけたトランスジェニックマウスが水島さんの手で作られて、そうすると動物細胞のいろいろなところで、いつ、どこで、どれだけオートファジーが起こるかということが明らかになってきましたし、これも先ほど言われたように最初の Atg5 のノックアウトマウスが作られて、少なくともマウスでは出生のときに飢餓を乗り越えるためにオートファジーが必須で、オートファジーのノックアウトマウスは出生後 12 時間くらいですべて死んでいくということが明らかになってまいりました。もちろんその後の解析で、このマウスは神経系の異常を持っているということが水島さんらの手で明らかになっています。

これは小松さんのグループが初めて肝臓特異的な Atg のノックアウトマウスを作った結果、オートファジーがないと肝肥大を起こして、いろいろな異常タンパク質が蓄積をしていって肝がんが生じるということが明らかになりました。こうして先ほど水島さん、吉森さんも話したように実に

オートファジーはいろいろな機能をしている。栄養、飢餓の応答以外に細胞の中のいろいろなものを除去する機能が必須であるということにかかわっているということから、例えば加齢という現象にかかわっているということ、それからもちろん吉森さんが示したように病原菌に対する感染防御機構としても働いているとか、がんとの関係というのがたくさん研究されるようになってきました。

私が最初に申し上げたように、分解というのは合成と同じくらい大事だと。であれば、実を言うと分解がおかしくなったら、さまざまな異常が生じるということはある意味では当然のことなのかもしれないと思っています。重要なことはオートファジーの遺伝子を壊したら、いろいろな表現系が出てくるわけですが、その間にはたくさんのステップがあるので、それをきちんと解析していったオートファジーが、どのようににかかわってられるのかということをは明らかにすることが、とても大事な時期にきているのだらうと思っています。

オートファジーには細胞の栄養素のリサイクルと同時に、過剰なもの、有害なものの除去機構として働いていて、いわゆる細胞質の品質管理にかかわっている。この現象は選択的な分解という新しいオートファジーの課題を提供していて、いろいろな超分子構造、オルガネラのようなものがいかに選択的にオートファジーで分解されていくかという新しい問題を提起したことになります。

酵母でも選択的なオートファジーというのが知られていて、私たちが今、抱いているイメージは、私たちが見つけた膜形成のコアシナリーにいろいろなものが特異的なリセプターで認識させる分子と、このマシナリーと、これを結ぶアダプターという分子とで、この非選択的に思えるオートファジーのシステムは特異的にターゲットを取り囲む装置として機能し得るのだらうと思っています。

私たちはずっと研究室の中ではオートファゴソーム形成という非常にユニークな膜動態がどうなっているかということを経験で解こうということを進めていました。その一端だけを紹介しようと思いますけれども、実を言うと Atg のタンパク質の中で唯一 Atg9 というタンパク質は膜タン

パク質で、実はゴルジに由来する、こういうかなり均一な膜小胞の上に乗っかっているということが明らかになっていて、Atg9 というのは飢餓で PAS に乗ってくるので、多くの人が膜の供給源として Atg9 ということ想定したのですが、私たちの解析では3個くらいの Atg9 ベシクルというのがかかわっていて、とてもそれではオートファゴソーム形成には間に合わないだろうと、初期のオートファゴソーム形成を担っている分子だろうということが思われるようになりました。

これはノーベル賞のレクチャーのときに使った動画なのですが、オートファジーの誘導のキモレキュルは酵母の場合には Atg13 という分子で、こういう長い紐のような構造をしており、そこがたくさんリン酸化されているのですが、飢餓に応じてそれが脱リン酸化されると Atg1 というキナーゼが結合するようになります。それでもう一つ Atg17, 29, 31 という複合体が結合をしてきます。こういうふうに10量体を形成されるのですが、PAS という私たちが顕微鏡で見ていた構造体は、こういう10分子で説明できなくて、これがさらに次々と Atg13 が Atg17 を結合する部分を二つ持っているということで、大きな集合体を形成する。こういう集合体を形成したことで Atg1 キナーゼが近傍に来るので自己リン酸化をしていくのだらうと。Atg13 の末端にある HORMA ドメインという小さなドメインが実は Atg9 というベシクルを呼び込むために大事なのだらうということになってきて、私たちはこういう柔らかい構造を持っていないような紐状のものを介しながら、たくさんのものが集合していくということがいろいろな生命現象の大事な過程なののだらうということを感じるようになりました。そういう意味での一つの典型例だと思っていて、オートファジーの形成の最初は、こういう大きな複合体が作られることで次から次へと APG のジョインしてくる足場が作られるのだらうと。私たちは最初、PAS というのは非常にがっちりとしたタンパク質の多量体だと思っていたのですが、実は膜構造も含むような非常に柔軟な構造で、こういう柔軟な構造というのがとてもいろいろな細胞現象に大事なのだらう

うというふうに思うようになりました。各々のステップが実に巧妙なリン酸化とか、いろいろな修飾で進行していく過程なのだろうと思っています。その後、いろいろな人が最初のスキャフォールドの形成から次に何が進んでいくかということとを今、一生懸命皆さんが解析をしているということになります。

私の東工大での研究室の課題は徐々に膜形成の問題から離れて、今、どんなことに興味を持っているかということをお話すると、やはりオートファジーで残された問題はもちろん膜形成の問題は大きな問題なのですが、もう一つ、いったいどんなときに何が本当に分解されているのだろうか。どこまで物が分解されて細胞質に戻されているのだろうか。それが代謝にどういう影響があるのだろうかという分解のプロセスを理解することがとても大事なのだと思っています。

酵母の優位性は、動物細胞はとても複雑でいろいろな細胞集団からなっているのに対して、単細胞で均一な細胞集団なので厳密に条件制御ができて、いつ、どういうときに、何が分解されるか正確に解析ができるだろうと思って現在、研究を進めています。例えば、1例を示すと、酵母が亜鉛飢餓に陥ると、オートファジーが進行していることだと見ていただくと、亜鉛飢餓によってオートファジーがすごくきれいに誘導されてくるということが分かりました。これはどういうことかというと、亜鉛という非常に大事なイオンのホメオスタシスにオートファジーが非常に重要な役割を果たしていて、亜鉛タンパク質が液胞の中で分解されて、フリーの亜鉛イオンが出てくることで亜鉛イオン実行性をあげるということで増殖に寄与していて、同じようなことが鉄イオンに関してもあって、タンパク質の分解を介してイオンの非常に重要な制御にもかかわってくるのではないかということがあります。最近、川俣らはメタボロームの解析から野生株では飢餓状態でヌクレオシドのレベルがこういうふうに一過的に上がるということを見つけました。これを契機に私たちは、このヌクレオシドが核酸の分解に起因することを突き止めました。先ほどから示していたように、たく

さんのリボソームが細胞から液胞の中に取り込まれて分解されるので、RNAも当然分解されるはずですが、RNAはT2タイプのRNアーゼでほぼ完全に、この一つの酵素で分解されて、3プライムのXMPになります。私たちが永年研究していたAtg8というのがヌクレオチダーゼになって、ヌクレオシドを生じます。ヌクレオシドは液胞から出てきて、ただちにヌクレオチダーゼで塩基とリボースに分解されて、不思議なことにすべての塩基はほぼ完全に細胞の外に放出されることになりますので、核酸分解というのはリサイクル過程ではなくて、一方向の流れになっているということになります。ただ、こういうふうに大量のヌクレオシドが生じるということは、代謝にも影響があるに違いないだろうと思っています。

私たちは主要なRNアーゼが同定できたことで、こういう問題を最も中心的な問題にしてみました。一つ、私は今まで形態学的な解析からバルクのオートファジーというのは非選択的に細胞質を分解しているのだということをずっと申ししてきましたが、本当にバルクのオートファジーというのは非選択的な過程なのだろうかということを改めて問い直してみています。先ほど言ったようにRNアーゼが同定できたので、RNアーゼのない株を飢餓条件下に置くと、こういうふうに液胞の中にRNAが分解されずに溜まってきます。そういうRNAをRNA-Seqで解析をすることができるようになりました。そうしてみると、どういうmRNAが分解されているかということを見ると、あるmRNAはより効率よく液胞の中に運ばれているし、ある種のmRNAは特異的に逃げ出しているということが分かります。いろいろと見てくるとある種のアミノ酸代謝にかかわるようなメッセンジャーRNAは高濃度に蓄積されてくるし、あるmRNAは液胞に取り込まれなくなっているということが分かってきました。tRNAに関しても、そういうことがありますし、nRNAに関しても選択性がありそうだということが見えてきました。

この現象を見つけた、はじめからの私たちの興味はオートファジックボディが精製できないだろうかということだったのですが、最近、川俣らが

オートファジックボディを精製することに成功しました。そうすると、これは酵母の系の特徴の一つなのですが、正確にこういう最終段階のタンパク質の何が液胞の中に取り込まれたのかということ直接的に測ることができるということになりました。私たちが今、気が付いていることは実を言うと、もしこれが本当に非選択的であれば細胞質にある存在順にタンパク質が出てきていいはずですが、そんなことはなくて、ある飢餓条件下には、ある種の細胞質のタンパク質が非常に選択的に入ってきているということが分かってきました。つまり、こういう大変地道ですが、どんなタンパク質が実際にオートファジーで分解されるかということ解析すると、逆にいろいろな細胞の中での細胞質というのは決して均一ではなくて、ある条件下でどういう不均一が生じたときに、それがオートファジーのターゲットになるかということが分かってくるのではないかと今、考えて研究を進めている段階にあります。こうして見ると、30年私たちは酵母のオートファジーの研究をしているのですが、いまだに分かったことは非常に初期の段階にあって、まだ酵母のオートファジーですら解くべきいろいろな問題がたくさんあるのだと私たちは思っています。

30年の私のオートファジー研究を振り返ってみますと、私たちの研究のスタートはもちろんこれは神経性疾患やがんにかかわるだろうということが原動力で始めた仕事ではありませんで、純粋にタンパク質が液胞でどうやって分解されるのだろうかということで研究をスタートしました。基礎研究というのは最初から役に立つということを考える必要もなく、そういう仕事が大きな展開

につながっていくというのが基礎生物学者の一番の研究の醍醐味なのだろうと思っています。

私は、もう30年来オートファジーの研究をしています、中にはいろいろな困難もありましたけれども、そういうことを許してくれる社会のゆとりがあって、ずっと同じ課題を追求することができたというのも大変幸せな時代だったのだと思っています。もちろん、いろいろな偶然とたくさんの幸運や出会いで30年間続けてくることができました。何よりもたくさんの素晴らしい研究仲間、スタッフに恵まれたということと、折に触れて非常に強力な共同研究者を得たということが大変、こんにちまでの研究を進めてくることができた要因だと思っています。

もう一回繰り返しになりますけれども、生物学というのは解けたと思ったら次の疑問が生じてくるというのが大事なことだと思いますし、展開は思いがけないところで起こっていくのだということがあると思いますし、若い人は特にたくさんの、これからの人との出会いを大事にすること大切にしたいと思っています。

日本では今、非常に短期的な成果を求める風潮が非常に強くなっていて、そういうことが研究面のことを非常に危うくしていることがあって、ぜひ長期的な展望に立って長い視野で研究が進められるような社会になってほしいなと思っています。

これが、私が若い人たちに、このごろ送るメッセージということになっています(スライド)、こういうことに関して、あとで議論ができれば有り難いなと思っています。

以上で、私のお話を終わらせていただきます。ご清聴ありがとうございました。

若者へのメッセージ

1. 長い人類の歴史の中で自分の生きている時代を考えよう
 2. 権威や常識に囚われず、自分の興味、抱いた疑問を大切にしよう
 3. 論文やあふれる情報からではなく、自然、現象から出発しよう
 4. 人と違うことを恐れずに、自分の道を見極めよう
 5. はやりを追うことはやめよう、競争だけが科学の原動力ではない
 6. 自分の眼で見て確かめ、小さな発見を大事にしよう
 7. 役にたつとは何かを考えよう
 8. 最初の疑問に繰り返し立ち返ろう
 9. 目の前の研究の先に何があるかを考えよう
-