

## TORC1 シグナル伝達経路を介した細胞の栄養応答機構

福田 智行

新潟大学大学院医歯学総合研究科 機能制御学分野

### Nutrient Signaling through the TOR Complex 1 Pathway

Tomoyuki FUKUDA

*Department of Cellular Physiology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences*

#### 要 旨

TOR (target of rapamycin) キナーゼを中心としたタンパク質複合体 TORC1 (TOR complex 1) は、栄養や成長因子に応じて活性を変動し、細胞の成長、増殖、代謝などをコントロールする。TORC1 を含むシグナル伝達経路は、癌や老化に関わることから、注目を集める経路の 1 つになっている。TORC1 の活性は厳密に制御されており、その機構は様々な生物種をモデルに研究されている。近年、二量体でリソソーム膜上に局在する低分子量 GTPase の Rag が、TORC1 経路の上流でアミノ酸シグナルを統合する鍵分子であることが明らかになり、細胞がアミノ酸を感知して TORC1 を活性化させる機構の理解が飛躍的に進んでいる。

キーワード：TOR, TORC1, Rag, Rheb, Ragulator, GATOR1

#### はじめに

TOR (target of rapamycin) は、免疫抑制剤ラパマイシンの細胞内標的分子として同定されたセリン・スレオニン特異的タンパク質キナーゼである。TOR は 2 種の複合体 TOR complex 1 (TORC1) と TOR complex 2 (TORC2) を形成し、様々な基質タンパク質をリン酸化により制御する。TOR 複合体のうち、ラパマイシンによって阻害される

のは TORC1 のみで、TORC2 はラパマイシンに非感受性である。そのため、TORC1 経路に関する研究が様々なモデル生物で行われ、TORC1 が細胞成長を制御するシグナル伝達経路の中核で機能することが明らかにされてきた<sup>1)</sup>。哺乳類細胞の TORC1 は、触媒サブユニットの TOR に加えて、RAPTOR, LST8, PRAS40, DEPTOR を含み、成長因子や栄養に応じて細胞の成長、増殖、老化を促進する。TORC1 の代表的な基質として、

Reprint requests to: Tomoyuki FUKUDA  
Department of Cellular Physiology,  
Niigata University Graduate School of  
Medical and Dental Sciences,  
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,  
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒 951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757  
新潟大学大学院医歯学総合研究科  
機能制御学分野

福田 智行

タンパク質合成を調節する p70-S6K と 4E-BP や、オートファジーに参与する ULK1 と ATG13 などが知られる。

TORC1 は細胞の成長や増殖を促進しており、多種の腫瘍細胞において TORC1 制御因子の機能が欠損していることが見出されている。また、マウスを含む複数の生物種において TORC1 経路の抑制は寿命の伸長をもたらす<sup>2)</sup>。TORC1 の機能が癌や老化に関連することが明らかになるにつれ、TORC1 は抗癌剤やアンチエイジングの標的として注目されるようになった。TORC1 の活性は厳密かつ複雑に制御されている。本稿では、TORC1 の活性制御機構について、最新の知見も含めて紹介する。

### Rheb と TSC 複合体による TORC1 の制御

低分子量 GTPase の Rheb は、リソソームに局在する TORC1 活性化因子である。GTP を結合した活性化型 Rheb は TOR に直接作用することで TOR の構造変化を引き起こし、キナーゼのはたらきを促進する<sup>3)</sup>。Rheb には、負の調節因子 TSC 複合体 (TSC1, TSC2, TBC1D7 からなる) が存在する。TSC1 と TSC2 は、結節性硬化症患者において変異が見られる腫瘍抑制タンパク質として知られる。TSC 複合体は Rheb に対する

GTPase 活性化因子 (GTPase activating protein; GAP) で、Rheb の結合ヌクレオチドを GTP から GDP へ変換することで TORC1 の活性化を阻害する。成長因子や細胞内のエネルギー状態に応じた TORC1 活性の変動は、TSC 複合体を介して調節される。これらのシグナルを受けた Akt や AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMP-activated protein kinase; AMPK) がそれぞれ TSC2 をリン酸化することで、TSC 複合体の局在や活性が変動する<sup>4)5)</sup>。その結果、GTP 型 Rheb の存在比が変化することで TORC1 活性が調節される。

### Rag 二量体による TORC1 の制御

アミノ酸は TORC1 に最も影響を与える因子の 1 つで、上記の TSC 複合体を介した調節経路とは独立に TORC1 の活性を変動させる。アミノ酸による TORC1 の活性化には、TORC1 を局在化させるステップが重要である。TORC1 はアミノ酸が存在するとリソソームに局在化し、リソソーム膜上に恒常的に存在する Rheb と結合することで活性化する (図 1 A)。TORC1 の局在に重要な役割を果たすのが Rag 二量体である<sup>6)7)</sup>。Rag 二量体は、低分子量 GTPase の RagA または RagB と、RagC または RagD によって構成され、リソソーム膜にアンカーされる Ragulator 複合体

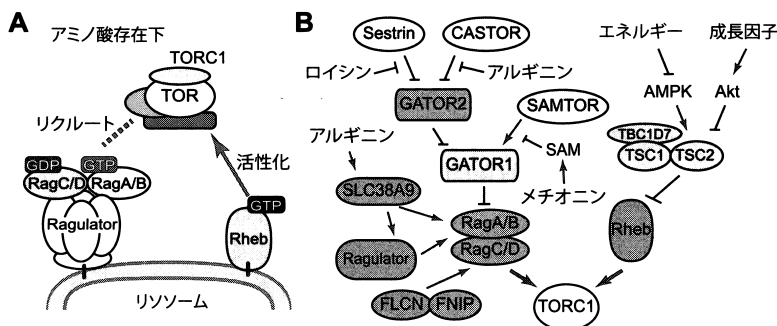


図1 栄養に応じた TORC1 の活性制御

- (A) Rag 二量体と Rheb による TORC1 の活性化。リソソーム上に存在する Rag 二量体は、アミノ酸に反応して RagA/B<sup>GTP</sup>-RagC/D<sup>GDP</sup> になり、TORC1 と結合できるようになる。この結合を介して TORC1 はリソソームにリクルートされ、Rheb の作用を受けて活性化される。
- (B) TORC1 経路の上流で栄養シグナルを感知して伝達する因子群。

(Lamtor1~5の5つのタンパク質からなる)との結合を介して恒常的にリソソームに存在する<sup>8)</sup>。細胞内のアミノ酸の有無は、Rag二量体が結合するヌクレオチドによってモニターされる。アミノ酸存在下ではRagA/BはGTP型、RacC/DはGDP型の二量体(RagA/B<sup>GTP</sup>-RagC/D<sup>GDP</sup>)となり、アミノ酸が欠乏するとRagA/BはGDP型、RacC/DはGTP型の二量体(RagA/B<sup>GDP</sup>-RagC/D<sup>GTP</sup>)となる。Rag二量体はTORC1と結合することができ、その結合はRagA/B<sup>GTP</sup>-RagC/D<sup>GDP</sup>の際に最も強く、RagA/B<sup>GDP</sup>-RagC/D<sup>GTP</sup>の場合には結合が失われる。したがってTORC1は、アミノ酸存在時にはRagA/B<sup>GTP</sup>-RagC/D<sup>GDP</sup>との結合によりリソソームに局在して活性化され、アミノ酸飢餓時にはRag二量体と結合できずにリソソームから放出されて不活性化状態となる。このように、Rag二量体の結合ヌクレオチドの組み合わせにより、アミノ酸に応じたTORC1活性の変動が制御される。

### GATOR1/2によるアミノ酸シグナルの伝達

アミノ酸によるTORC1活性の制御はRag二量体の結合ヌクレオチドに依存するため、このヌクレオチドの変換に関わる因子群がアミノ酸シグナルを仲介する。とりわけ、RagA/BへのGAP活性を有するGATOR1複合体(DEPDC5, Npr12, Npr13からなる)は、RagA/BをGDP型にすることで主要なTORC1不活性化因子としてはたらく。GATOR1はKICSTOR複合体(KPTN, ITFG2, C12orf66, SZT2からなる)との結合によりリソソーム膜に局在し<sup>9)</sup>、その機能がGATOR2複合体(Sec13, Seh1L, WDR24, WDR59, Miosからなる)によって阻害される<sup>10)</sup>。アミノ酸飢餓時のGATOR2はSestrinあるいはCASTORというタンパク質の作用によって機能が阻害されているため、GATOR1はTORC1を抑制することができる。一方、アミノ酸が存在すると、ロイシンとアルギニンがSestrinとCASTORにそれぞれ結合するため、両タンパク質はGATOR2を阻害できなくなる。その結果、フリーになったGATOR2がGATOR1

に作用して機能を抑制するため、TORC1は活性化する。このように、SestrinとCASTORはそれぞれロイシンとアルギニンに対するセンサーとして機能し、アミノ酸シグナルはGATOR1/2とRag二量体を介してTORC1へと伝達される<sup>11)12)</sup>。また、最近同定されたSAMTORタンパク質はGATOR1と共同してTORC1を抑制する。SAMTORは、メチオニンから合成されるS-アデノシルメチオニン(S-adenosylmethionine; SAM)と結合し、SAMと結合したSAMTORは機能できなくなる。したがって、SAMTORはメチオニンセンサーとしてはたらく、メチオニンの有無に応じたTORC1活性の変動を制御する<sup>13)</sup>。以上のように、GATOR1はアミノ酸シグナルをRag二量体に伝達する経路で重要な役割を果たしている。複数種の癌細胞においてGATOR1構成因子の変異が見出されており、こうした癌細胞ではTORC1が過活性化していることも報告されている<sup>10)</sup>。

GATOR1に加え、RagA/Bの結合ヌクレオチドの変換に関わる因子としてRagulatorが知られている。RagulatorはRag二量体をリソソームに局在させるだけでなく、RagA/Bのグアニンヌクレオチド交換因子(guanine nucleotide exchange factor; GEF)としても機能する<sup>14)</sup>。一方、RagC/Dの調節因子としてFLCN(Folliculin)とFNIP(Folliculin-interacting protein)との複合体が同定されている。FLCN-FNIPはRagC/Dに対するGAP活性を有し、アミノ酸シグナルに応答してRagC/D<sup>GDP</sup>を増加させることでTORC1を活性化すると考えられている<sup>15)</sup>。

### GATOR1/2以外の因子による活性制御

ロイシンやアルギニンとは対照的に、グルタミンはRag二量体を介さない経路でTORC1を活性化することが明らかになっている。グルタミンによるTORC1の活性化には、低分子量GTPaseのArf1が機能しており、やはりTORC1のリソソームへの局在化を促進する<sup>16)</sup>。ロイシンとグルタミンいずれの場合でも、TORC1の活性化はリソソ

ーム膜に局在する液胞型H<sup>+</sup>輸送性ATPase (V-ATPase)を必要とする。アミノ酸に依存してV-ATPaseがRagulatorと結合すること、この結合にはATPの加水分解が必要であることが見出されている<sup>17)</sup>。V-ATPaseがどのようにしてアミノ酸を感知しているのかは不明である。さらに、リソソーム膜に局在するアミノ酸トランスポーター様タンパク質であるSLC38A9も、アミノ酸シグナルの伝達に関与する。SLC38A9は、RagulatorおよびRag二量体と結合することや、アルギニンの特異的に感知してTORC1を活性化することが見出されている<sup>18)</sup>。リソソーム中にはタンパク質分解で得られる多くのアミノ酸が蓄積されている。最近、SLC38A9がアルギニンに応答して、ロイシンを含む様々なアミノ酸をリソソームから排出することが明らかにされた<sup>19)</sup>。したがって、SLC38A9はアルギニンのシグナルを伝えるだけでなく、他のアミノ酸のシグナルに変換してTORC1活性を制御することもできる。さらに、SLC38A9はコレステロールも栄養シグナルとして感知し、TORC1を活性化する<sup>20)</sup>。

### 分裂酵母におけるTORC1経路の活性制御

TORC1経路は真核生物間で高度に保存されている。分裂酵母は単細胞の真核生物で、ゲノムが小さく細胞構造も単純であるため、モデル生物として有効利用されている。分裂酵母のTORC1は、TORであるTor2に加えてMip1 (RAPTOR相同タンパク質)とPop3 (LST8相同タンパク質)を含み、リソソームに相同な液胞に局在して細胞増殖を促進する。分裂酵母でも、Rheb, RagA/B, RagC/Dにそれぞれ相当するRhb1, Gtr1, Gtr2に加え、TSC複合体(Tsc1とTsc2からなる)が同定されており、TORC1制御機構の保存性が示唆されてきた。分裂酵母はアンモニウムのような無機物も窒素源として利用し、各種のアミノ酸を自前で合成することができる。分裂酵母のTORC1は窒素源の有無に応じて活性を変動するが、窒素源から合成した特定のアミノ酸をシグナルとして感知しているかどうかは不明である。

著者らは、分裂酵母のRag二量体(Gtr1-Gtr2)に結合する4つのタンパク質(Lam1~4)を同定した。これらのタンパク質が形成する複合体はGtr1-Gtr2の液胞局在に必須であったことから、この複合体はRagulatorに相当すると考えられた<sup>21)</sup>。実際に、Lam1はLamtor1と同様に膜にアンカーされるための脂質修飾個所をアミノ末端にもつ、Lam2はLamtor2に相同なアミノ酸配列を含む、Lam3はLamtor3と類似の二次構造をとることが予測される、といった特徴を見出した。また、著者らは分裂酵母のGATOR1(Iml1, Npr2, Npr3からなる)を同定し、哺乳類と同様にGtr1のGAPとしてはたらき、TORC1活性を抑制することを明らかにした<sup>21)</sup>。

分裂酵母のTORC1は恒常的に液胞に局在しており、アミノ酸に応じた局在変化を示さない。さらに、TORC1の液胞局在はRag二量体(Gtr1-Gtr2)を必要としない。むしろ、Rag二量体が欠損するとTORC1は液胞で過剰に活性化しており、正常な細胞増殖を妨げてしまう。したがって、分裂酵母ではアミノ酸が豊富にあってもGATOR1が機能しており、GDP型のGtr1を含むRag二量体が局在変化とは異なる機構でTORC1を抑制することにより、TORC1活性を増殖に適切なレベルに保っている<sup>21)</sup>。

### おわりに

細胞は栄養があると成長や増殖を促進する。TORC1経路はこうした栄養応答の中核に位置する。本稿で紹介したように、アミノ酸シグナルの感知や伝達に関わる因子が多く同定され、アミノ酸からTORC1までの経路が、同定された因子の直接的な作用で説明できる(図1B)。今後も、新規因子や因子間の相互作用ネットワークが同定され、各作用の詳細な機構も明らかにされるであろう。また、アミノ酸ごとに制御が異なるため、さらに多様なシグナル伝達経路が存在する可能性がある。これまで得られた知見の多くは特定の培養細胞を用いた解析に基づくが、今後は、個体や組織レベルでの栄養応答のしくみや、組織や細胞

種間の多様性に関して理解が進むかもしれない。最後に、分裂酵母で筆者らが同定した Rag 二量体による TORC1 経路の抑制作用に関しても、その分子機構や哺乳類細胞での保存性について明らかにしたいと考えている。

## 文 献

- 1) Cornu M, Albert V and Hall MN: mTOR in aging, metabolism, and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 23: 53-62, 2013.
- 2) Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, Nelson JF, Astle CM, Flurkey K, Nadon NL, Wilkinson JE, Frenkel K, Carter CS, Pahor M, Javors MA, Fernandez E and Miller RA: Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature* 460: 392-395, 2009.
- 3) Yang H, Jiang X, Li B, Yang HJ, Miller M, Yang A, Dhar A and Pavletich NP: Mechanisms of mTORC1 activation by RHEB and inhibition by PRAS40. *Nature* 552: 368-373, 2017.
- 4) Inoki K, Li Y, Zhu T, Wu J and Guan KL: TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nat Cell Biol* 4: 648-657, 2002.
- 5) Inoki K, Zhu T and Guan KL: TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell* 115: 577-590, 2003.
- 6) Kim E, Goraksha-Hicks P, Li L, Neufeld TP and Guan KL: Regulation of TORC1 by Rag GTPases in nutrient response. *Nat Cell Biol* 10: 935-945, 2008.
- 7) Sancak Y, Peterson TR, Shaul YD, Lindquist RA, Thoreen CC, Bar-Peled L and Sabatini DM: The Rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1. *Science* 320: 1496-1501, 2008.
- 8) Sancak Y, Bar-Peled L, Zoncu R, Markhard AL, Nada S and Sabatini DM: Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. *Cell* 141: 290-303, 2010.
- 9) Wolfson RL, Chantranupong L, Wyant GA, Gu X, Orozco JM, Shen K, Condon KJ, Petri S, Kedir J, Scaria SM, Abu-Remaileh M, Frankel WN and Sabatini DM: KICSTOR recruits GATOR1 to the lysosome and is necessary for nutrients to regulate mTORC1. *Nature* 543: 438-442, 2017.
- 10) Bar-Peled L, Chantranupong L, Cherniack AD, Chen WW, Ottina KA, Grabiner BC, Spear ED, Carter SL, Meyerson M and Sabatini DM: A Tumor suppressor complex with GAP activity for the Rag GTPases that signal amino acid sufficiency to mTORC1. *Science* 340: 1100-1106, 2013.
- 11) Wolfson RL, Chantranupong L, Saxton RA, Shen K, Scaria SM, Cantor JR and Sabatini DM: Sestrin2 is a leucine sensor for the mTORC1 pathway. *Science* 351: 43-48, 2016.
- 12) Chantranupong L, Scaria SM, Saxton RA, Gygi MP, Shen K, Wyant GA, Wang T, Harper JW, Gygi SP and Sabatini DM: The CASTOR Proteins Are Arginine Sensors for the mTORC1 Pathway. *Cell* 165: 153-164, 2016.
- 13) Gu X, Orozco JM, Saxton RA, Condon KJ, Liu GY, Krawczyk PA, Scaria SM, Harper JW, Gygi SP and Sabatini DM: SAMTOR is an S-adenosylmethionine sensor for the mTORC1 pathway. *Science* 358: 813-818, 2017.
- 14) Bar-Peled L, Schweitzer LD, Zoncu R and Sabatini DM: Ragulator is a GEF for the rag GTPases that signal amino acid levels to mTORC1. *Cell* 150: 1196-1208, 2012.
- 15) Tsun ZY, Bar-Peled L, Chantranupong L, Zoncu R, Wang T, Kim C, Spooner E and Sabatini DM: The folliculin tumor suppressor is a GAP for the RagC/D GTPases that signal amino acid levels to mTORC1. *Mol Cell* 52: 495-505, 2013.
- 16) Jewell JL, Kim YC, Russell RC, Yu FX, Park HW, Plouffe SW, Tagliabracchi VS and Guan KL: Metabolism. Differential regulation of mTORC1 by leucine and glutamine. *Science* 347: 194-198, 2015.
- 17) Zoncu R, Bar-Peled L, Efeyan A, Wang S, Sancak Y and Sabatini DM: mTORC1 senses lysosomal amino acids through an inside-out mechanism that requires the vacuolar H<sup>+</sup>-

- ATPase. *Science* 334: 678-683, 2011.
- 18) Wang S, Tsun ZY, Wolfson RL, Shen K, Wyant GA, Plovianich ME, Yuan ED, Jones TD, Chantranupong L, Comb W, Wang T, Bar-Peled L, Zoncu R, Straub C, Kim C, Park J, Sabatini BL and Sabatini DM: Metabolism. Lysosomal amino acid transporter SLC38A9 signals arginine sufficiency to mTORC1. *Science* 347: 188-194, 2015.
- 19) Wyant GA, Abu-Remaileh M, Wolfson RL, Chen WW, Freinkman E, Danai LV, Vander Heiden MG and Sabatini DM: mTORC1 Activator SLC38A9 Is Required to Efflux Essential Amino Acids from Lysosomes and Use Protein as a Nutrient. *Cell* 171: 642-654 e612, 2017.
- 20) Castellano BM, Thelen AM, Moldavski O, Feltes M, van der Welle RE, Mydock-McGrane L, Jiang X, van Eijkeren RJ, Davis OB, Louie SM, Perera RM, Covey DF, Nomura DK, Ory DS and Zoncu R: Lysosomal cholesterol activates mTORC1 via an SLC38A9-Niemann-Pick C1 signaling complex. *Science* 355: 1306-1311, 2017.
- 21) Chia KH, Fukuda T, Sofyantoro F, Matsuda T, Amai T and Shiozaki K: Ragulator and GATOR1 complexes promote fission yeast growth by attenuating TOR complex 1 through Rag GTPases. *eLife* 6: e30880, 2017.
-