

水島 昇 *Mizushima Noboru*

東京大学 大学院医学系研究科 教授
2017年よりERATO水島細胞内分解ダイナミクスプロジェクト
研究総括

特集

OVERVIEW

細胞内の物質を分解し栄養をリサイクル オートファジーの役割や仕組みを探る

細胞の恒常性は、細胞内のたんぱく質やオルガネラが合成と分解を繰り返すことで維持されている。細胞内のたんぱく質などを分解して栄養を再利用する「オートファジー」は、多くの真核生物で普遍的に起こる現象だが、その役割や仕組みについてはわからない部分が多い。東京大学大学院医学系研究科の水島昇教授は、哺乳類におけるオートファジーの役割や仕組みについて体系的および定量的に理解するための研究に取り組んでいる。

生物共通の細胞自食作用 臨床医から研究者の道へ

人間の体は数十兆個の細胞からできており、細胞の一つ一つが正しく機能することで健康が保たれている。細胞内には、ミトコンドリアや小胞体などのオルガネラと呼ばれる細胞小器官やたんぱく質がぎっしりと詰まっており、細胞の恒常性を維持するために、常に分解と合成が行われている。この分解経路の1つに「オートファジー」と呼ばれる仕組みがある(図1)。

オートファジーは、たんぱく質やオルガネラを「オートファゴソーム」という袋状の膜構造で取り込み、そこに分解酵素を含むリソソームが融合して、オートファゴソームの中身を分解する細胞の自食作用だ。分解によりできたアミノ酸は、たんぱく質の合成などに再利用される。オートファジーの現象は1960年代に海外の研究者によって発見されたが、生命にとってどのような役割があるのか、どのような仕組みで起こるのかについては長い間、謎だった。

東京工業大学の 大隅良典 栄誉教授

が、90年代に酵母でもオートファジーが起こること、オートファゴソームがオートファジー遺伝子の働きによって形成されることを発見し、これら一連の研究成果によって、2016年にノーベル生理学・医学賞を受賞した。このオートファジーを起こす仕組みは哺乳類でもほぼ同様であることがわかり、その後オートファジーに関連する遺伝子も哺乳類で次々と発見された。

「オートファジーは多くの生物に共通する普遍的な現象です。また、体内のどこか特定の場所でのみ起こるわけではなく、全身の細胞で起きています。この2点に惹かれて臨床医から研究者の道へ進みました」と話すのは、97年より大隅研究室に入り、哺乳類のオートファジー研究を牽引する東京大学大学院医学系研究科の水島昇教授である。

垣根を越えた専門分野の融合 メンバーは半年ごとに席替え

オートファジーの主な役割は、栄養のリサイクルと細胞内の老廃物除去などの品質管理の2つと考えられ

ている。水島さんは、これまでにオートファジーの①哺乳類における役割の解明②仕組みの解明③定量的な測定方法の開発④病気とのつながりの解明⑤オートファジーを活用した治療法の開発の5つの柱を設定し、①と②を中心に研究を進めてきた。しかしながら、これらの研究には生物学だけでなく物理学や進化学など垣根を越えた専門分野の融合が求められる。

そこで水島さんは、さまざまな研究者に呼びかけ、JSTのERATO「水島細胞内分解ダイナミクスプロジェクト」を立ち上げた(図2)。プロジェクトは、オルガネラの定量的な解析法の開発を目指す「オルガネラ動態解析」、主に遺伝学を用いて脊椎動物での細胞内分解の意義を包括的に理解する「生理機能解析」、数理・物理学的手法を用いたオートファジー過程のモデル化を行う「数理モデリング」、分子進化的視点に基づいたデータ解析からオートファジー機構の理解を目指す「分子・進化」の4グループで構成されている。さらに、これらの4グループは、お互いに連携しながら異分野融合研究を推進している。

プロジェクトメンバーは全て同じ部屋にあり、席はグループ単位ではなく、ばらばらに配置されている。半年に1回席替えを行い、異分野の研究者同士が話しやすい環境を作っている。「最初は研究者の使う専門用語の理解さえ困難でしたが、会話を通じてお互いの言葉を理解するようになり、違う視点に触れることで研究のアイデアも生まれるようになりました」と水島さんは語る。

オートファゴソームの膜形成 数理モデルを構築して実証

異分野融合研究の成果の1つが、数理モデリンググループ主導の「オートファゴソーム形成の膜変形ダイナミクスの数理モデル構築とその妥当性の実証」である。オートファゴ

図1 オートファジーの仕組み

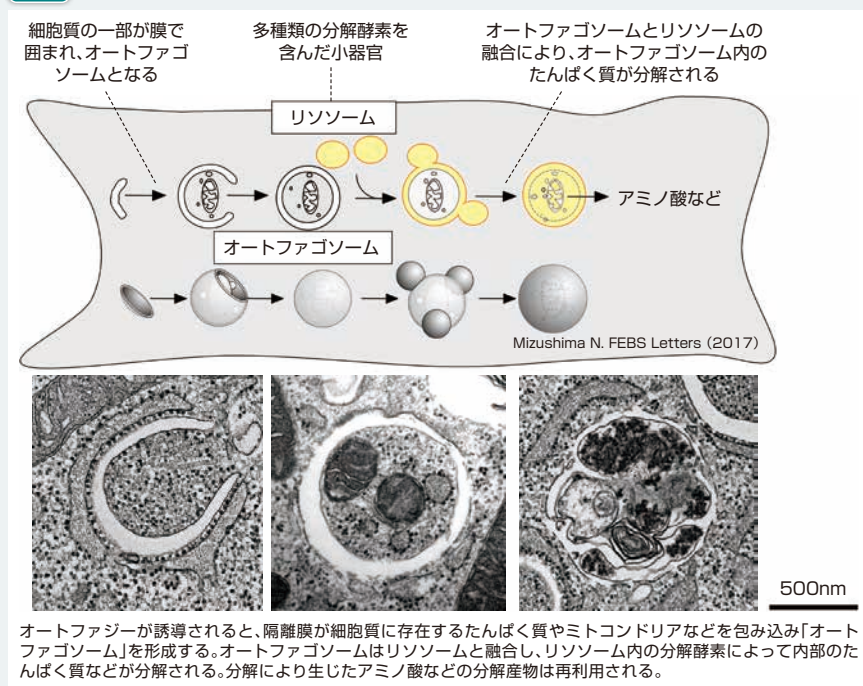
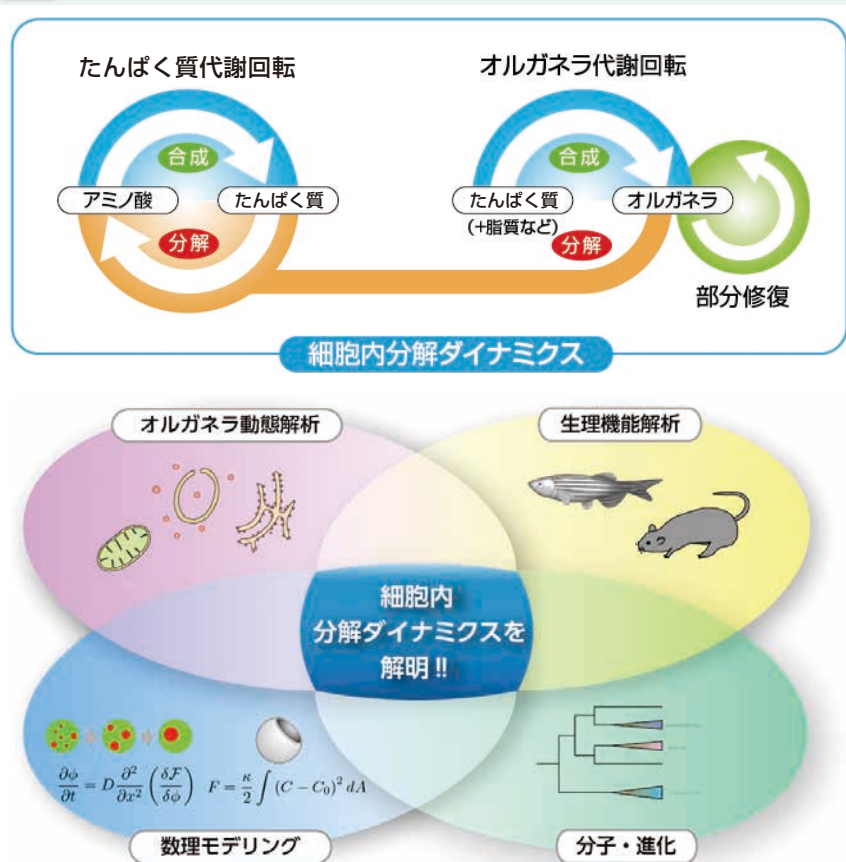


図2 プロジェクト概要



さまざまな学術的視点・手法による技術開発や解析は、細胞生物学、細胞生理学を中心とした幅広い基礎研究分野への波及効果と、細胞内代謝回転に関連する疾患の理解や治療戦略への展開が期待されている。

ソームが形成される過程は、まず隔離膜と呼ばれる平らなディスク状の小胞が、カップ状にわん曲して、最後にカップの口が閉じて球状のオートファゴソームを形成するというものだ。隔離膜を変形させてオートファゴソームを形成するためには、膜を曲げて安定化させる曲率因子が関与していると考えられてきたが、どのような物理機構で形成過程が制御されているかは不明だった。

そこで、曲率因子が隔離膜の形成変化をどのように制御するのか、数理モデルを構築した(図3、4)。この数理モデルの妥当性を確認するためには、実際の細胞内の変化を観察する必要がある。それを可能にしたのは、オルガネラ動態解析グループが主導した「広域3次元光-電子相関顕微鏡法」を用いた細胞小器官の定量解析だ。蛍光顕微鏡画像と電子顕微

鏡画像を同視野で取得する光-電子相関顕微鏡法にアレイトモグラフィと呼ばれる細胞切片から3次元再構成を行う手法を取り入れた。

具体的には、試料の3次元蛍光顕微

鏡画像を撮影した後に、試料を樹脂処理し25ナノ(10億分の1)メートル厚の連続超薄切片を作製、切片をシリコンウエハーに乗せて、走査型電子顕微鏡で撮影した。蛍光顕微鏡と電子顕微鏡の2つの画像を重ね、数個の細胞を含む広い範囲でオートファジーに関連する構造を細胞の上から下まで超解像で観察することに成功した(図5)。

この測定方法を用いて、直径1マイクロ(100万分の1)メートル以下のオートファゴソームの隔離膜の形状も容易に観察でき、前述の数値モデルの妥当性も実証された。水島さんは「オルガネラ動態解析グループの解析によって、数理モデリンググループが構築した数理モデルの妥当性を確認しました。1つのグループだけでは成し得なかった進展でしょう」と総括している。

水晶体の透明化機構の解明 新たな細胞内分解システム

水島さんたちは、オートファジー研究から、オートファジーとは異なる新たな細胞内分解の仕組みを発見した。生理機能解析グループが主導した「目の水晶体で起こる透明化の仕組みの解明」である。脊椎動物の目の水晶体の細胞は、元々は小胞体や

図3 曲率因子による隔離膜形態変化の数理モデル

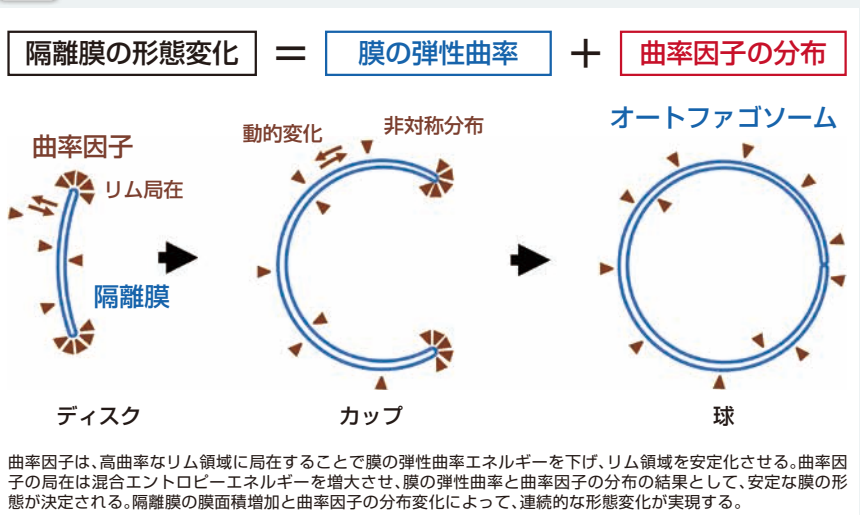
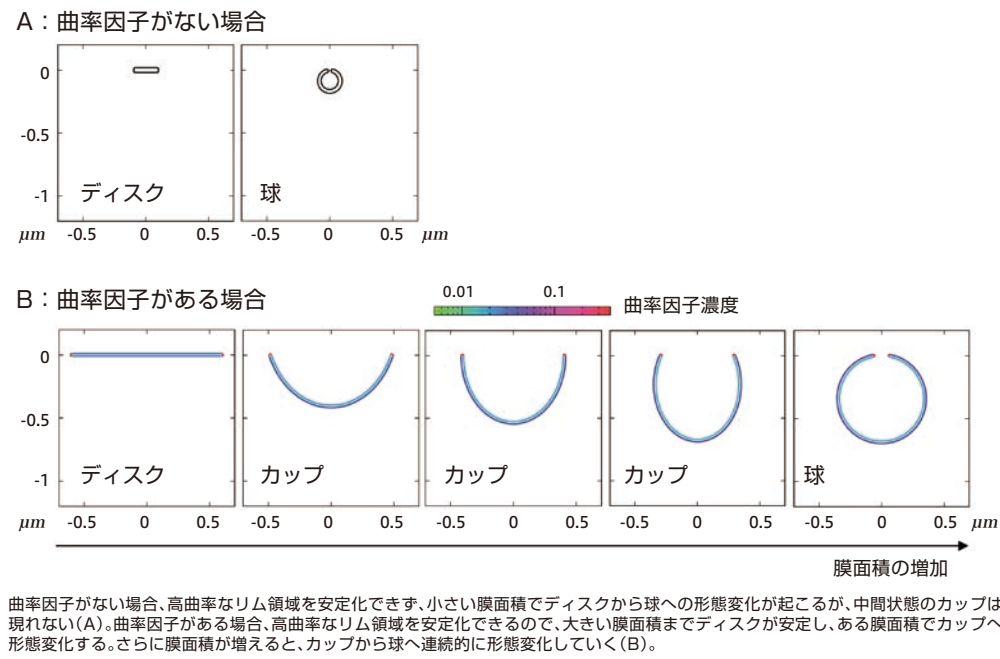


図4 膜形態変化の数理モデル解析結果



ミトコンドリアなどのオルガネラが詰まっている。しかし、水晶体ができる過程で、核を含めた細胞小器官が全てなくなってしまう。この現象自体は100年以上前から指摘されており、オートファジーの発見以降は、オートファジーによるものではないかと予想されていた。

一方、水島さんは20年前から、オートファジーを起こせないマウスでも水晶体の細胞小器官が分解され

ることを確認しており、水晶体で起こっている細胞内分解はオートファジーによるものではないと考えていた。しかし、そのメカニズムは長年不明だったという。ブレイクスルーのきっかけは、遺伝子を改変しやすく、生きた状態で細胞や組織を観察しやすいゼブラフィッシュをモデル動物として用いたことだ(図6)。

受精後2~3日目のゼブラフィッシュの水晶体を観察したところ、ミ

トコンドリアや小胞体がある場所で破けて周囲に散らばっており、やはりオートファジーの分解機構と異なることを確認した。水晶体で多く発現している遺伝子などを60種類ほど選び、それぞれの遺伝子を欠損させた魚を作って調べたところ、1つだけ、欠損によってオルガネラを分解できなくなる遺伝子が見つかった。この発見により、水晶体の細胞内分解は「PLAAT」という脂質分解酵素が関与していることが明らかになった(図7)。

オートファジーや特定のたんぱく質を選択的に分解するユビキチン・プロテアソーム系とは異なる新たな分解システムの発見である。「オートファジーの研究をしていなかったら得られなかった成果で、なおかつ生理機能解析グループがゼブラフィッシュの水晶体を観察しなければブレイクスルーも起こらなかったでしょう」と水島さんは話す。

他にも、分子・進化グループは、オートファジー遺伝子が進化の過程で変化していることを解明した。オートファゴソームが作られる時には、構成するたんぱく質の強力な共有結合が必須条件と考えられていたが、弱い非共有結合でも膜形成を始める生物もいることがわかった。「オートファジー遺伝子は進

図5 広域3次元光-電子相関顕微鏡法の開発

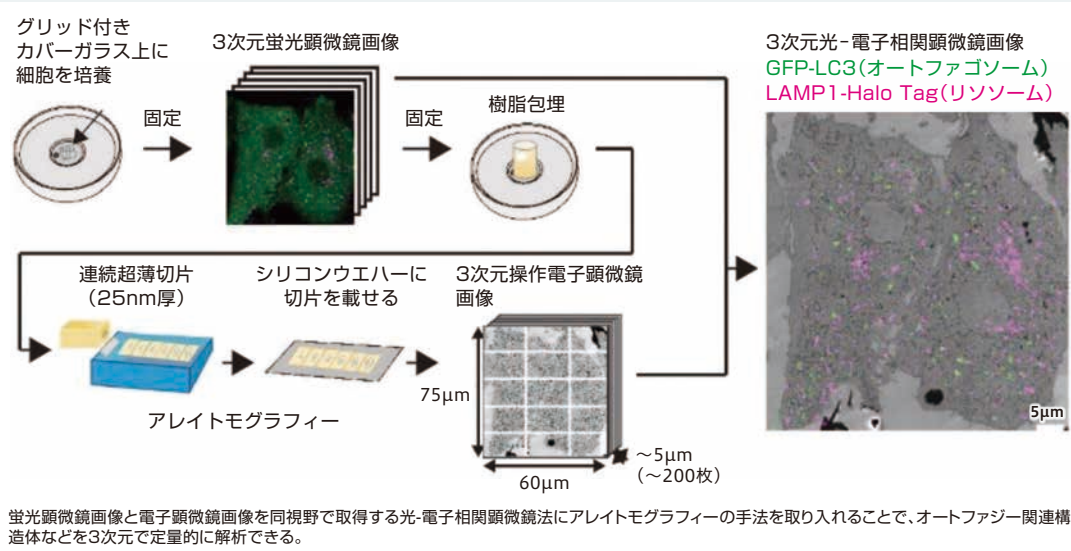


図6 ゼブラフィッシュ



体長3~4センチメートルほどの小型魚で、体表に紺色の縦縞がある。1週間に1回200個程度の卵を産み、遺伝学の研究に適したさまざまな特徴を持つ。水島研究室では5000匹近くのゼブラフィッシュを飼育している。

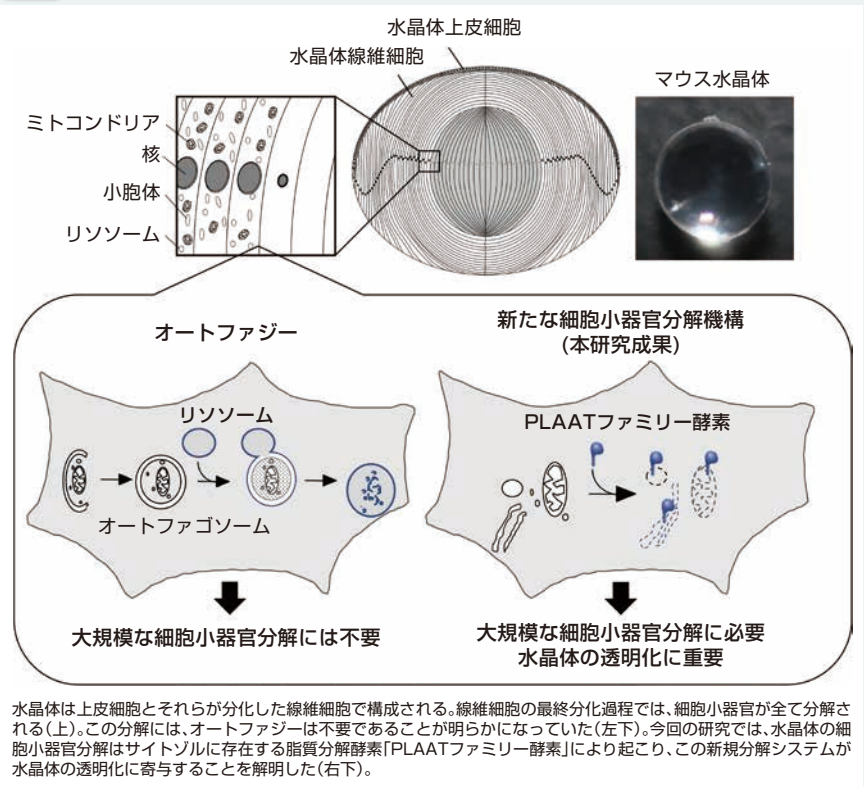
化の過程で大きく変化しており、各生物で働きを単純化しているところがあります」と水島さん。分子系の研究ではオートファジーを細胞レベルで正確に測定できるハロタグアクセス法の開発などの成果も発表している。

膜を中心に基礎研究を推進 オートファジーを超える発見へ

ERATOでの基礎研究は、病気や老化の解明や薬の効き目の測定などにも役立つ重要なものだ。今後について、水島さんはさらに基礎的な研究を進めていきたいと話す。その1つが「オートファジーの最後の段階はどうなっているのか」を明らかにすることだ。オートファゴソームに食べられたものは消えてなくなるように思えるが、たんぱく質は分解できても、膜成分は分解されにくく、残ってしまうことが多い。その後、膜成分がどうなるのかはまだよくわかっていない。

また、リソソームの分解酵素は、オートファゴソームの2枚の膜の間に入るが、消化酵素によって分解されるのは内側の膜だけで、外側の膜は溶けない。これらの膜は元々つながっていた同じ膜であるにも関わらず、溶けやすさに違いがある。この謎に対し「今後は膜にもフォーカスを

図7 水晶体における大規模な細胞小器官分解の模式図

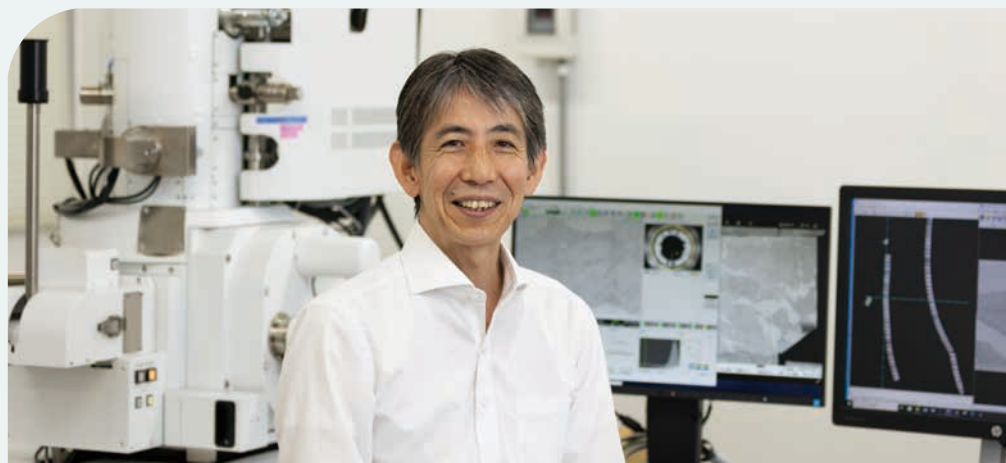


当てた基礎研究に取り組みたいと思っています」と水島さん。

ERATOでさまざまな研究成果を発表できたことについて、水島さんは4つのグループが分野横断的に融合することでブレイクスルーが起き、成果につながったと分析している。現在、プロジェクトに参画した多

くの研究者が日本各地の大学や研究機関で活躍していることも大きい。「4グループのメンバーと共に、今後もオートファジーにとどまらない細胞内分解研究を続け、オートファジーを超える発見もしていきたいです」と水島さんは語っている。

(TEXT:伊藤左知子, PHOTO:石原秀樹)



ERATO研究を通じて、分野を超えた人のつながりを作ることができました。皆さん、自分で思っている以上に他の分野に詳しくなっているはずなので、ぜひ分野横断的な研究を継続してほしいです。