

栄養を感知して細胞成長を促す TORC1 の制御機構



研究ノート

荒木 保弘*, 野田 健司**

TORC1 as a hub connecting nutrient availability with cell growth

Key Words : TORC1, nutrient signaling, amino acid sensing, protein kinase

はじめに

細胞は内外の栄養状態を厳密に感知し、その量に応じて適切に応答することは生物の生存に必須である。真核細胞においてこの中心的な役割を担うのはセリントレオニンキナーゼ複合体である TORC1 (Tor complex 1) である (図1)。十分な栄養源が存在すると TORC1 は活性化し、基質のリン酸化を介して同化作用 (生体内高分子化合物の合成) を亢進すると同時に、飢餓時にのみ誘起されるオートファジーを介した異化作用 (分解) を抑制する。逆に栄養源がないと不活化し、基質の脱リン酸化により同化作用の抑制、異化作用の亢進をもたらす。こうした栄養に応じた細胞成長・細胞増殖制御因子としての TORC1 の機能は真核生物において進化的に保存されている。

近年、TORC1 のリソソーム (酵母では液胞) 膜上での時間的空間的制御が栄養状態と細胞成長を協

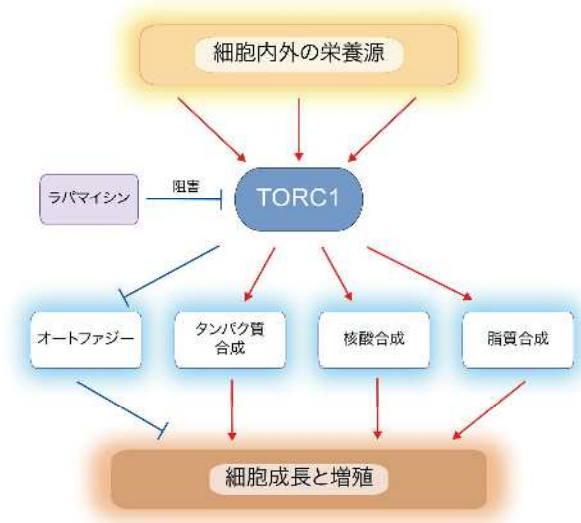


図1 TORC1 は細胞内代謝関連プロセスの中心制御因子である (Lasker 財団ホームページの図を改変)

調する情報伝達のハブであることが明らかとなりつつある。一方で栄養素がどのように TORC1 を活性化するのか、TORC1 が何をリン酸化しているのか、という TORC1 の制御と基質の分子機構の解明が最も重要な課題として残っている。数ある栄養素の中でも TORC1 はアミノ酸に極めてよく反応する。我々は細胞がどのようにアミノ酸を感知し、TORC1 を活性化するのかを酵母を用いて理解したいと考えている。

低分子量 G タンパク質 Rag を介した TORC1 活性化経路

TORC1 発見の端緒となったラパマイシンは 1975 年にイースター島の土壌細菌から抗菌薬として単離された¹⁾。加えて免疫抑制作用、抗がん作用を有することが明らかとなったが、依然として作用機序が不明であった。1991 年に酵母遺伝学を用いた解析よりラパマイシンに抵抗性を示す 2 つの TOR1/2 の



* Yasuhiro ARAKI

東京大学 大学院薬学系研究科 博士課程修了 (2001年)
現在、大阪大学大学院 歯学研究科
口腔科学フロンティアセンター
助教 博士(薬学) 細胞生物学
TEL : 06-6879-2863
FAX : 06-6879-2110



** Takeshi NODA

東京大学 大学院総合文化研究科 博士課程修了 (1996年)
現在、大阪大学大学院 歯学研究科
口腔科学フロンティアセンター
教授 博士(理学) 細胞生物学
TEL : 06-6879-2976
FAX : 06-6879-2110

遺伝子産物が標的として同定された²⁾。これらの機能喪失株はラパマイシン処理を模倣する。つづけて1995年に哺乳類TORの遺伝子が同定されると酵母のオソログであることが判明し、TORがラパマイシンの標的であることが確立した(余談ではあるが、酵母におけるTOR1/2発見の功績によりMike Hallは2017年にラスカー賞を受賞しており、ノーベル賞もそう遠くないと考えられている)³⁾。

四半世紀前からTORC1が細胞内代謝関連プロセスの中枢に位置することは認められていたのに対し、アミノ酸がTORC1情報伝達系をどのように制御しているかはつい10年前まで不明であった。TORC1相互作用因子として単離された低分子量Gタンパク質Ragがアミノ酸によるTORC1制御に必要な機能を果たすことが2008年に報告された⁴⁾⁵⁾。一般に低分子量Gタンパク質はグアノシン三リン酸(GTP)に結合し、加水分解によりグアノシン二リン酸(GDP)へと変換する。結合するグアニンヌクレオチドにより活性化型と不活性化型の二つの型を取ることで細胞内シグナル伝達の分子スイッチとして機能する。アミノ酸刺激により活性化型に変換したRagはTORC1と相互作用できるようになり、TORC1がRagに依存して活性化の場であるリソソームに局在するようになる(図2)。また恒常的活性化型のRag変異体が存在すると栄養飢餓でもTORC1は活性化状態を維持する。以上より、TORC1の活性制御においてもRagに結合するグアニンヌクレオチドの変換が重要であることがわかる。

Ragはリソソーム(酵母では液胞)膜上に常時局在するが、膜局在機構において他の低分子量Gタンパク質と異なる。Ragは脂質修飾を受けず単独では膜に結合できないため、膜への局在にはRagulator複合体を必要とする⁶⁾。Ragulator複合体を欠損するとRagがリソソームに局在できないため、アミノ酸刺激でもTORC1はリソソームにリクルートされない。

近年、アミノ酸に直接結合し、アミノ酸の存在状態をTORC1に伝えるアミノ酸センサーの分子同定が急速な進展を見せている。ロイシン、アルギニンを直接認識するセンサーとしてSestrinとCASTORが同定された⁷⁾⁸⁾。メチオニンは中間代謝産物SAMとしてSAMTORに感知される⁹⁾。低分子量Gタンパク質に結合しているグアニンヌクレオチドの

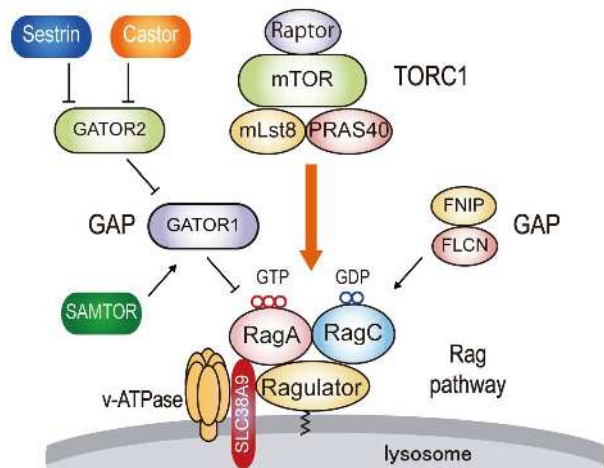


図2 哺乳類細胞のTORC1活性化経路であるRag経路

変換は、グアニンヌクレオチド交換因子(GEF)とGTPase活性化タンパク質(GAP)が媒介する。アミノ酸の存在を感知したアミノ酸センサーはGEFやGAPの活性を制御しRagのグアニンヌクレオチド型を変換することでRagの活性、ひいてはTORC1の活性を統制している(図2)。

細胞は多種のアミノ酸を感知するためにさらに多くのセンサーを有していると考えられる。多くのアミノ酸センサーが同定されていない要因は、これまでTORC1活性化経路としてRag経路のみが研究対象となっていることに他ならない。Rag経路の一経路では、感知しなければならない20種ものアミノ酸の多様性に対応しうるとは考えにくい。実際に全てのアミノ酸がRagを経由してTORC1を活性化しているわけではない。Rag欠損細胞においてグルタミンはTORC1のリソソームへの局在を誘導する¹⁰⁾。加えてTORC1によるアミノ酸センシングが生育にとって必須の機能であるのに対して、Ragは非必須遺伝子にコードされている。これらはRagがなくてもTORC1はアミノ酸シグナルを受容できることを示しており、Rag以外のTORC1制御システムが存在することを示唆している。しかし、その実体は不明であった。

Pib2を介した新規TORC1活性化経路

Ragは進化上高度に保存されており、酵母オソログGtrは酵母における唯一のTORC1活性化経路であると考えられていた¹¹⁾。TORC1はこの低分子量Gタンパク質が存在する液胞(リソソームに相当)

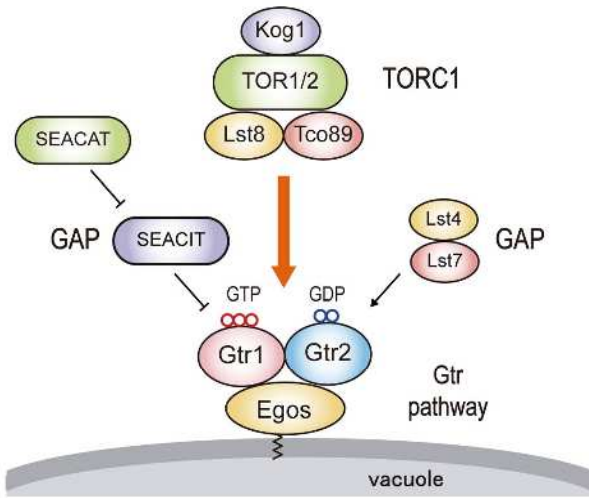


図3 酵母のTORC1活性化経路であるGtr経路

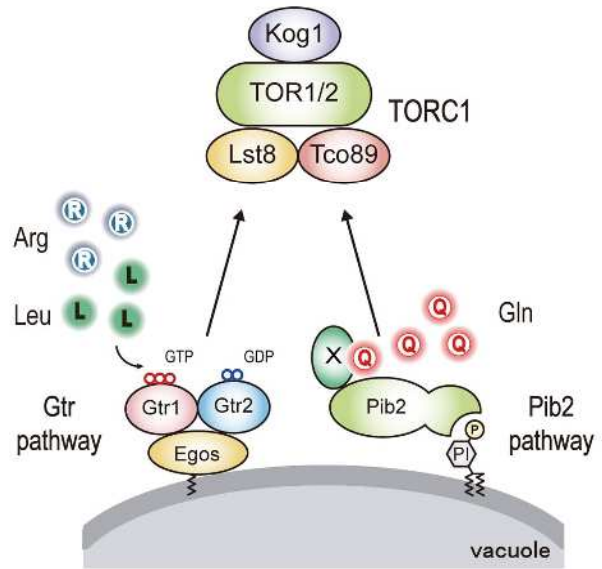


図4 酵母においてPib2経路とGtr経路の二つがTORC1活性化経路である

膜上で活性化する (図3)。しかし哺乳類細胞と同様に酵母TORC1が生育に必須であるにもかかわらずGtrは必須でないこと、さらにGtr欠損酵母はロイシンに応答不全となるがグルタミンには応答するとの報告からGtrに依存しないTORC1活性化経路の存在が予想された¹²⁾。

我々はこのGtr非依存経路の特定を試みた。TORC1が生育に必須であることからGtr経路と未同定の新規経路を同時に遮断すると致死となると考え、Gtr経路の構成因子と合成致死となる因子を探索した。その結果、機能未知因子Pib2を単離した^{13) 14) 15)}。pib2単独欠損株でもTORC1活性が大きく減弱することから、Pib2がGtr経路とは独立した新規経路であることが示唆された。酵母のTORC1活性化経路はPib2経路とGtr経路の二つだけなのだろうか。この疑問に答えるべくPib2経路とGtr経路を同時に抑制できる条件致死株を作製し、TORC1の挙動を検証した。両経路を同時に遮断すると生育が強く阻害され、基質のリン酸化の著しい減少を伴うTORC1の完全不活性化が観察された。この時、活性化に必要なTORC1の液胞膜局在が消滅し、細胞質に一様に局在した。以上からPib2経路とGtr経路の二つのみがTORC1活性化経路であることが明らかとなった (図4)¹³⁾。

さらに生化学的手法により、Pib2がTORC1と複合体を形成すること、この複合体にはGtrが含まれないことから、Pib2とGtrは互いに排他的な異なる複合体を形成することを見出した¹³⁾。Pib2-TORC1とGtr-TORC1の二つの複合体の上流 (ア

ミノ酸) と下流 (基質) に差異はあるのだろうか。Pib2経路を喪失した酵母ではグルタミンを添加してもTORC1は活性化しないのに対し、Gtr経路を欠損してもグルタミンに応答した。よってグルタミンはPib2経路を経由してTORC1を活性化している¹³⁾。すなわち二つの経路は応答するアミノ酸に違いがある。さらにPib2経路のみに依存してリン酸化されるTORC1の基質を見出しており、同じTORC1でも経路ごとに基質特異性を有すると考えられる。合成致死という遺伝学的解析から予見された“機能重複”を完全にしているわけではなく、両経路には差異が存在しているようである。

それではグルタミンはどのようにPib2-TORC1を活性化するのだろうか。我々はまずPib2の欠失変異体を作成し、TORC1結合領域を同定した。結合領域中に一アミノ酸置換を有するPib2変異体は温度感受性を示す。制限温度ではPib2-TORC間相互作用が大きく減弱し、TORC1活性が抑制されていた。従って、Pib2は相互作用を介してTORC1を活性化すると考えられる。Pib2とTORC1との相互作用が重要であることがわかったので、この相互作用に対するグルタミン添加の影響を検証した。免疫沈降実験で、グルタミンの量に依存してPib2と共沈するTORC1の量が増加した。この効果は生体内で使われるL体のみに見られ、光学異性体のD体は全くみられない。Pib2-TORC1間相互作用への

グルタミンの効果から、Pib2自身がグルタミンを感知するセンサーである可能性を検証した。その結果、生体内ではPib2経路は、直接グルタミンに結合し感知することを見出した (図4)¹³⁾。

おわりに

これまでにTORC1の活性化機構に関して多くの知見が蓄積している。近年になって、哺乳類で3種のアミノ酸を直接感知する因子が同定され、Rag経路を介してTORC1を活性化していることが報告された。しかしTORC1を巡る最大の課題である“細胞は全20種のアミノ酸をどのように感知し、どのようにTORC1を活性化するのか”は完全な理解からはほど遠いと言える。この要因は、これまでTORC1活性化経路としてRag/Gtr経路のみが研究対象となっていることに他ならない。Rag/Gtr経路の一経路では、感知しなければならない20種ものアミノ酸の多様性に対応しうるとは考えにくい。我々は新たにPib2経路を見出し、更にTORC1活性化経路はRag/Gtr、Pib2の二経路のみであることを明らかにした。従って全てのアミノ酸による活性化は二経路のどちらかを經由しており、初めて余すことなく検証する準備ができた。本研究により、TORC1活性化の分子機構、特に多様なアミノ酸センシング機構の理解が大きく進むものとする。TORC1の特異的阻害剤であるラパマイシンは免疫抑制効果、抗がん剤効果、寿命延長効果などの薬理作用があることが知られている。将来的に、本研究はこれら生命現象のメカニズムの理解に留まらず、更なる精緻な治療法の開発の基盤となる成果が期待される。

参考文献

- 1) Vezina C., Kudelski A., Sehgal S.N. *J. Antibiot.* 28, 721 – 726 (1975).
- 2) Heitman J., Movva, N.R., Hall M.N. *Science* 253, 905 – 909 (1991).
- 3) Sabatini D.M. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 114, 11818 – 11825 (2017).
- 4) Sancak Y., Peterson T.R., Shaul Y.D., Lindquist R.A., Thoreen C.C., Bar-Peled L., Sabatini D.M. *Science* 320, 1496-501 (2008).
- 5) Kim, E, Goraksha-Hicks P., Li L., Neufeld T.P., Guan, K. L. *Nat. Cell Biol.* 10, 935 – 945 (2008).
- 6) Sancak Y., Bar-Peled L., Zoncu R., Markhard A.L., Nada S., Sabatini D.M. *Cell* 16, 290 – 303 (2010).
- 7) Wolfson R.L., Chantranupong L., Saxton R.A., Shen K., Scaria S.M., Cantor J.R., Sabatini D.M. *Science* 351, 43 – 48 (2016).
- 8) Chantranupong L., Scaria S.M., Saxton R.A., Gygi M.P., Shen K., Wyant G.A., Wang T., Harper J.W., Gygi S.P., Sabatini D.M. *Cell* 165, 153 – 164 (2016).
- 9) Gu X., Orozco J.M., Saxton R.A., Condon K.J., Liu G.Y., Krawczyk P.A., Scaria S.M., Harper J.W., Gygi S.P., Sabatini D.M. *Science* 358, 813 – 818 (2017).
- 10) Jewell JL, Kim YC, Russell RC, Yu FX, Park HW, Plouffe SW, Tagliabracci VS, Guan KL. *Science* 347, 194 – 198 (2015).
- 11) Dubouloz F., Deloche O., Wanke V., Cameroni E., De Virgilio C. *Mol. Cell* 19, 15 – 26 (2005).
- 12) Stracka D., Jozefczuk S., Rudroff F., Sauer U., Hall, M.N. *J. Biol. Chem.* 289, 25010 – 25020 (2014).
- 13) Ukai H., Araki Y., Kira S., Oikawa Y., May A.I., Noda T. *PLoS Genet.* 26, e1007334. (2018).
- 14) Tanigawa M., Maeda T. *Mol Cell Biol.* 29, e00075 – 17. (2017).
- 15) Michel A.H., Hatakeyama R., Kimmig P., Arter M., Peter M., Matos J., De Virgilio C., Kornmann B. *Elife* 8, e23570 (2017).