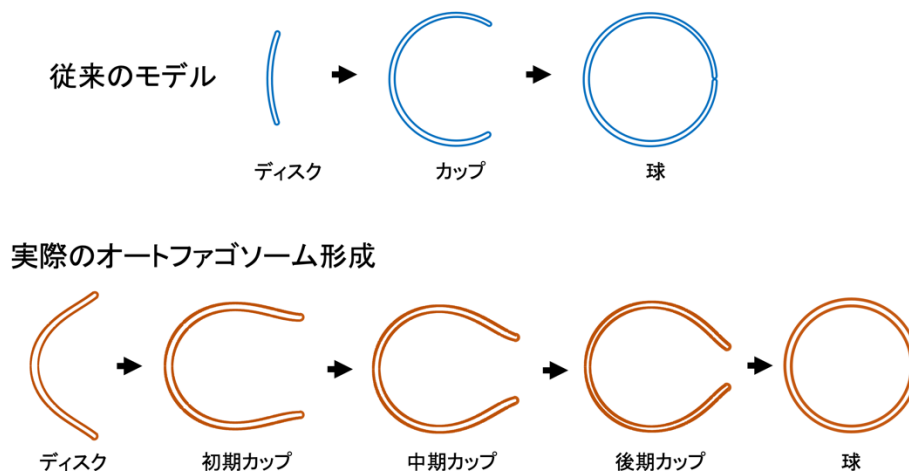


オートファゴソーム標準形態の実験的決定と数理モデル ——オートファジーを司る膜構造体の形の特徴を実験と理論で説明——

発表のポイント

- ◆形成中のオートファゴソームの標準形態（細長く、縁が外側に反り返る）を三次元電子顕微鏡法で明らかにし、その特徴的形狀を定量的に説明できる数理モデルを構築しました。
- ◆一見複雑に見えるオートファゴソーム形成時の形態変化が、単純な膜の曲げ弾性エネルギー最小化によって決定されることを示唆しました。
- ◆本研究によってオートファジーの膜動態の解析に数理モデルが有効であることが示され、今後さらにオートファジーのメカニズムの理解が進むことが期待されます。



発表概要

東京大学大学院医学系研究科の境祐二助教（現：京都大学医生物学研究所特定准教授）、水島昇教授らの研究グループは、オートファジー（注1）を仲介するオートファゴソーム（注2）の形成過程を三次元電子顕微鏡法（注3）により網羅的かつ統計的に調査することで、その標準形態を決定しました。その結果、形成中のオートファゴソームは、今まで思われていたような単純な部分球ではなく、縦に細長く伸びたカップ状であり、その縁は外側に反り返ったカテナノイド曲面（注4）であるという特徴をもつことがわかりました。

この形態的特徴を理解するために、膜の曲げ弾性エネルギー（注5）に基づく数理モデル（注6）を構築しました。得られた数理モデルは、電子顕微鏡法で観察されたオートファゴソーム形成時の形態を定量的に再現しました。これらの結果から、オートファゴソーム膜は非常に柔軟であり、その形成過程の形態的特徴は主に膜の曲げ弾性エネルギーの最小化によって決定されることが示唆されました。本研究成果は、一見複雑に見えるオートファジーの膜動態が、単純な物理機構に基づく理論モデルによって解析できることを示しています。今後、膜動態の計測とそれに基づく数理解析とを組み合わせることで、オートファジーのメカニズムについてより統合的な理解が進むことが期待されます。

発表内容

〈研究の背景〉

細胞内には、ディスクやチューブ、球などさまざまな膜の形態を持った小器官（オルガネラ）があります。オルガネラの形態異常はその器官の機能不全に直結するため、オルガネラの形態を制御する機構を理解することは生理学的にも重要です。細胞内の主要な分解系であるオートファジー（注1）は、オートファゴソーム（注2）によって仲介されますが、その形成過程では特徴的な膜変形が見られます。まず、扁平なディスク状の小胞が伸長し、それがカップ状にわん曲し、最後にそのカップの口が閉じて球状のオートファゴソームとなり細胞質成分を包み込みます（図1）。このダイナミックなオートファゴソーム形成は基本的なプロセスであるにも関わらず、これまでその特徴的な形態変化は体系的かつ定量的には記述されていません。そのため、オートファゴソーム形成時の特徴的な形態変化の根底にある物理学的基盤はほとんど解明されていませんでした。

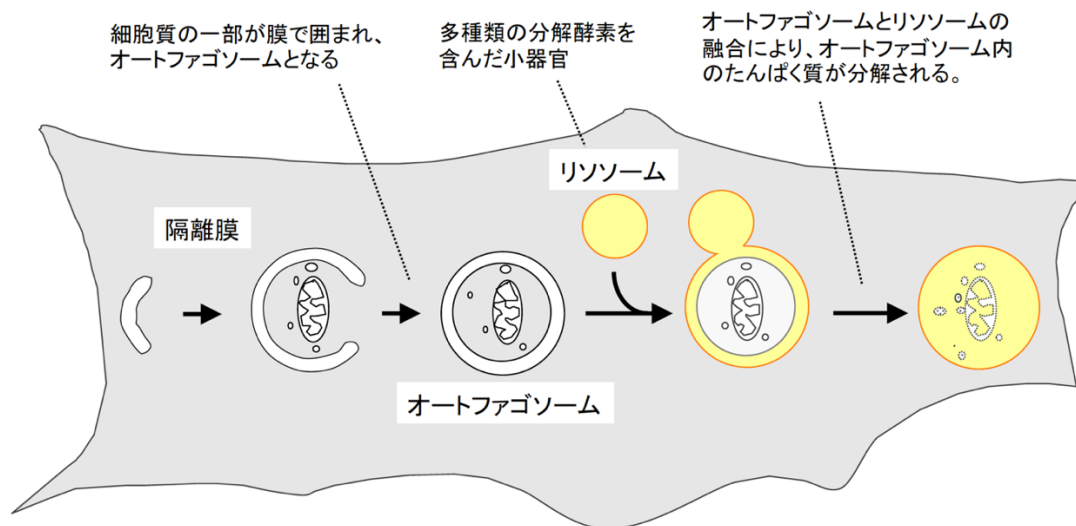


図1：オートファジーの仕組み

オートファジーが誘導されると、扁平な小胞（隔離膜と呼ばれる）が細胞質成分を取り囲みながらオートファゴソームが形成される。続いてオートファゴソームはリソソームと融合し、オートファゴソームで囲んだ細胞質成分が分解される。細胞質成分の分解により生じたアミノ酸などの分解産物は再利用される。

〈研究の内容〉

本研究では、形成途中のオートファゴソームの形態を三次元電子顕微鏡法（注3）により網羅的に調査することで、その平均的な形態を決定し、求めた形態的特徴を物理モデルにより数理解析しました（図2）。

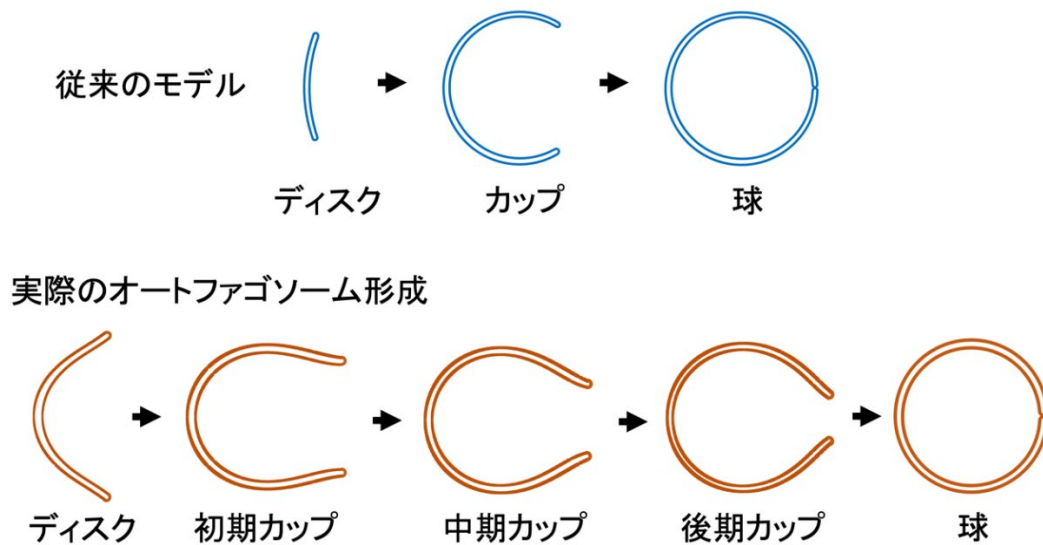


図2：オートファゴソーム形成時の膜形態と数理モデル

従来、オートファゴソーム形成時の膜形態は単純な部分球のカップだと考えられていたが、今回の三次元電子顕微鏡法による定量解析により、縦に細長く伸びたカップで、その口は外側へ反り返るといった特徴を持った複雑な形態であることがわかった。実験で得られた標準的な膜形態は、膜の曲げ弾性エネルギーに基づく物理モデルによる予測と一致し、オートファゴソーム形成時の形態変化が膜の曲げ弾性エネルギーによって決まる安定な経路を辿っていくことが示唆された。

まず、三次元電子顕微鏡法によって、100 個以上の形成途中のオートファゴソームを網羅的に調査し、その形態の三次元構造を再構築しました。得られた形態を、形成過程の順に「初期カップ（ディスク）」、「初期カップ」、「中期カップ」、「後期カップ」の4つのステージに分類し、それらを統計解析することで各ステージの標準的な形態を決定しました。その結果、形成中のオートファゴソームの標準的な形態は、今まで思われていたような単純な部分円ではなく、縦に細長く伸びたカップ状であり、その縁は外側に反り返ったカテナイド曲面（注4）であるという特徴的な形態をもつことが定量的に示されました（図3A-D）。

次に、この形態的特徴を理解するために、膜の曲げ弾性エネルギー（注5）に基づく数理モデル（注6）を構築しました。その結果、得られた数理モデルは、電子顕微鏡法で観察されたオートファゴソーム形成時の形態を定量的に再現することに成功しました（図3E-H）。カップ状の構造が細長くなることで、伸びた方向の曲率を下げ、より安定な形態をとっていると考えられます。また、カップの縁がカテナイド曲面をとることは、縁付近の平均曲率を下げ、形態をより安定化させていると考えられます。さらに、数理モデルを用いて、電子顕微鏡法で観察された形態から膜の弾性特性を決める物理パラメータを予測したところ、膜の面積増加はエネルギー的に有利であることを示しました。

これらの結果は、オートファゴソーム膜は非常に柔軟であり、オートファゴソーム形成中の膜の形態変化は、主に膜の物性に基づく曲げ弾性モデルに従って自発的に決定される安定した経路をたどることを示唆しています。また、その形態はサイズに依存しておらず、幅広いサイズスケールにおいて、数理モデルは実験的に観察された形態をよく再現しました。カップの縁の曲げエネルギーはスケールに依存するため、形成中のオートファゴソームの形態がスケールに依存しないという結果は、縁の曲げエネルギーがサイズによらず何らかのメカニズムで安定化されていることを示唆しています。

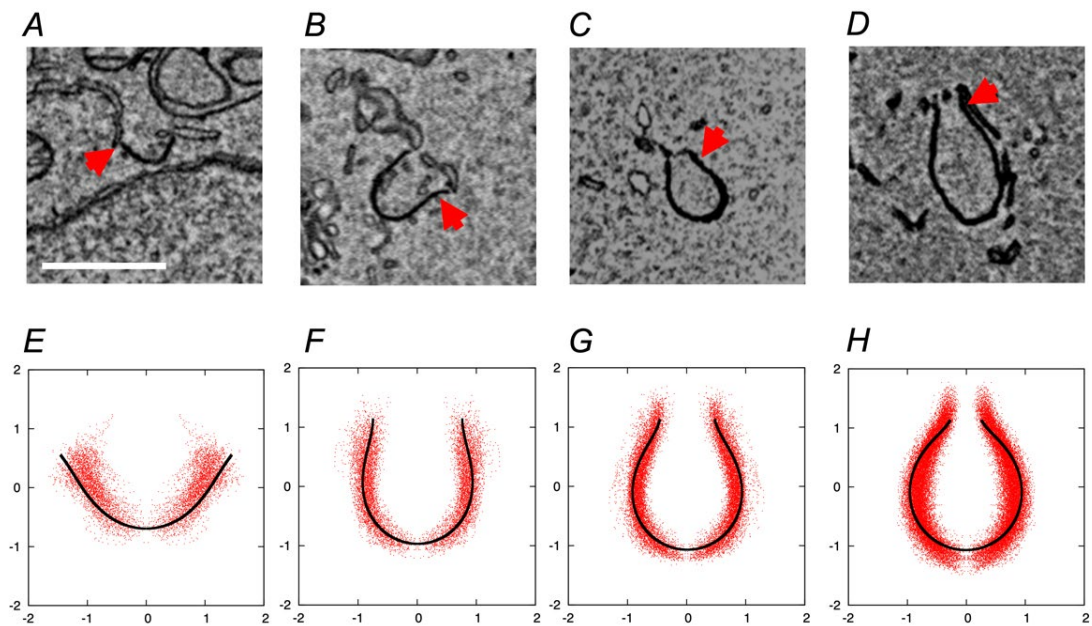


図3：形成途中のオートファゴソーム形態と数理モデル

(A-D) 形成途中のオートファゴソーム形態の電子顕微鏡画像。A-Dはそれぞれ、ディスク、初期カップ、中期カップ、後期カップの4つのステージの代表例。(E-H) 三次元電子顕微鏡画像から抽出された多数の膜形態を各ステージに分類し、重ね合わせて得られる形態を二次元に射影した図(赤)。膜の曲げ弾性エネルギーに基づく物理モデル結果(黒線)。

〈今後の展望〉

近年、オートファジーとヒト疾患の関わりが注目されています。分子生物学や遺伝学による研究を通してオートファジーの分子基盤は理解されてきてきましたが、その根底にある物理学的基盤はほとんど解明されていませんでした。本研究を通して、一見複雑に見えるオートファジーの膜動態が、単純な物理機構に基づく数理モデルを用いて解析できるとともに、そのメカニズムについてより深い理解が可能であることが示されました。今後、膜動態の詳細な計測とそれに基づく数理解析とを組み合わせることで、オートファジーのメカニズムについてより統合的な理解が進むことが期待されます。

発表者

東京大学大学院医学系研究科

境 祐二(助教：研究当時)

現：京都大学医生物学研究所 特定准教授

水島 昇(教授)

小山-本田 郁子(准教授)

齊藤 知恵子(特任准教授)

高橋 暁(博士課程：研究当時)

論文情報

- 〈雑誌〉 Nature Communications
〈題名〉 Experimental determination and mathematical modeling of standard shapes of forming autophagosomes
〈著者〉 Yuji Sakai*, Satoru Takahashi, Ikuko Koyama-Honda, Chieko Saito, and Noboru Mizushima* (*corresponding author)
〈DOI〉 10.1038/s41467-023-44442-1
〈URL〉 <https://www.nature.com/articles/s41467-023-44442-1>

研究助成

本研究は国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業 総括実施型研究（ERATO）「水島細胞内分解ダイナミクスプロジェクト（課題番号：JPMJER1702）」（研究総括：水島昇）、科学研究費助成事業 特別推進研究「膜構造の分解を基軸とした細胞内分解の研究（課題番号：22H04919）」（代表：水島昇）、新学術領域研究公募研究「オートリソソーム形成における脂質修飾型 ATG8 の機能解明（課題番号：22H04635）」（代表：本田郁子）および基盤研究 C「オートファジー膜ダイナミクスの理論的解明（課題番号：23K05715）」（代表：境祐二）として行われました。

用語解説

（注1）オートファジー

細胞の主要な分解機能の一つ。オートファゴソームが細胞質基質やミトコンドリアなどの細胞小器官を取り囲み、リソソームと融合することで内容物を分解する仕組み。その生理的機能としては、飢餓への適応や細胞内の恒常性維持などが知られており、近年では特に神経変性疾患などとの関連が注目されている。

（注2）オートファゴソーム

オートファジー分解を仲介する細胞小器官で、細胞質に存在する分解基質を包み込む。

（注3）三次元電子顕微鏡法

電子顕微鏡を用いて試料の超微形態を三次元で観察する方法。本研究では、試料の連続切片（厚さ 25 nm）を走査電子顕微鏡で観察し観察像を積み上げることで三次元像を再構成する、アレイトモグラフィ法を用いた。

（注4）カテナイド曲面

凸の曲率と凹の曲率が釣り合い、いたるところの曲率がゼロとなる曲面の一種。針金の間にできた石鹸膜のように自然界で多く見られる。馬の鞍のような形もこの一例。

（注5）膜の曲げ弾性エネルギー

膜の曲げに対する弾性エネルギーで、膜の形態はこの曲げ弾性エネルギーを最小化する状態として決定される。

（注6）数理モデル

複雑な現象の一面を簡略化した形で表現し、数式を用いて現象を捉え論理的に記述すること。