

2016年10月5日

関係各位

学校法人高宮学園 代々木ゼミナール
理事長 高宮英郎

ノーベル賞「オートファジーの仕組みの解明」をテーマにした問題を、今年の第1回東大入試プレ(7月実施)で出題

2016年のノーベル生理学・医学賞が、「オートファジー」の仕組みを解明した東京工業大学の大隅良典栄誉教授に贈られることになりました。大学進学教育の一端に携わる者として、喜びに堪えません。心よりお祝いを申し上げたいと存じます。

さて、大学入試、とりわけ難関大学の入試において、各学問の先端的な研究や各方面から注目されているテーマが、「生物」をはじめ、各教科・科目の入試問題として取り上げられるケースが増えております。この度のノーベル賞の受賞テーマであるオートファジーの仕組みについても、今春の早稲田大学(基幹理工・先進理工)で3ページにわたり出題されています(*下記注参照)。大阪大学でも2014年の前期試験で大きく取り上げられています。

*2016 早稲田大学(基幹理工・先進理工)の該当する入試問題および解答例については、下記のサイトの「生物」問題[1]・解答[1]をご覧ください。

http://sokuho.yozemi.ac.jp/sokuho/s_mondaitokaitou/1/1265562_4419.html

このように大学が社会や世間の関心事を入試問題として出題する事例が増えているため、弊社では最新の研究動向にも目を配り、模試やテキストに反映してきました。今年の第1回東大入試プレ(7月実施)の理科-生物に「オートファジーの仕組みの解明」をテーマにした問題を出题したのも、その一例です(模試問題、解答と解説を添付)。

今回の出題はノーベル賞という世界的に注目を集める賞の受賞テーマに関わる問題であったため、ニュースリリースさせていただきましたが、産学連携という用語に端的に表れているように、社会の要請やニーズに応えられる大学教育の在り方が問われ、その大学教育につながる高校教育、大学入試のあるべき姿が「高大接続」の課題として議論されています。このような教育改革全般にかかわる文脈の中に、今回の出題は位置付けられます。弊校は今後も社会が関心を寄せ、注目するテーマを模試やテキストで取り上げてまいりたいと存じますので、どうぞご期待ください。

<本件に関する報道・関係各位のお問い合わせ先>

SAPIX YOZEMI GROUP

担当：代々木ゼミナール広報企画部(北垣・四島)

TEL：03-3379-5221 E-mail：k_kikaku@yozemi.co.jp

Webサイト：<http://www.yozemi.ac.jp/>

【添付資料 1】

SAPIX YOZEMI GROUP

第 1 回
東大入試プレ問題
理科 - 生物
第 2 問
(問題)

※ オートファジー関連部分

(2016 年 7 月実施)

第2問

次の文1と文2を読み、IとIIの各問に答えよ。

〔文1〕

オートファジー(自食作用)は、細胞内成分を液胞などに輸送して分解する一連の過程であり、真核生物に広く保存されている。栄養飢餓の際の生体物質のリサイクル機能だけでなく、細胞内での異常なタンパク質の蓄積の抑制、発生と分化の調節、がんや神経変性疾患の抑制、老化や免疫応答、細胞死など、オートファジーのかかわる生命現象は多岐におよんでいる。

図2-1にオートファジーの進行の過程を示した。オートファジーでは、まず細胞質に隔離膜と呼ばれる膜構造が出現し、膜の伸張とともに細胞質成分を取り囲む。やがて、細胞質成分の一部を包みこんだ膜構造体オートファゴソームが多数作られる。次いで、オートファゴソームの外膜が 1 または液胞の膜と融合し、内容物が内部に放出されてオートファジックボディと呼ばれる小胞となり、最終的に小胞ごと分解酵素により分解されていく。

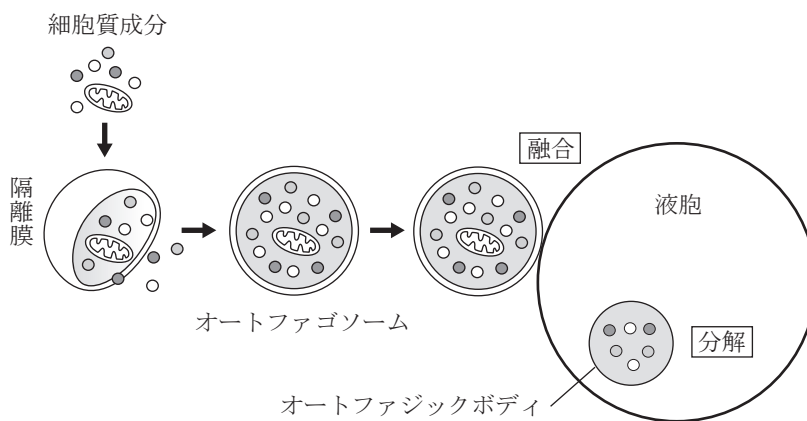


図2-1 オートファジーの進行の過程

出芽酵母を用いて、オートファジーを観察する次の実験1を行った。

実験1 出芽酵母では細胞の全体積の25%以上を液胞が占め、多数の加水分解酵素が内在する。加水分解酵素の活性は栄養状態により変動し、栄養飢餓により誘導される酵素も多い。液胞のタンパク質分解酵素を欠損した株は、富栄養状態においては顕著な表現型を示さなかった。しかし、栄養飢餓培地に移すと、液胞内に球形の構造体が認められた。なお、野生株では、栄養飢餓培地でも液胞内の球形の構造体の数がとても少なかった。

哺乳類の卵にも、オートファジーが非常に活性化する時期がある。マウスの受精卵の場合、受精後4時間以内にオートファジーが活性化する。そこで、この発生初期に起こるオートファジーの役割を調べるために、次の実験2を行った。

実験2 卵特異的なオートファジーの起こらないマウスを作製した。このマウスでは卵は正常に作られ、排卵、受精も正常に行われた。しかし、受精後にオートファジーによるタンパク質分解が起こらず、4~8細胞胚で発生が止まり、死亡した。

〔文2〕

ヘリコバクター・ピロリ (*H.pylori*) は、世界のおよそ 30 億人の胃に感染している病原細菌である。ピロリ菌の慢性感染は消化性潰瘍や萎縮性胃炎を経て、胃がんの発生に關与する。なかでもわが国は胃がんの最多発国であり、毎年 5 万人が胃がんにより死亡する。ピロリ菌の中には、遺伝子 X を保有するタイプがある。遺伝子 X はもともとピロリ菌にあったものではなく、外界からの DNA が一部のピロリ菌のゲノム内に挿入されたものと考えられている。X 陽性のピロリ菌の感染は胃がんの発症と強く相関することから、がんタンパク質 X の役割に注目が集まっている。

ピロリ菌はがんタンパク質 X を胃の上皮細胞に注入すると共に、毒素タンパク質 Y も分泌する。毒素タンパク質 Y が胃の上皮細胞表面の受容体と結合すると、細胞内の抗酸化物質を減少させ、過酸化水素などの活性酸素を蓄積する。これによりオートファジーが誘導され、がんタンパク質 X の分解が促される。したがって、オートファジーによりがんタンパク質 X が速やかに排除されるため、大部分の胃の上皮細胞内では長期的に安定して存在することはない。

一方、胃に⁽⁷⁾がん幹細胞が存在すると、その細胞においては、がんタンパク質 X が特異的に蓄積する。がん幹細胞は、がん細胞の供給と維持、浸潤や転移、再発を担う、非常に未分化な悪性細胞である。通常のがん細胞は、化学療法、放射線、分子標的薬などで死滅するが、がん幹細胞は抗がん剤・放射線治療に対する抵抗性を持つ。長期にわたる胃炎を背景に、ある程度分化した細胞が初期化されてがん幹細胞化することがある。がん幹細胞では、ピロリ菌由来の毒素タンパク質 Y による抗酸化物質の減少がみられず、活性酸素の蓄積も生じない。そのため、がんタンパク質 X を分解するオートファジーが起こらず、徐々に蓄積する。

では、がんタンパク質 X はどのように病原性を発揮するのだろうか。がんタンパク質 X は 1186 個のアミノ酸からなり、分子量はおよそ 13 万である。図 2 - 2 に示すように、機能上、N 末端側の 1 ~ 876 アミノ酸残基領域 (X-N 領域) と、C 末端側の 877 ~ 1186 アミノ酸残基領域 (X-C 領域) とに分けられる。

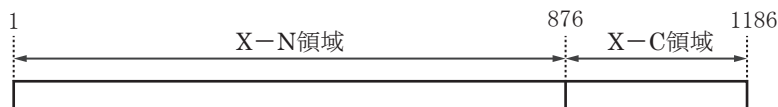


図 2 - 2 がんタンパク質 X の N 領域と C 領域

(1) X-C 領域は生理的条件下で決まった三次元構造をとらず、単独では変性状態にある。このように特定の立体構造を作らないタンパク質を天然変性タンパク質という。一方、X-N 領域中には、細胞膜への局在に必須なアミノ酸配列がある。胃の上皮細胞にがんタンパク質 X が侵入すると、この領域と細胞膜とが結合する。この結合性についてさらに調べるために、次の実験を行った。

実験 3 X-N 領域中に、アルギニン残基に富む部位がある。この部位のアルギニン残基をアラニン残基に置換した変異タンパク質 X を作成した。これを細胞内に注入したところ、細胞膜への結合性が失われた。なお、図 2 - 3 にアルギニンとアラニンの構造式を示す。

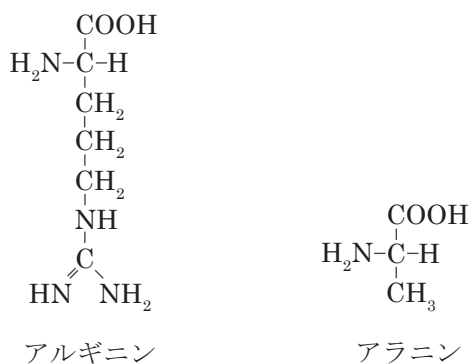


図 2 - 3 アルギニンとアラニンの構造式

がんタンパク質 X が細胞膜と結合すると、X-N 領域中の特定配列と X-C 領域中の特定配列が分子内で相互作用し、X-C 領域の天然変性構造に α -らせん構造の折りたたみが誘導され、投げ輪のような構造が形成される。この投げ輪構造により、がんタンパク質 X は多彩な標的タンパク質と効率よく相互作用するようになる。その結果、異常な細胞増殖シグナルを生成すると共に、胃の上皮細胞の極性(細胞が秩序正しく空間的に配置する性質)と 2 が破壊され、正常な胃粘膜上皮の構築を破綻させる。なお、2 はシート状の細胞層をつくり、物質の漏れを防ぐ細胞間接着装置の一つで、接着タンパク質としてカドヘリンではなくクローディングが関与する。

さらに、^(v)がんタンパク質 X は胃の上皮細胞のアポトーシスを抑制する。また、がんタンパク質 X はサイトカイン産生を促し、炎症を誘起するため、胃炎が発症する。

最近、^(vi)ピロリ菌によって細胞内に注入されたがんタンパク質 X が、エクソソームという小胞に包まれて細胞外へ分泌され、血液を介して離れた組織へ運ばれていることがわかった。エクソソームは、ほぼ全ての細胞が分泌する直径 30 ~ 200 nm 程度の小胞で、血液、尿、唾液、母乳、羊水などに含まれる。エクソソームには種々のタンパク質や脂質、RNA が含まれており、運搬先の細胞に機能的変化や生理的変化を引き起こしている。

〔問〕

I 文1について、以下の小問に答えよ。

A 文中の空欄1に入るもっとも適切な語を、以下から1つ選んで答えよ。

ミトコンドリア リボソーム 小胞体 リソソーム
ペルオキシソーム ゴルジ体

B 実験1について。飢餓状態にすると、液胞のタンパク質分解酵素欠損株では液胞内に球形の構造体が多数出現する。その理由を2行以内で説明せよ。

C 実験2において、オートファジー全般に障害のある変異体ではなく、卵特異的にオートファジーの生じないマウスを用いたのはなぜか。2行以内で説明せよ。

D 実験2の結果から、受精後にオートファジーが活性化されることには、どのような意義があると考えられるか。2行以内で説明せよ。

II 文2について、以下の小問に答えよ。

A 文中の空欄2に入るもっとも適切な語を、以下の選択肢から1つ選べ。

- (1) 密着結合(タイト・ジャンクション)
- (2) 接着結合(アドヘレンス・ジャンクション)
- (3) デスモソーム結合(接着斑)
- (4) ギャップ結合
- (5) ヘミデスモソーム結合(半接着斑)

B 下線部(ア)について。がん幹細胞は腫瘍組織中に存在する幹細胞である。一般に、幹細胞とはどのような特徴を示す細胞か。1行程度で説明せよ。

C 下線部(イ)について。これまでタンパク質は特定の立体構造を作り、その構造を基盤として特異的な機能を発揮するといわれてきた。ところが近年になって、がんタンパク質Xのように単独では立体構造をつくらない天然変性タンパク質が生体内に多数存在することが明らかになった。天然変性タンパク質が柔軟な構造をしていることを踏まえて、その利点として考えられることを1行程度で答えよ。

D 実験3について。がんタンパク質 X が活性を発揮する場は細胞膜である。細胞膜に局在するために、がんタンパク質 X にはどのような性質が必要か。図2-3を参考にして、1行以内で答えよ。

E 下線部(ウ)について。アポトーシスが抑制されることにより、どのような影響が生じるか。以下の文章中の空欄3および空欄4に当てはまるもっとも適切な語句を、下の選択肢から1つずつ選んで答えよ。

ピロリ菌自らの感染の足場となる細胞の を抑制して、感染を持続させる。また、胃の上皮細胞の入れ替わりを停滞させて、 の生じた細胞を維持させることで、がん化が導かれやすくなる。

選択肢：突然変異 細胞選別 増殖 融合 分裂
細胞骨格 細胞外消化 ^{はく}剥離 競合

F 下線部(エ)について。この知見から、ピロリ菌感染の影響に関してどのような可能性が考えられるか。1行程度で答えよ。

G 以下の選択肢(1)~(4)から、内容に誤りのあるものを1つ選び、番号で答えよ。

- (1) オートファジー阻害剤は、がんタンパク質 X の分解を有意に抑制する。
- (2) がんタンパク質 X を強制発現させた細胞に、オートファジー誘導剤を処理するとがんタンパク質 X の分解は促進される。
- (3) がんタンパク質 X を強制発現させた細胞では、オートファジーを誘導する。
- (4) 毒素タンパク質 Y の受容体をノックダウンした細胞では、オートファジーは誘導されずがんタンパク質 X が蓄積する。

【添付資料 2】

SAPIX YOZEMI GROUP

第 1 回

東大入試プレ問題

理科 - 生物

第 2 問

(解答と解説)

※オートファジー関連部分

(2016 年 7 月実施)

第2問 (オートファジー, ピロリ菌)

出題のねらい

東京工業大学の犬隅良典栄誉教授は細胞のオートファジー現象を解明し、ここ数年多くの賞を受賞している。そしてオートファジーをテーマとする問題が、難関大学の入試に登場するようになった。本問の実験1は、犬隅教授の研究をもとにしている。

また、文2で扱ったヘリコバクター・ピロリ(ピロリ菌)とがんタンパク質も、日本で精力的に研究されている分野である。胃炎や胃潰瘍の原因がピロリ菌であることを報告したロビン・ウォレン博士とバリー・マーシャル博士は、2005年度のノーベル医学生理学賞を受賞した。

本問では、がん幹細胞、初期化、エピジェネティクス、オートファジー、エクソソーム、アポトーシスなど、最新の生物学の概念や現象が複雑に入り組んだテーマを扱った。実験を含む長文を素早く読んで理解し、簡潔かつ的確に解答を作成できるかどうか重要となる。

- I A リード文に、オートファジックボディが「分解酵素により分解される」と書かれている。したがって、液胞の発達していない動物細胞では、リソソームが関与すると推定される。
- B 液胞のタンパク質分解酵素欠損株は、オートファゴソームを取り込んでも分解できない。そのため、液胞内にオートファジックボディの小胞が多数蓄積することになる。
- C オートファジーのかかわる生命現象として、栄養飢餓の際の生体物質のリサイクル機能、細胞内での異常なタンパク質の蓄積の抑制、発生と分化の調節、がんや神経変性疾患の抑制、老化や免疫応答、細胞死などが、リード文に挙げられている。

このように、オートファジーの関連する現象は多岐におよぶため、これらが完全に障害されると、正常な発育や交配そのものができなくなる可能性が高い。そのため、全般に障害のある変異体では、受精卵を得ること自体が困難になってしまう。

- D 受精後4時間以内にマウス胚でオートファジーが非常に活発になること、また、オートファジーが機能しないと卵割初期に致死となることから考察していく。

オートファジーには、栄養飢餓の際の生体物質のリサイクル機能があった。そして、哺乳類の卵には貯蔵養分が少ないことから、不要になった母性タンパク質を大規模に分解し、それをもとに胚性タンパク質を合成して卵割を進行させていると推測していけばよい。なお、本実験は、卵内に蓄えられていた母由来のタンパク質が、初期胚の栄養獲得には重要であることを示している。

- II A 細胞接着に関する説明に関しては、多くの教科書に掲載されている。入試問題での出題も珍しくなくなったので、しっかりと理解しておきたい。

④ リソソームと分解酵素

リソソーム是一群の加水分解酵素を保有し、細胞内消化を営む細胞小器官である。リソソームの酵素はいずれも酸性領域に最適 pH を持つため、リソソーム内は酸性環境が保たれている。

④ オートファジー関連の疾患

がんの他に、クローン病やパーキンソン病が有名。クローン病は、消化管に重篤な炎症または潰瘍を引き起こす。パーキンソン病は、ドーパミンを産生するニューロンの変性および脱落が生じ、運動障害を発症する。

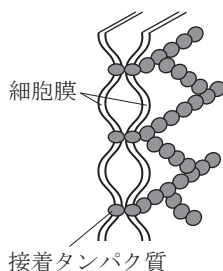
④ 胚性タンパク質

受精卵ゲノムに由来するタンパク質。卵内に存在する母性タンパク質から急速に入れ替わる。

〈細胞接着と細胞骨格〉

○密着結合

接着構造体がベルト状に細胞外周を取り囲み、隣り合う細胞の細胞膜を連続的にシート状につなぎあわせる。これにより細胞間の分子やイオンの漏洩を抑制する。接着タンパク質はクロロデインで、組織ごとに異なる27種類が知られている。

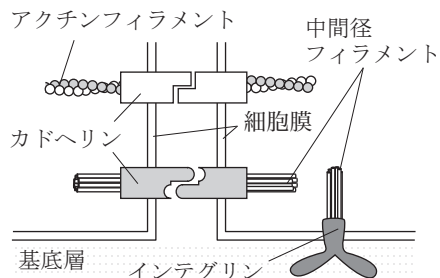


○接着結合

カドヘリンどうしが接着して、細胞間を接着する。カドヘリンの細胞内の端は細胞骨格アクチンフィラメントの束と結合する。

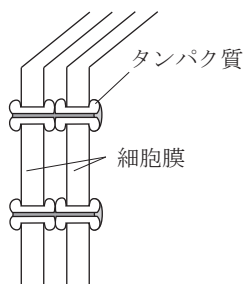
○デスモソーム結合

上皮細胞などに見られる接着装置。細胞膜の下には、やや厚くなった円板状の付着板があり、そこにループ状の上の中間径フィラメントが集まる。



○ギャップ結合

2～4 nmの隙間を隔てて細胞膜が接する。膜タンパク質コネキシン6個が集積してトンネル状の複合体コンネクソンを形成。コンネクソンどうしが連結し、細胞間でイオンや低分子物質の移動を可能にする。心筋細胞では、ギャップ結合を介してイオンが移動し、電気的な共役をしている。



○ヘミデスモソーム結合

細胞膜のすぐ内側にある円盤状タンパク質と、ここから突き出して細胞膜を貫通するインテグリンなどで構成。ボタン状タンパク質には細胞骨格ケラチンフィラメントがループ状に結合する。結合タンパク質が基底層と直接結合する。

☞細胞接着

細胞同士の結合を細胞接着(細胞間結合)という。細胞接着に関わるタンパク質には多くの種類があり、同じ種類のタンパク質をもつ細胞同士が結合する。

B 幹細胞の定義については☞幹細胞を参照してもらいたい。

がん幹細胞は、がん組織に存在して常にごん細胞を供給する。抗がん剤や放射線治療に対する抵抗性およびがんの再発や転移に関与する。

☞幹細胞

多分化能を維持したまま、自己複製することのできる細胞。

胃のがん幹細胞の由来として、分化した胃細胞のリプログラミングにより幹細胞の状態になったものと、胃粘膜にある正常な幹細胞ががん化したものとの2通りがある。

- C リード文中のタンパク質 X の投げ輪構造の説明にもあるように、天然変性タンパク質はその構造的な柔軟性から多種多様な分子と相互作用しうる。「単独では柔軟なものが、標的分子と結合することで折り畳まる」という分子認識機構は、従来の「鍵と鍵穴モデル」の概念に取まらない全く新しいものである。

解答のポイント

設問文「天然変性タンパク質が柔軟な構造をしていることを踏まえて、……答えよ」をもとに、リード文から、次の点を論述する。「天然変性構造に……折りたたみが誘導され、投げ輪のような構造が形成される。この投げ輪構造により、がんタンパク質 X は多彩な標的タンパク質と効率よく相互作用するようになる」

天然変性構造に標的分子が結合すると、立体構造が形成されて、別の標的分子とも結合できるようになる。このようにして、標的分子と結合しては立体構造を少しずつ柔軟に変化させ、最終的に多様な分子と相互作用をするのである。

- D 図2-3からも判断できるように、アルギニンは側鎖中にアミノ基(-NH₂)を含む塩基性アミノ酸であるため、生体内ではプラスに帯電する。一方、細胞膜はマイナスに帯電しているため、両者は結合する。

しかし、アルギニンを非極性アミノ酸のアラニンに置換すると、細胞膜と結合できなくなる。

- E 胃や小腸などの消化管粘膜上皮の細胞は、数日の寿命でアポトーシスにより「剝離」(脱落)する。この素早い細胞の入れ替えによって、粘膜上皮細胞に細菌やウイルスが感染しても、感染細胞を排除することで体を守ることができる。つまり、恒常性を維持するための重要な生体防御システムの一つといえる。

また、がんは「突然変異」の蓄積で生じるが、消化管の細胞のターンオーバー(入れ替わり)が速いことで、突然変異が蓄積しにくくなっている。

- F エクソソームは、感染性病原体や腫瘍に対する獲得免疫(適応免疫)応答の媒介、組織修復、神経伝達や病原性タンパク質の運搬などの役割を持つ。また、がんの転移や進行に関わっているとされる。

本来なら胃の粘膜にすみついているピロリ菌が、胃だけでなく、他の組織や器官にも悪影響を与える可能性があり、実際にそうした報告が多数寄せられている。

- G (3) 細胞にがんタンパク質 X だけを強制発現させても、オートファジーは誘導されない。オートファジーを誘導するのは、毒素タンパク質 Y である。

鍵と鍵穴モデル

タンパク質は固有の固い立体構造を持ち、それに適合する物質とだけ反応するというモデル。酵素と基質の関係を説明するのに、よく用いられた。

アミノ酸の種類

○酸性アミノ酸

アスパラギン酸・グルタミン酸

○塩基性アミノ酸

アルギニン・リシン・
ヒスチジン

アポトーシス

アポトーシスは炎症を誘発しない細胞死であり、加齢や障害を受けた細胞、感染細胞を組織から除去したり、動物の器官形成に関与したりする。アポトーシスによる細胞の除去と幹細胞の分化増殖によって、消化管粘膜上皮は絶えず新しい細胞に入れ替わっている。