

文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、
名古屋教育医療記者会、兵庫県教育委員会記者クラブ、
西播磨県民局記者クラブ、中播磨県民センター記者クラブ
と同時発表

令和5年4月21日

公立大学法人 名古屋市立大学
兵庫県公立大学法人 兵庫県立大学

ミトコンドリアの機能不全と関連する新しい細胞内現象の発見

～異所性代謝ストレスの発見～

Science Advances, 2023年4月14日公開（米国東部時間）

研究成果の概要

名古屋市立大学大学院理学研究科の中務邦雄准教授のグループは、兵庫県立大学大学院理学研究科の水島恒裕教授、京都大学大学院医学研究科の杉浦悠毅准教授、九州大学大学院農学研究院の松本俊介助教、名古屋大学大学院理学研究科の嘉村巧教授、福岡女子大学国際文理学部の奥村文彦准教授らのグループと共同で、ミトコンドリアの機能不全に関わる新しい細胞内現象を発見しました。

ミトコンドリアの機能不全などが原因で、ミトコンドリアのタンパク質が本来とは異なる場所に局在化すると、細胞全体の機能障害を引き起こすことが知られています。これは、誤局在したタンパク質が正しい立体構造を形成できず、生存に必須なタンパク質を巻き込んだ凝集体を形成してしまうからだと考えられています。しかし本研究において、ミトコンドリアのクエン酸合成酵素^{※1}に焦点を絞り解析したところ、サイトソルにおいても活性を有した立体構造を形成できるだけでなく、異所的な代謝反応を起こすことで、細胞内の代謝恒常性を破綻させることが分かりました。このような状況に対して細胞は、クエン酸合成酵素を分解、あるいはタンパク質の新規合成を抑制することで対処しますが、限度を超えると対処しきれず、細胞増殖が著しく阻害されることも見出しました。ミトコンドリアのタンパク質が誤局在する現象は、神経変性疾患^{※2}に関わるタンパク質の蓄積によっても引き起こされることが示唆されています。

本研究は、ミトコンドリアの機能不全に起因する細胞障害の新しい機序－異所性代謝ストレス－を明らかにしたものであり、変性神経細胞内でおこる現象の理解にもつながると期待されます。本論文は Science Advances 誌のオンライン版で2023年4月14日（米国東部時間）に公開されました。

本研究成果のポイント

- ・ サイトソルに誤局在したミトコンドリアのクエン酸合成酵素が、ユビキチンリガーゼ^{※3} SCF^{Ucc1} を介して分解されることを見出しました。
- ・ ユビキチンリガーゼ SCF^{Ucc1} によるクエン酸合成酵素の認識機構を X 線結晶構造解析により原子レベルの分解能で明らかにしました。

- クエン酸合成酵素がサイトゾルに誤局在して蓄積すると、異所的な代謝反応により、細胞全体の代謝恒常性を攪乱することを見出しました。異所的な代謝反応によるストレスを「異所性代謝ストレス (ectopic metabolic stress)」と名付けました。
- 異所性代謝ストレスに対して、細胞は翻訳抑制 (タンパク質の新規合成の抑制) を誘導することで防御することが分かりました。
- 異所性代謝ストレスとそれに対する細胞応答の解明は、ミトコンドリアの機能不全に起因する疾患を理解するための糸口になると期待されます。

背景

ミトコンドリアはエネルギー生産、脂肪酸のβ酸化、アミノ酸合成など、細胞内の物質代謝において中心的な役割を果たしています。ミトコンドリアは外膜と内膜の 2 枚の生体膜に囲まれたオルガネラで、好気性細菌が真核生物の祖先に細胞内共生して進化したと考えられています。その過程で、ミトコンドリアタンパク質の遺伝情報の大部分は核ゲノムに移行しました。したがって、ミトコンドリアタンパク質の多くは標的化シグナル (プレ配列) をもった前駆体としてサイトゾルで合成され、膜透過装置を介してミトコンドリア内へ取り込まれます。ミトコンドリアへのタンパク質取り込み反応はインポート反応と呼ばれています (図1)。

ミトコンドリアにおけるインポート反応のメカニズムは、単離ミトコンドリアと人工的に合成したタンパク質を用いた試験管内アッセイ系で解析されてきました。しかし近年、**オミックス解析**^{*4} や顕微鏡技術の向上により、試験管内では解析が難しかった実際の細胞内における前駆体タンパク質の挙動や、インポート反

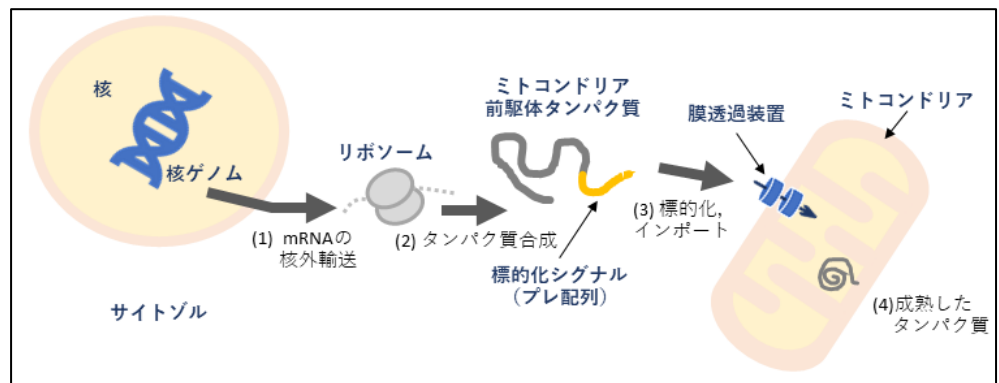


図1 : ミトコンドリアへのタンパク質の輸送と取り込み反応 (インポート反応)

(1) 核ゲノムから転写された mRNA はサイトゾルへ輸送される。(2) mRNA を鋳型にリボソームでタンパク質が合成される。(3) 合成された前駆体タンパク質はミトコンドリアへ輸送 (標的化) され、膜透過装置の孔を通じてミトコンドリア内へ取り込まれる (インポートされる)。(4) プレ配列が切断され成熟化する。

応が阻害されたときの細胞応答などの研究が進んでいます。たとえば、インポート反応の効率は、細胞の老化、活性酸素の蓄積、代謝系の攪乱などにより低下することがあります。また、神経変性疾患ではα-シヌクレイン、アミロイド-βなどの凝集体が観察されますが、これら凝集タンパク質がミトコンドリアの膜透過装置に沈着することでインポート反応を阻害することもあります。ミトコンドリアにインポートされずサイトゾルに誤局在した前駆体タンパク質は、ユビキチン・プロテアソーム系を軸とした品質管理機構により分解処理されることが分かってきました。そして過剰に蓄積すると、生存に必須な他のタンパク質を巻き込んだ凝集体を形成して、タンパク質の恒常性を破綻させることで、細胞全体の障害を引き起こすと考えられています。しかし、前駆体タンパク質の分解に関わる具体的な因子、細胞障害の詳しい機序は十分に解明されていません。ミトコンドリアの機能不全にともなう細胞内現象は、細胞の老化、神経変性疾患との関連から、世界的にも注目されています。

内容

本研究では、サイトソルにおける前駆体タンパク質の挙動を調べるために、**出芽酵母**^{※5}の**TCA 回路**^{※6}の代謝酵素であるクエン酸合成酵素に焦点を絞り、詳しく解析しました。最初に、クエン酸合成酵素のアミノ末端にあるプレ配列を欠損させ、強制的にサイトソルに誤局在させました。すると、誤局在したクエン酸合成酵素はユビキチンリガーゼ SCF^{Ucc1} (Skp1-Cdc53-F-box protein Ucc1) によって認識、ユビキチン化され、プロテアソームにより分解されることが分かりました。このユビキチンリガーゼは4種類のタンパク質からなる複合体であり、

基質タンパク質を認識するのはFボックスタンパク質の一種である Ucc1 です。Fボックスタンパク質は一般的に、基質タンパク質のなかにある数アミノ酸からなるペプチドモチーフを認識します。しかし、Ucc1 によるクエン酸合成酵素の認識機構をX線結晶構造解析で調べたところ、Ucc1 はペプチドモチーフではなく、クエン酸合成酵素の三次構造（三次元的な立体構造）が組みあがって初めて形成される分子表面を認識するという、ユニークな性質をもつことが分かりました。実際、クエン酸合成酵素の分子表面で Ucc1 と結合するアミノ酸は、一次構造（アミノ酸配列）では離れた位置にあることも分かりました。また、Ucc1 によって認識されるクエン酸合成酵素の構造は、活性型のクエン酸合成酵素の構造とも極めて類似していました。すなわち、Ucc1 は立体構造が組みあがって活性状態にあるクエン酸合成酵素を認識するものと考えられました（図2）。

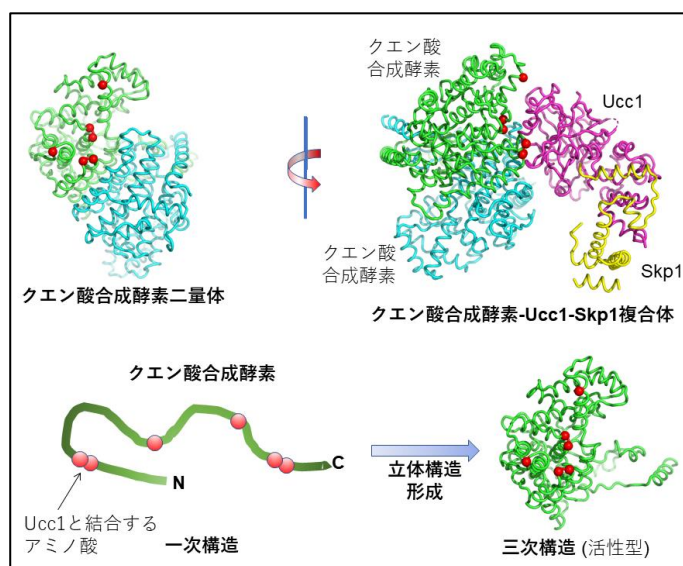


図2：Ucc1によるクエン酸合成酵素の認識機構

(上図) クエン酸合成酵素は二量体を形成しており、片方の分子(緑)がUcc1(マゼンタ)により認識される。クエン酸合成酵素のためUcc1と結合するアミノ酸を赤丸で示した。

(下図) クエン酸合成酵素において、Ucc1と結合するアミノ酸は、一次構造では離れた場所にある。つまり、クエン酸合成酵素は、活性型の三次構造を形成して初めて、Ucc1により認識されると考えられる。

プレ配列をもったミトコンドリアタンパク質の前駆体は、サイトソルで合成された後、ミトコンドリアの外膜と内膜にある膜透過装置の狭い孔を通じてミトコンドリア内に取り込まれます。したがって、前駆体タンパク質はサイトソルにおいて、孔を透過するために構造がほどけた状態に保たれていると考えられています。しかし、ミトコンドリアのインポート反応を阻害し、プレ配列をもったクエン酸合成酵素を蓄積させると、それもまた SCF^{Ucc1} を介して分解されることが分かりました。構造解析の結果を合わせると、プレ配列をもったクエン酸合成酵素は、少なくともインポート反応が阻害されサイトソルに留められた状況においては、活性型の立体構造を形成していることが示唆されました。

クエン酸合成酵素がサイトソルに誤局在して過剰に蓄積すると、細胞増殖を阻害することも分かりました。その理由を調べたところ、凝集体を形成することで細胞増殖を阻害しているわけではなく、本来ミトコンドリアで合成するはずのクエン酸をサイトソルで異所的に合成してしまうことが原因と分かりました。このとき、細胞全体の代謝恒常性が大きく攪乱されていることも分かりました。我々はこの状態を「異所性代謝ストレス」と呼ぶことにしました。さらに、細胞は異所性代謝ストレスに対する防御機構として、翻訳抑制を誘導することも分かりました。

以上の結果から、ミトコンドリアの外に誤って蓄積した代謝酵素は、従来考えられていたように凝集体を形成してタンパク質恒常性を破綻させることにより細胞機能を障害するだけではなく、異所的な代謝反応により代謝恒常性を破綻させることで、細胞機能を障害しうることが分かりました（図3）。

今後の展開

本研究ではクエン酸合成酵素に着目しましたが、ミトコンドリアのインポート阻害により異所性代謝ストレスを引き起こす代謝酵素がどの程度あるのか、一般性を検証する必要があります。また、異所性代謝ストレスに対する細胞応答がどのように細胞機能を防御するのか、そのメカニズムも今後の検討課題です。多細胞生物において、ミトコンドリアのインポート効率と寿命の関連が報告されています。異所性代謝ストレスに対する細胞応答は、多細胞生物の発生、分化、老化という生理的な過程において、何らかの役割をもっている可能性も考えられます。代謝の要であるミトコンドリアの機能不全は、神経変性など様々な疾患と関連しています。本成果は、これら疾患の発症機序の理解や新規治療戦略の開発にもつながると期待されます。

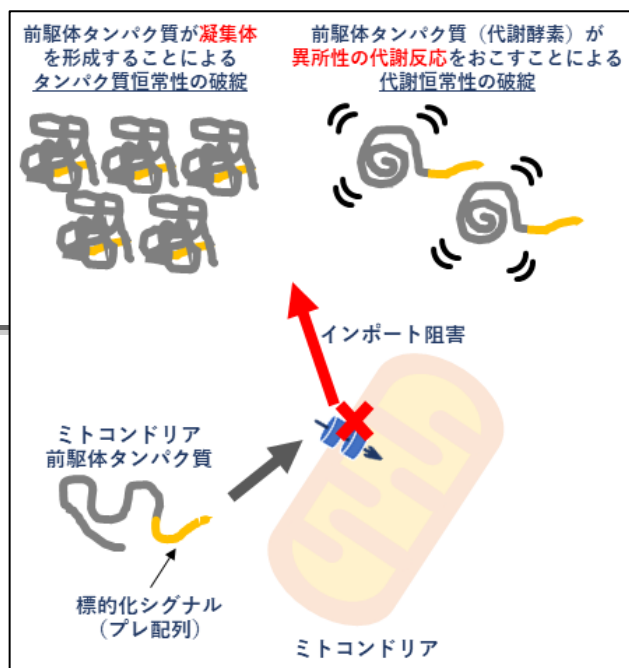


図3：サイトゾルに誤局在したミトコンドリア代謝酵素による異所性の代謝
 サイトゾルに誤局在したミトコンドリアタンパク質の前駆体は、凝集体を形成することで、タンパク質恒常性を破綻させ、細胞障害を引き起こすと考えられている。本研究では、ミトコンドリア代謝酵素の前駆体が、サイトゾルで異所的に反応することで、代謝恒常性を破綻させ、細胞障害を引き起こす新しい経路を見出した。

用語解説

※1 クエン酸合成酵素

アセチル CoA とオキサロ酢酸からクエン酸を合成する酵素で、ほぼ全ての生物に見られる。TCA 回路の第一段階の速度を調整する。

※2 神経変性疾患

神経細胞のなかで、脳や脊髄の特定の神経細胞群が徐々に変性し、機能が失われていく病気。アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症などを含む。

※3 ユビキチンリガーゼ

ユビキチンは 76 個のアミノ酸からなるタンパク質であり、ユビキチンリガーゼはユビキチンを基質タンパク質に共有結合させる酵素。

※4 オミックス解析

生体を構成する様々な分子を網羅的に調べる解析。

※5 出芽酵母

生物学の発展に重要な役割を担ってきた単細胞真核生物。出芽酵母とヒトで外見は大きく異なるが、生命現象の基本的な分子機構には多くの共通性が見られる。人類との関わりも深く、数千年も昔からパンやビールの製造に用いられてきた。

※6 TCA 回路 (tricarboxylic acid cycle)

クレブス回路またはクエン酸回路 (Citric Acid Cycle) と呼ばれ、ミトコンドリアのマトリックスで行われる環状の代謝経路。好氣的代謝に関わる最も重要な生化学反応回路。

原著論文

本研究は *Science Advances* 誌のオンライン版で 2023 年 4 月 14 日 (米国東部時間) に公開されました。

タイトル

Defective import of mitochondrial metabolic enzyme elicits ectopic metabolic stress

タイトル (日本語訳)

ミトコンドリア代謝酵素のインポート不全是異所性代謝ストレスを引き起こす

著者

Kazuya Nishio[†] (1), Tomoyuki Kawarasaki[†] (2), Yuki Sugiura[†] (3), Shunsuke Matsumoto (4), Ayano Konoshima (2), Yuki Takano (2), Mayuko Hayashi (2), Fumihiko Okumura (5), Takumi Kamura* (6), Tsunehiro Mizushima* (1), and Kunio Nakatsukasa* (2)

[†]: These authors equally contributed to this work.

*: Co-corresponding authors

著者 (日本語表記)

西尾和也[†] (1), 川原崎智之[†] (2), 杉浦悠毅[†] (3), 松本俊介 (4), 此島彩乃 (2), 高野佑基 (2), 林万柚子 (2), 奥村文彦 (5), 嘉村巧* (6), 水島恒裕* (1), 中務邦雄* (2)

著者所属

(1) 兵庫県立大学大学院理学研究科, (2) 名古屋市立大学大学院理学研究科, (3) 京都大学大学院医学研究科, 慶應義塾大学医学部, (4) 九州大学大学院農学研究院, (5) 福岡女子大学国際文理学部, (6) 名古屋大学大学院理学研究科

DOI

10.1126/sciadv.adf19560

研究支援

本研究は、JSPS 基盤 B (19H02923, 20H03198), 挑戦的研究 (萌芽) (18K19306), 新学術領域研究 (24112009), AMED-CREST (JP20zf0127003, JP19gm1210009), 次世代研究者挑戦的研究プログラム (JPMJSP2130), 豊秋奨学会, および東レ科学技術研究助成の支援を受けて行われました。なお, 本研究にご協力いただいた皆様には深謝いたします。

お問い合わせ先

研究内容に関する問い合わせ

名古屋市立大学 大学院理学研究科 准教授 中務邦雄
住所 467-8501 名古屋市瑞穂区瑞穂町山の畑 1
E-mail : nakatsukasa@nsc.nagoya-cu.ac.jp

報道に関する問い合わせ

名古屋市立大学 総務部広報室広報係
名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1
TEL : 052-853-8328 FAX : 052-853-0551
E-mail : ncu_public@sec.nagoya-cu.ac.jp

兵庫県立大学 播磨理学キャンパス経営部 総務課
兵庫県赤穂郡上郡町光都 3 丁目 2-1
TEL : 0791-58-0101 FAX : 0791-58-0131
E-mail : soumu_harima@ofc.u-hyogo.ac.jp