

ミトコンドリア由来ホスファチジルエタノールアミンによる ミトコンドリア機能，細胞増殖制御

宮田 暖

1. はじめに

ミトコンドリアは，好気呼吸によるエネルギー産生のみならず，アポトーシス，免疫応答，細胞分化など，種々の細胞機能の制御にも重要な役割を有するオルガネラである。また，ミトコンドリアは，生体膜の主要構成成分であるリン脂質の代謝においても重要な役割を担っている。たとえば，ミトコンドリア内膜においてリン脂質カルジオリピン (CL) およびホスファチジルエタノールアミン (PE) の合成が行われている。本稿では，ミトコンドリアリン脂質の合成機構および生理作用について，筆者らが出芽酵母を用いた研究から得た知見を中心に紹介したい。

2. ミトコンドリアにおけるリン脂質合成と輸送

1) 細胞内リン脂質の合成と輸送

リン脂質は，細胞膜やオルガネラ膜を構成する生体膜の主要構成成分であり，シグナル伝達，オルガネラ動態，オートファジーなど，さまざまな細胞機能の制御にも関与している。リン脂質は，グリセロール骨格を有するグリセロリン脂質と，スフィンゴシン骨格を有するスフィンゴリン脂質に区別される。本稿では，主にグリセロリン脂質について取り扱うため，以下グリセロリン脂質をリン脂質と呼称する。リン脂質は，グリセロールに2本のアシル基とリン酸基および親水性の頭部から構成されており，頭部の構造から主にホスファチジルコリン (PC)，ホスファチジルイノシトール (PI)，ホスファチジルセリン (PS)，ホスファチジン酸 (PA)，PE，CLの六つに区別される。これら

リン脂質は，小胞体やミトコンドリアなど，特定のオルガネラで合成され，その後細胞全体に輸送，分配される (図1)。細胞内リン脂質輸送には，生体膜どうしが直接接触する膜接触部位において機能する種々の脂質輸送タンパク質が重要な役割を担っていることが近年次々と明らかにされている。ミトコンドリア内膜においては，CLとPEが，それぞれPA，PSから合成される。一方，PA，PSはミトコンドリアにおいて合成されないため，CL，PE合成のためには，PA，PSは小胞体からミトコンドリア外膜を経てミトコンドリア内膜にまで輸送されなくてはならない。ミトコンドリアにおいて合成されたPEの一部は，小胞体に輸送され，PC合成に用いられる (図1)。また，PEは，ミトコンドリア内膜に局在するPE合成酵素Psd1に加え，エンドソームに局在するPE合成酵素Psd2，小胞体におけるエタノールアミンを原料としたケネディー経路を介しても合成される¹⁻³⁾。さらに近年，出芽酵母においてPsd1はミトコンドリア内膜だけでなく，一部が小胞体にも局在し，ミトコンドリアへのPS輸送を介さずにPEを合成することが報告された (図1)⁴⁾。

2) 小胞体-ミトコンドリア間リン脂質輸送

出芽酵母において小胞体-ミトコンドリア間リン脂質輸送は，主にER-mitochondria encounter structure (ERMES) と呼ばれる膜接触部位を介して行われている⁵⁾。ERMESは，小胞体膜タンパク質であるMmm1，ミトコンドリア外膜タンパク質であるMdm10，Mdm34，膜貫通ドメインを持たないMdm12の四つのコアサブユニットで構成される複合体であり，Mdm12がMmm1，Mdm34と結合することで小胞体膜とミトコンドリア外膜を繋留している⁶⁾。これらサブユニットのうち，Mmm1，Mdm12，Mdm34は脂質結合ドメインであるsynaptotagmin-like mitochondrial-lipid-binding proteins (SMP) ドメインを有している。また，Mdm12-Mmm1複合体は試験管内においてリン脂質輸送活性を示すことから，ERMES複合体は，小胞体-ミトコンドリア間において直接リン脂質輸送を媒介していると考えられる (図2)⁷⁾。一方，哺乳動物には，ERMES複合体に相当するものは存在せず，他の因子を介して膜接触部位形成，リン脂質輸送が行われていると考えられている。

国立感染症研究所細胞化学部 (〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1)

Regulation of mitochondrial function and cell proliferation via mitochondria-derived phosphatidylethanolamine

Non Miyata (Department of Biochemistry and Cell Biology, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan)

本論文の図版はモノクロ (冊子版) およびカラー (電子版) で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2023.950379

© 2023 公益社団法人日本生化学会

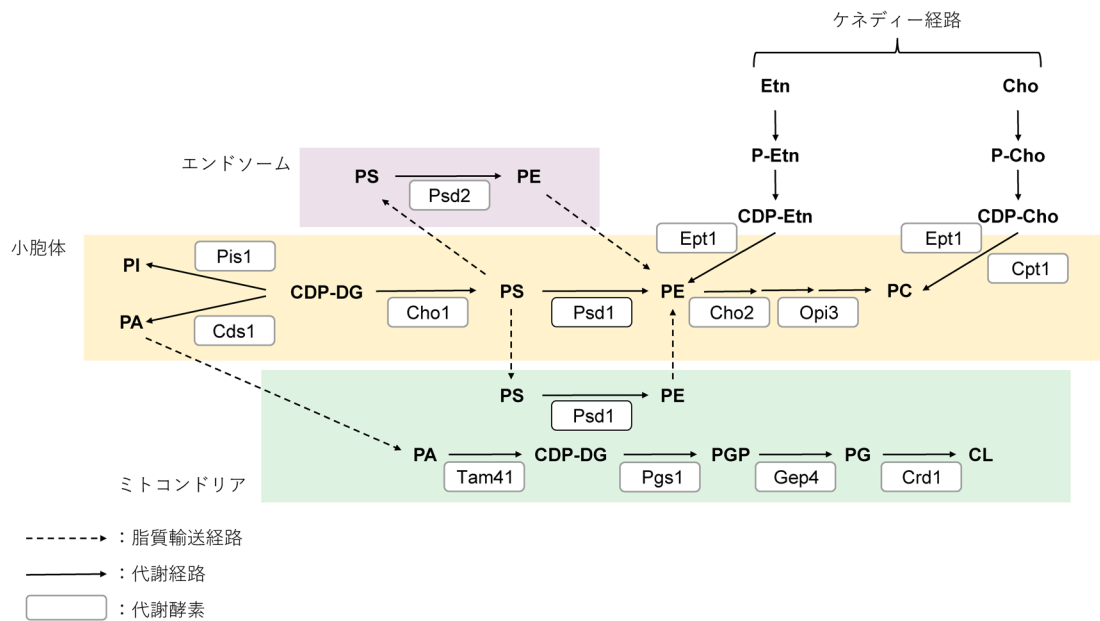


図1 出芽酵母におけるリン脂質代謝，輸送経路

PC：ホスファチジルコリン，PE：ホスファチジルエタノールアミン，PI：ホスファチジルイノシトール，PS：ホスファチジルセリン，PA：ホスファチジン酸，CL：カルジオリピン，CDP-DG：CDP-ジアシルグリセロール，PGP：ホスファチジルグリセロールリン酸，PG：ホスファチジルグリセロール，Etn：エタノールアミン，P-Etn：ホスホリルエタノールアミン，CDP-Etn：CDP-エタノールアミン，Cho：コリン，P-Cho：ホスホリルコリン，CDP-Cho：CDP-コリン。

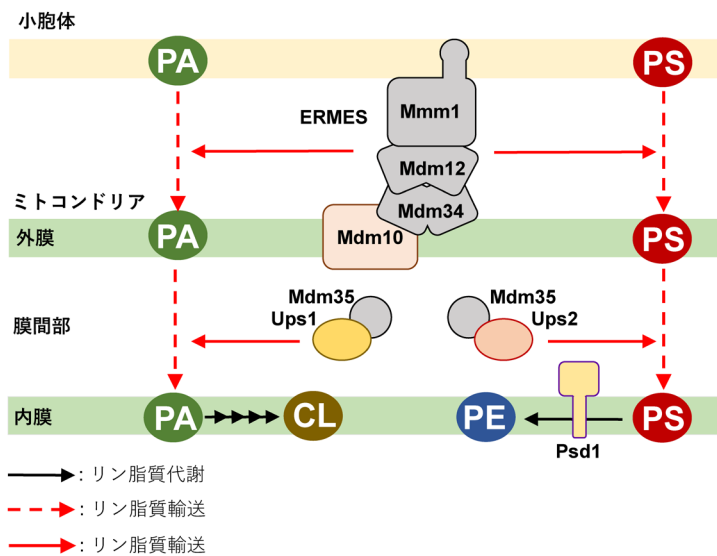


図2 出芽酵母における小胞体-ミトコンドリア外膜間，ミトコンドリア外膜-内膜間リン脂質輸送系

CL, PEはミトコンドリア内膜において小胞体から輸送されたPA, PSからそれぞれ合成される。PA, PSの小胞体-ミトコンドリア外膜間の輸送は，膜接触部位を形成するERMES複合体によって媒介される。PA, PSのミトコンドリア外膜-内膜間の輸送は，それぞれUps1-Mdm35, Ups2-Mdm35によって媒介される。

3) ミトコンドリア外膜-内膜間リン脂質輸送

ミトコンドリア外膜-内膜間において機能するリン脂質輸送体として，Ups1-Mdm35複合体（哺乳動物Preliid1-Triap1），Ups2-Mdm35複合体（哺乳動物Preliid3b-Triap1）が知られている。Ups1-Mdm35はPAの，Ups2-Mdm35はPSの

ミトコンドリア外膜-内膜間輸送を媒介し，それぞれCL, PEの合成に寄与している（図2）^{8,9)}。これらリン脂質輸送体は酵母からヒトまで種間で高度に保存されている。また，筆者らは出芽酵母においてUps2-Mdm35依存的なミトコンドリアPE合成が，栄養状態に応じて制御されて

いることを見いだした。酵母がグルコース存在下で生育している際、Ups2-Mdm35はわずかにしかPE合成に寄与していない。一方、グルコース枯渇時においてUps2-Mdm35は活性化し、ミトコンドリアPE合成を強く促進する⁹⁾。

3. グルコース枯渇時の出芽酵母におけるエネルギー代謝と増殖の制御

1) グルコース枯渇時の出芽酵母におけるエネルギー代謝遷移

出芽酵母は、グルコースを炭素源として生育する際、好気的環境にあっても主に解糖系だけでエネルギーを産生し、速やかに増殖する。このとき、ミトコンドリア呼吸によるエネルギー産生は抑制されている。このような代謝様式は、がん細胞にみられるワールブルク効果に類似している¹⁰⁾。グルコースが枯渇すると、出芽酵母はダイオキシックシフトと呼ばれる代謝遷移を経て、発酵によって産生されたエタノールを炭素源としたミトコンドリア呼吸によってエネルギーを産生し、ゆっくりと増殖する¹¹⁾。

2) グルコース枯渇時における出芽酵母の静止期 (G0) 移行

静止期 (G0) は種を超えて保存された細胞増殖の可逆的な休止状態である。出芽酵母は、グルコース枯渇時において一部の細胞が細胞周期を停止し、静止期へと移行することが知られている。静止期にある酵母は、G1期様の細胞周期での増殖停止、高ストレス耐性、長寿命を示し、適した栄養環境に置かれると増殖を再開する¹²⁾。同一の遺伝的背景を持つ酵母が、同一の生育環境下において、なぜ静止期へと移行する細胞と、しない細胞に分化するのか、その運制御機構はいまだ完全には理解されていない。

3) ミトコンドリアPEによるエネルギー代謝、静止期移行制御

筆者らは、ごく最近、Ups2の欠損によるミトコンドリアPE合成の低下が、グルコース枯渇時の出芽酵母において、ミトコンドリア呼吸によるATP産生および静止期移行を促進することを見いだした¹³⁾。このことから、ミトコンドリアPEはグルコース枯渇時の出芽酵母において、ミトコンドリアエネルギー代謝、静止期移行を抑制する作用を

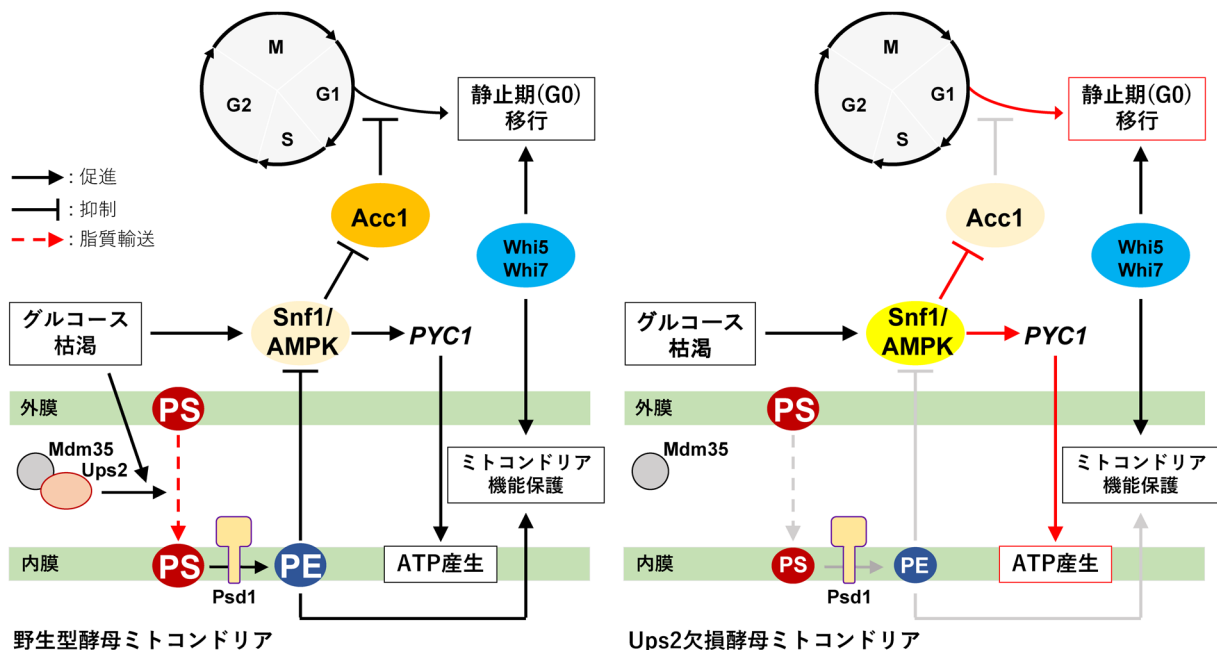


図3 ミトコンドリアPEによるミトコンドリアエネルギー代謝と静止期移行の制御 (Miyata N. *et al.* FASEB J. 2022 から改変)

グルコース枯渇時において、Snf1/AMPKはリン酸化され、活性化する。また、グルコースの枯渇は、Ups2-Mdm35 依存的なミトコンドリアPE合成を活性化させる⁹⁾。ミトコンドリアPEは、Snf1/AMPKの活性を抑制する作用を有しており、Ups2欠損によるミトコンドリアPE合成の低下は、グルコース枯渇時におけるSnf1/AMPKの過剰活性化を引き起こす。過剰活性化したSnf1/AMPKは、ピルビン酸カルボキシラーゼをコードするPYC1の発現を増加させることでミトコンドリアにおけるATP産生を促進し、アセチル-CoAカルボキシラーゼ、Acc1の活性を抑制することで酵母の静止期移行を促進する。また、細胞の静止期移行に関与する細胞周期制御因子、Whi5、Whi7およびミトコンドリアPEは、ともにミトコンドリア機能を保護する作用を有しており、Ups2Whi5Whi7三重欠損酵母は、生育低下とミトコンドリア呼吸不全を示す。

有すると考えられる。RNAシーケンスによるトランスクリプトーム解析の結果、グルコース枯渇時のUps2欠損酵母において、クエン酸回路や糖新生に関与するものを含む、35個の遺伝子の発現が野生型酵母に比べて増加していた。また、これらの遺伝子の多くが細胞内エネルギーセンサー、AMP-activated protein kinase (AMPK) の酵母ホモログ、Snf1を介したシグナル経路の下流で転写制御されているものであった。これと一致して、Ups2欠損酵母およびPsd1欠損酵母では、グルコース枯渇時においてSnf1/AMPKの過剰活性化が観察された(図3)。さらに、Snf1/AMPKの活性化に関与するキナーゼ、Sak1の欠損によってSnf1/AMPKの活性を抑制すると、グルコース枯渇時のUps2欠損酵母においてみられた、ミトコンドリア呼吸によるATP産生、静止期移行の促進がみられなくなった。これらのことからミトコンドリアPEは、Snf1/AMPKの活性を抑制することで、グルコース枯渇時のミトコンドリア呼吸によるATP産生、静止期への移行を低下させると考えられる(図3)。

4) ミトコンドリアPE-Snf1/AMPKはピルビン酸カルボキシラーゼを介してミトコンドリアエネルギー代謝を、アセチル-CoAカルボキシラーゼを介して静止期移行を制御する

上述のRNAシーケンスによって明らかになった、Ups2欠損によって発現が上昇する遺伝子には、ピルビン酸をオキサロ酢酸に変換し、クエン酸回路に供給する酵素、ピルビン酸カルボキシラーゼをコードする*PYCI*が含まれていた。出芽酵母において*PYCI*の発現を人為的に増加させると、グルコース枯渇時のミトコンドリア呼吸によるATP産生が促進した。また、脂肪酸合成経路の律速酵素であるアセチル-CoAカルボキシラーゼ(*Acc1*)は、Snf1/AMPKによってリン酸化され、活性が抑制される。出芽酵母において*ACC1*を発現抑制すると、グルコース枯渇時の静止期への移行が強く促進された。これらのことより、Ups2欠損によってグルコース枯渇時に過剰活性化したSnf1/AMPKは、*PYCI*の発現を上昇させることでミトコンドリア呼吸によるATP産生を、*Acc1*の活性を低下させることで静止期への移行を促進すると考えられる(図3)。

4. ミトコンドリアPEと細胞周期制御因子によるミトコンドリア機能保護

1) Ups2Whi5Whi7三重欠損は出芽酵母において生育低下とミトコンドリア呼吸不全を引き起こす

出芽酵母における細胞周期制御因子Whi5、Whi7は、ヒトにおけるがん抑制因子pRbの機能的オルソログであり、G1期→S期進行の抑制および静止期への移行、脱出の制御に関与している¹⁴⁾。興味深いことに、Ups2欠損酵母、Whi5Whi7

二重欠損酵母は正常な生育を示すのに対し、Ups2Whi5Whi7三重欠損酵母は、強い生育速度低下とミトコンドリア呼吸不全を示した¹³⁾。このことより、Ups2-Mdm35依存的に合成されるミトコンドリアPEおよび細胞周期制御因子Whi5、Whi7は、ともにミトコンドリア機能を保護する作用を有することが示唆された(図3)。

2) Ups2ホモログPreli3bの発現抑制はpRb欠損性ヒト乳がん細胞の増殖を抑制する

トリプルネガティブ(エストロゲン受容体陰性、プロゲステロン受容体陰性、HER2陰性)乳がん(TNBC)は、現状有効な分子標的薬がなく、予後が不良である。TNBCの40%以上のケースにおいて、pRbの発現の消失がみられる¹⁵⁾。筆者らは、pRb欠損性のTNBC細胞であるMDA-MB-468において、Ups2のヒトホモログであるPreli3bを発現抑制すると、増殖が抑制されることを見いだした。一方、pRbを発現するTNBC細胞であるMDA-MB-453は、MDA-MB-468に比べてPreli3b発現抑制に対して抵抗性を示した。また、MDA-MB-453においてpRbを同時に発現抑制すると、Preli3b発現抑制に対する感受性を増大させた¹³⁾。これらのことより、Preli3b-Triap1を介したミトコンドリアPE合成系路は、pRb欠損性のTNBCに対する新規抗がん剤開発の標的となりうる。

5. おわりに

細胞の静止期移行の制御には、哺乳動物においては栄養シグナルに加え、成長因子や細胞間接着などに由来する複雑なシグナル経路が介在するのに対し、出芽酵母においては単純に栄養シグナルによって制御される。このため、出芽酵母は静止期移行制御機構を解析するにあたって非常に有用なモデルである。筆者らは、ミトコンドリアPEが、グルコース枯渇時の出芽酵母において、Snf1/AMPKの活性を抑制することで、ミトコンドリアエネルギー代謝および静止期移行を低下させる作用を有することを見いだした。また、ミトコンドリアPEは、pRb欠損性ヒトTNBC細胞の増殖にも大きく影響していた。細胞の静止期移行制御は、正常な個体発生や、損傷した組織の再生などに重要なプロセスであり、がん幹細胞の抗がん剤耐性や、病原性酵母の抗生剤耐性にも深く関連している。よって、ミトコンドリアPEの合成制御機構と生理作用の解明は、細胞分化制御法開発、がん治療法開発、抗生剤開発につながるものと期待される。

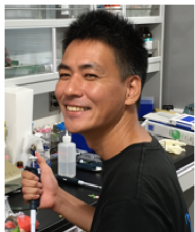
文 献

- 1) Kuchler, K., Daum, G., & Paltauf, F. (1986) Subcellular and submitochondrial localization of phospholipid-synthesizing

- enzymes in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.*, **165**, 901–910.
- 2) Trotter, P.J. & Voelker, D.R. (1995) Identification of a non-mitochondrial phosphatidylserine decarboxylase activity (PSD2) in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.*, **270**, 6062–6070.
 - 3) Kennedy, E.P. (1956) The synthesis of cytidine diphosphate choline, cytidine diphosphate ethanolamine, and related compounds. *J. Biol. Chem.*, **222**, 185–191.
 - 4) Friedman, J.R., Kannan, M., Toulmay, A., Jan, C.H., Weissman, J.S., Prinz, W.A., & Nunnari, J. (2018) Lipid homeostasis is maintained by dual targeting of the mitochondrial pE biosynthesis enzyme to the eR. *Dev. Cell*, **44**, 261–270.e6.
 - 5) Kommann, B., Currie, E., Collins, S.R., Schuldiner, M., Nunnari, J., Weissman, J.S., & Walter, P. (2009) An ER-mitochondria tethering complex revealed by a synthetic biology screen. *Science*, **325**, 477–481.
 - 6) AhYoung, A.P., Jiang, J., Zhang, J., Khoi Dang, X., Loo, J.A., Zhou, Z.H., & Egea, P.F. (2015) Conserved SMP domains of the ERMES complex bind phospholipids and mediate tether assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, E3179–E3188.
 - 7) Kawano, S., Tamura, Y., Kojima, R., Bala, S., Asai, E., Michel, A.H., Kornmann, B., Riezman, I., Riezman, H., Sakae, Y., et al. (2018) Structure-function insights into direct lipid transfer between membranes by Mmm1–Mdm12 of ERMES. *J. Cell Biol.*, **217**, 959–974.
 - 8) Watanabe, Y., Tamura, Y., Kawano, S., & Endo, T. (2015) Structural and mechanistic insights into phospholipid transfer by Ups1–Mdm35 in mitochondria. *Nat. Commun.*, **6**, 7922.
 - 9) Miyata, N., Watanabe, Y., Tamura, Y., Endo, T., & Kuge, O. (2016) Phosphatidylserine transport by Ups2–Mdm35 in respiration-active mitochondria. *J. Cell Biol.*, **214**, 77–88.
 - 10) De Deken, R.H. (1966) The Crabtree effect: A regulatory system in yeast. *J. Gen. Microbiol.*, **44**, 149–156.
 - 11) Ohlmeier, S., Kastaniotis, A.J., Hiltunen, J.K., & Bergmann, U. (2004) The yeast mitochondrial proteome, a study of fermentative and respiratory growth. *J. Biol. Chem.*, **279**, 3956–3979.
 - 12) Allen, C., Büttner, S., Aragon, A.D., Thomas, J.A., Meirelles, O., Jaetao, J.E., Benn, D., Ruby, S.W., Veenhuis, M., Madeo, F., et al. (2006) Isolation of quiescent and nonquiescent cells from yeast stationary-phase cultures. *J. Cell Biol.*, **174**, 89–100.
 - 13) Miyata, N., Ito, T., Nakashima, M., Fujii, S., & Kuge, O. (2022) Mitochondrial phosphatidylethanolamine synthesis affects mitochondrial energy metabolism and quiescence entry through attenuation of Snf1/AMPK signaling in yeast. *FASEB J.*, **36**, e22355.
 - 14) Miles, S. & Breeden, L.L. (2022) Whi7/Srl3 polymorphisms reveal its role in cell size and quiescence. *MicroPubl. Biol.*, **2022**, 2022.
 - 15) Treré, D., Brighenti, E., Donati, G., Ceccarelli, C., Santini, D., Taffurelli, M., Montanaro, L., & Derenzini, M. (2009) High prevalence of retinoblastoma protein loss in triple-negative breast cancers and its association with a good prognosis in patients treated with adjuvant chemotherapy. *Ann. Oncol.*, **20**, 1818–1823.

著者寸描

●宮田 暖 (みやた のん)



国立感染症研究所細胞化学部第四室長。
博士 (理学)

■略歴 2002年九州大学理学部生物学科卒業。07年同大学院理学府生物科学専攻博士課程修了。07年三菱化学生命科学研究特別研究員。08年九州大学大学院理学研究院生物科学部門学術研究員。10年カリフォルニア大学ロサンゼルス校博士研究員。14年九州大学大学院理学研究院

化学部門助教。23年より現職。

■研究テーマと抱負 リン脂質がオルガネラ機能、細胞機能にどのように作用するかを明らかにしたい。

■趣味 散歩、映画鑑賞。