

ミトコンドリアのダイナミクスを制御する新規因子の解明

末永みどり

Study for the Novel Factors Regulating Mitochondrial Dynamics

Midori SUENAGA

Department of Medical Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Science, Tokushima Bunri University,
180 Nishihama-Houji Yamashiro-cho, Tokushima 770-8514, Japan

(Received May 28, 2010)

Mitochondria are highly dynamic organelles and undergo continuous fission and fusion events in physiological situations. It was observed that mitochondrial morphology and number are changed in living cells during cellular differentiation, development, and under pathological conditions including muscle dystrophy, cardiomyopathy, and cancer. Defined sets of proteins are known to mediate mitochondrial fission and fusion and to constitute regulatory components controlling mitochondrial dynamics. In the present study, we first investigated mitochondrial dynamics during the cell cycle progression, and found that mitochondria exist as filamentous network structures throughout the cell cycle progression, changing their morphology, distribution, and abundance. In addition, we found that a mouse homolog of human DNA polymerase delta interacting protein 38, referred to as Mitogenin I, and mitochondrial single-stranded DNA-binding protein (mtSSB), identified as upregulated genes in the heart of mice with juvenile visceral steatosis, play a role in the regulation of mitochondrial morphology.

Key words—mitochondria; morphology; fission/fusion; dynamics; disease; cell cycle

1. はじめに

ミトコンドリアは、細胞内エネルギー代謝や様々な生体成分の代謝、細胞老化やアポトーシスの制御においても重要な役割を果たすだけでなく、非常に動的なオルガネラであることが最近の研究で明らかになっている。ミトコンドリアは生細胞内では主に網状体として存在しているが、絶えず分裂や融合を繰り返しその形態を大きく変化させている。また、ミトコンドリアの形態や量は、細胞周期やアポトーシスの誘導時、様々な神経疾患等で著しく変動することが明らかになっている。このようなミトコンドリアの融合や分裂を制御する因子が次々と発見されており、これらの因子が様々な疾患に大きく関わっていることが明らかになっている。本総説では、ミトコンドリアの融合・分裂による形態変化とその制御因子について、筆者らの研究を含めて概説する。

2. 細胞周期によるミトコンドリアの形態及び細胞内局在の変化¹⁾

ミトコンドリアは非常に動的なオルガネラである。筆者らは、Double-thymidine block 法で同調培養したヒト子宮頸部がん細胞 HeLa 細胞を用い、各細胞周期におけるミトコンドリアの形態変化を観察した (Fig. 1)。ミトコンドリアは、G1/S 期で細いフィラメント状の形状で核周辺から細胞質全体に広がっている。G2 後期ではミトコンドリアが増加しその形態は太いチューブ状となる。細胞分裂の前期では凝縮したフィラメント状のミトコンドリアが核周辺に集まり、中期で両極に分かれ始め、後期から終期にかけて長く伸びたミトコンドリアが両極に引っ張られるように移動して、細胞質分裂期に2つの娘細胞に分配される。G1 前期では、ミトコンドリアは再び薄く細いフィラメント状の形状で核周辺から細胞質全体に広がる。このように、ミトコンドリアは、細胞分裂に備え、細胞周期によりその量・形状及び細胞内局在を変化させることが明らかになった。

徳島文理大学薬学部医療薬学講座 (〒770-8514 徳島市山城町西浜傍 180)

e-mail: msuenaga@ph.bunri-u.ac.jp

本総説は、平成 21 年度日本薬学会中国四国支部奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

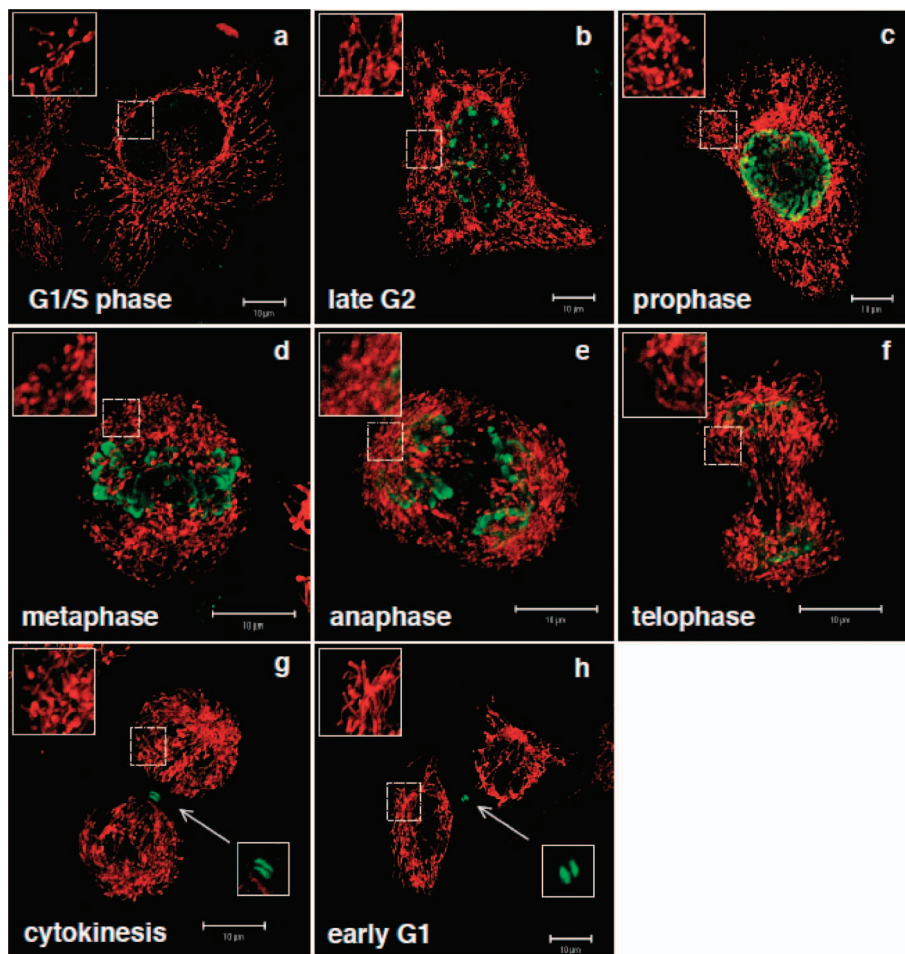


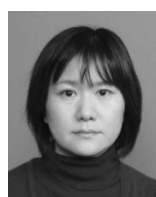
Fig. 1. Dynamics of Mitochondria and Phosphorylated Histone H3 during the Cell Cycle

HeLa cells transfected with mito-DsRed1 were synchronized at the G1/S phase by a doublethymidine block and were subjected to analysis of dynamics of mitochondria (red staining) at intervals of 1.5 h from 0 through 12 h. The major stages of the cell cycle of the observed cells were resolved by staining the cells with phosphorylated histone H1 and H3 antibodies (green staining). The images in the left corner of each panel (denoted by the white box) represent magnified images of the respective panels (denoted by dotted line). Arrows in g and h indicate phosphorylated histones restrictively localized at the division plane. Data shown are representative of 3 independent experiments that gave similar results. Scale bars, 10 μ m.

3. ミトコンドリアの融合因子

ミトコンドリアの融合に係わる因子として、ショウジョウバエで発見された fuzzy onions (Fzo) とそのホモログ Fzo1p (酵母), mitofusin1, 2 (Mfn1, Mfn2; 哺乳動物), 酵母の Mgm1p とその哺乳類ホモログ Optic Atrophy protein 1 (Opa1), 酵母から Ugo1 等が発見されている。²⁻⁷⁾ Fzo とそのホモログは、ミトコンドリア外膜 (OMM) に局在する高分子量 GTPase タンパク質であり、⁸⁾ Mgm1 及び Opa1 は、ミトコンドリア膜間腔に局在するダイナミン様 GTPase タンパク質である。^{5,6)} Ugo1 は OMM に局在し、N 末端側はサイトゾルに、C 末端側は膜間腔に突出させている。⁷⁾ ミトコンドリアの融合では、まず、OMM 同士の融合に引き続きミトコンドリア内膜 (IMM) の融合と内膜クリステ構造の形成が

行われる。OMM 同士の融合には Fzo とそのホモログが関与し、^{3,9)} IMM の融合と内膜クリステの形成には Mgm1 や Opa1 が関与することが明らかになっている。^{10,11)} Ugo1 は、N 末端側で Fzo1p と、C 末端側で Mgm1 と結合し、両者を連結する役割を果たしている。¹²⁾ 酵母の Fzo1 欠損株や Ugo1 欠損株ではミトコンドリアの断片化だけでなくミトコンドリア DNA (mtDNA) の欠質が起きることが明らかになっている。^{3,7)} また、Opa1 欠損株では、



末永みどり

徳島文理大学助教。博士 (薬学)。1976 年広島県生まれ。1999 年徳島大学薬学部薬学科卒業。2001 年徳島大学大学院薬学研究科博士前期課程修了。2004 年同博士後期課程修了。同年徳島文理大学薬学部助手。2007 年より現職。

クリステの形成不全, シトクロム C の漏出, アポトーシスが誘導される.¹¹⁾ このように, ミトコンドリアの融合因子は, 細胞の生存にも重要な役割を果たすことが明らかになっている.

4. ミトコンドリア分裂因子

ミトコンドリア分裂因子として, Dnm1p, Mdv1p, Caf4p, Drp1, Fis1 等が発見されている. Dnm1p, Mdv1p, Caf4p は酵母から発見されたものであり,¹³⁻¹⁵⁾ Drp1 は Dnm1p の哺乳類ホモログである.¹⁶⁾ また, Fis1 は様々な生物で保存されている.¹⁷⁻¹⁹⁾ Dnm1p 及び Drp1 は, 通常は細胞質に存在するダイナミン様 GTPase であり, ミトコンドリア分裂時に細胞質からミトコンドリアの分裂点へ移行してミトコンドリアの分裂を促進する.¹⁶⁾ 酵母において, Dnm1p のミトコンドリアへの移行には, OMM に局在する Fis1p (酵母の Fis1) や細胞質に存在する Mdv1p 及び Caf4p が必要であることが明らかになっている.^{14,15,20)} これらの酵母のミトコンドリア分裂因子は, ミトコンドリアだけでなくペルオキシソームの分裂にも関与していることが報告されている.²¹⁾ Dnm1p 欠損株, Mdv1p 欠損株, Fis1p 欠損株は, いずれもミトコンドリアのネットワークの形成が促進され,¹⁵⁾ また, Fis1 を過剰発現させると, ミトコンドリアの断片化とオートファジーによるミトコンドリアの分解 (マイトファジー) を誘導することが報告されている.²²⁾ このように, ミトコンドリアの融合・分裂因子は, ミトコンドリアの品質維持に関与していることが示されている.

5. ミトコンドリアの融合・分裂と疾患

近年, ミトコンドリアが様々な疾患や老化に関与していることが明らかになっており,^{23,24)} ミトコンドリアの融合・分裂を制御する因子の異常によって発症する疾患も多数報告されている. ミトコンドリア融合因子 Opa1 の変異は網膜神経節細胞の変性によって起こる優性視神経萎縮症の原因となり,²⁵⁾ 同じく融合因子 Mfn2 の変異は筋力低下や下肢の変形を生じる Charcot-Marie-Tooth 病 2A 型の原因となる.²⁶⁾ アルツハイマー病 (AD) においても Drp1 が大きく関与していることが示唆されている. AD 患者では長い形状のミトコンドリアが多く観察されており, Drp1 が減少していることが報告されている.²⁷⁾ パーキンソン病 (PD) においても, ミトコンドリアの融合・分裂との係わりが示唆されてい

る.²⁸⁾ また, PD の原因遺伝子の 1 つである PTEN-induced kinase 1 (Pink1) の変異株では, ミトコンドリアの巨大化がみられ,²⁹⁾ この現象は Drp1 の過剰発現や Opa1 などの発現抑制によって阻害されることが報告されている.³⁰⁾ 逆に, Pink1 の過剰発現によるミトコンドリアの断片化は, Fis1 の発現抑制や Drp1 の変異によって阻害されることが報告されている.³¹⁾

6. JVS マウスの心臓からのミトコンドリア融合・分裂因子の単離

最後に, 筆者らが発見したミトコンドリアの融合・分裂因子について述べる. Juvenile Visceral Steatosis (JVS) マウスは, 細胞膜上に存在するカルニチン輸送担体 (OCTN2) の変異による全身性カルニチン欠乏症マウスであり,³²⁾ 脂肪酸代謝障害が起き, 心肥大, 脂肪肝, 低血糖, 高アンモニア血症等の臨床所見を示すマウスである.³³⁾ この JVS マウスは, 興味深いことに, 心臓や骨格筋において異常にミトコンドリアが増生しており,³⁴⁾ また, 長細い形状のミトコンドリアが多く観察される.³⁵⁾ 筆者らは JVS マウスのこの特徴に注目し, JVS マウスの心臓からミトコンドリアの融合・分裂因子の単離を目指した. まず, JVS マウスの心臓のミトコンドリアの生理機能を解析したところ, 対照マウスに比べ, 明らかに正常な機能を保持していないことが明らかになった.³⁶⁾ 次に, 蛍光 Differential Display 法, PCR-Subtraction 法, GeneChip を用い, 対照マウスと比較して, JVS マウス心臓でその発現量が変化している遺伝子を検出した. その結果, JVS マウスの心臓では様々な代謝酵素の発現量が減少していることが明らかになり,³⁵⁾ また, ミトコンドリアのバイオジェネシスに係わる 2 種類の遺伝子が発見した. ミトコンドリアの融合に係わる新規因子として Mitogenin I, ミトコンドリアの分裂に係わる新規因子として mitochondrial single-stranded DNA-binding protein (mtSSB) を同定した (Fig. 2).³⁷⁾ さらに, Mitogenin I の発現抑制細胞ではトリパンプルーの取り込みが亢進し, また, mtSSB の発現抑制細胞では, エトポシド誘導アポトーシスへの感受性が増大したことから, これらのミトコンドリアの形態を制御する因子は, 細胞の生存にも重要な役割を果たすことが明らかになった.³⁷⁾

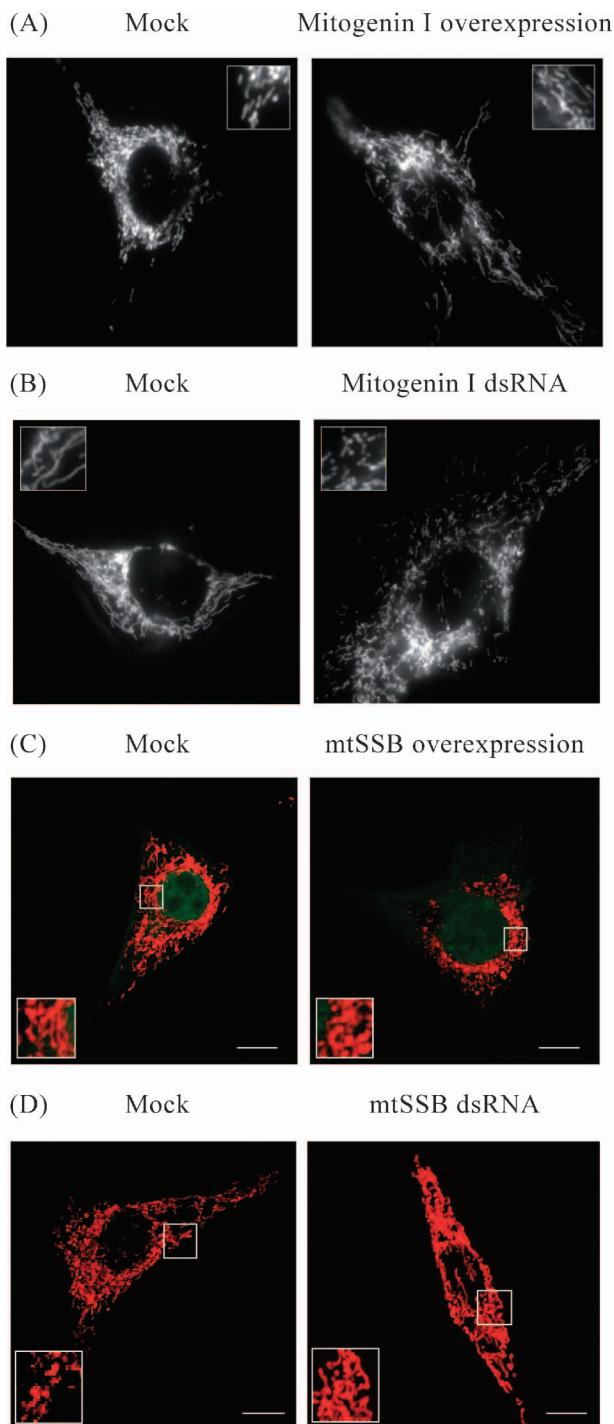


Fig. 2. Effects of Mitogenin I or mtSSB Overexpression and Knockdown on Mitochondrial Morphology

For the analysis of mitochondrial morphology, C2C12 cells were transfected with mito-DsRed1 and each constructed plasmid. Cells were analyzed 48 h after transfection under a fluorescent microscope using a 100 \times objective. A; pCMS-EGFP-Mitogenin I, B; Mitogenin I-specific dsRNA, C; pCMS-EGFP-mtSSB, and D; mtSSB-specific dsRNA.

7. まとめ

本総説では、ミトコンドリアが細胞周期や様々な疾患でその形態を変化させていること（恐らくミト

コンドリアの融合・分裂因子及びミトコンドリア増殖因子が関与している）、ミトコンドリアの融合・分裂因子が細胞の生存や疾患に大きく関わっていることを概説した。最近、ミトコンドリアの融合及び分裂を制御することにより脂質代謝が大きく影響を受けることが示された。³⁸⁾ また、喜多らは、ミトコンドリアの融合を促進するミトコンドリア融合剤を発見し、それが新しい抗肥満剤として応用できる可能性を示した。今後、ミトコンドリアの融合・分裂の制御と細胞機能の調節機構が解明され、ミトコンドリアが関与する様々な疾患の予防や治療薬としてミトコンドリアのバイオジェネシスをターゲットにした医薬品が登場することを期待する。

謝辞 本総説の実験の一部は、徳島大学大学院ヘルスバイオ研究部の樋口富彦名誉教授、新垣尚捷准教授、桑島正道准教授（当時）、柴田洋文助教、臨床薬物動態学分野の研究室の皆様、金沢医科大学の姫田敏樹先生らの協力を得て行ったものです。ご協力頂いた皆様に心から感謝の意を表します。

REFERENCES

- 1) Arakaki N., Nishihama T., Owaki H., Kuramoto Y., Suenaga M., Miyoshi E., Emoto Y., Shibata H., Shono M., Higuti T., *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 1962–1965 (2006).
- 2) Hales K. G., Fuller M. T., *Cell*, **11**, 121–129 (1997).
- 3) Hermann G. J., Thatcher J. W., Mills J. P., Hales K. G., Fuller M. T., Nunnari J., Shaw J. M., *J. Cell Biol.*, **143**, 359–373 (1998).
- 4) Ansgar S., Margaret T. F., *J. Cell Sci.*, **114**, 867–874 (2001).
- 5) Wong E. D., Wagner J. A., Gorisch S. W., McCaffery J. M., Shaw J. M., Nunnari J., *J. Cell Biol.*, **151**, 341–352 (2000).
- 6) Olichon A., Emorine L. J., Descoins E., Pelloquin L., Brichese L., Gas N., Guillou E., Delettre C., Valette A., Hamel C. P., Ducommun B., Lenaers G., Belenguer P., *FEBS Lett.*, **523**, 171–176 (2002).
- 7) Sesaki H., Jensen R. E., *J. Cell Biol.*, **152**, 1123–1134 (2001).
- 8) Rapaport D., Brunner M., Neupert W., Westermann B., *J. Biol. Chem.*, **273**, 20150–20155 (1998).

- 9) Rojo M., Legros F., Chateau D., Lombès A., *J. Cell Sci.*, **115**, 1663–1674 (2002).
- 10) Amutha B., Gordon D. M., Gu Y., Pain D., *Biochem. J.*, **381**, 19–23 (2004).
- 11) Olichon A., Baricault L., Gas N., Guillou E., Valette A., Belenguer P., Lenaers G., *J. Biol. Chem.*, **278**, 7743–7746 (2003).
- 12) Sesaki H., Jensen R. E., *J. Biol. Chem.*, **279**, 28298–28303 (2004).
- 13) Otsuga D., Keegan B. R., Brisch E., Thatcher J. W., Hermann G. J., Bleazard W., Shaw J. M., *J. Cell Biol.*, **143**, 333–349 (1998).
- 14) Tieu Q., Nunnari J., *J. Cell Biol.*, **151**, 53–66 (2000).
- 15) Griffin E. E., Graumann J., Chan D. C., *J. Cell Biol.*, **170**, 237–248 (2005).
- 16) Smirnova E., Griparic L., Shurland D. L., van der Bliek A. M., *Mol. Biol. Cell*, **12**, 2245–2256 (2001).
- 17) Suzuki M., Neutzner A., Tjandra N., Youle R. J., *J. Biolog. Chem.*, **280**, 21444–21452 (2005).
- 18) James D. I., Parone P. A., Mattenberger Y., Martinou J. C., *J. Biol. Chem.*, **278**, 36373–36379 (2003).
- 19) Jofuku A., Ishihara N., Mihara K., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **333**, 650–659 (2005).
- 20) Mozdy A. D., McCaffery J. M., Shaw J. M., *J. Cell Biol.*, **151**, 367–380 (2000).
- 21) Motley A. M., Ward G. P., Hettema E. H., *J. Cell Sci.*, **121**, 1633–1640 (2008).
- 22) Gomes L. C., Scorrano L., *Biochim. Biophys. Acta*, **1777**, 860–866 (2008).
- 23) Nonaka I., *Curr. Opin. Neurol. Neurosurg.*, **5**, 622–632 (1992).
- 24) Bossy-Wetzell E., Barsoum M. J., Godzik A., Schwarzenbacher R., Lipton S. A., *Curr. Opin. Cell Biol.*, **15**, 706–716 (2003).
- 25) Alexander C., Votruba M., Pesch U. E., Thiselton D. L., Mayer S., Moore A., Rodriguez M., Kellner U., Leo-Kottler B., Auburger G., Bhattacharya S. S., Wissinger B., *Nat. Genet.*, **26**, 211–215 (2000).
- 26) Kijima K., Numakura C., Izumino H., Umetsu K., Nezu A., Shiiki T., Ogawa M., Ishizaki Y., Kitamura T., Shozawa Y., Haya-saka K., *Hum. Genet.*, **116**, 23–27 (2005).
- 27) Wang X., Su B., Fujioka H., Zhu X., *Am. J. Pathol.*, **173**, 470–482 (2008).
- 28) Van Laar V. S., Berman S. B., *Exp. Neurol.*, **218**, 247–256 (2009).
- 29) Park J., Lee S. B., Lee S., Kim Y., Song S., Kim S., Bae E., Kim J., Shong M., Kim J. M., Chung J., *Nature*, **441**, 157–161 (2006).
- 30) Park J., Lee G., Chung J., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **78**, 518–523 (2009).
- 31) Yang Y., Ouyang Y., Yang L., Beal M. F., McQuibban A., Vogel H., Lu B., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 7070–7075 (2008).
- 32) Lu K., Nishimori H., Nakamura Y., Shima K., Kuwajima M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **252**, 590–594 (1998).
- 33) Koizumi T., Nikaido H., Hayakawa J., Nonomura A., Yoneda T., *Lab. Anim.*, **22**, 83–87 (1988).
- 34) Miyagawa J., Kuwajima M., Hanafusa T., Ozaki K., Fujimura H., Ono A., Uenaka R., Narama I., Oue T., Yamamoto K., Kaidoh M., Nikaido H., Hayakawa J., Horiuchi M., Saheki T., Matsuzawa Y., *Virchows Arch.*, **426**, 271–279 (1995).
- 35) Suenaga M., Kuwajima M., Himeda T., Morokami K., Matsuura T., Ozaki K., Arakaki N., Shibata H., Higuti T., *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 496–503 (2004).
- 36) Suenaga M., Arakaki N., Morokami K., Himeda T., Shibata H., Kuwajima M., Higuti T., *Biol. Pharm. Bull.*, **26**, 289–294 (2003).
- 37) Arakaki N., Nishihama T., Kohda A., Owaki H., Kuramoto Y., Abe R., Kita T., Suenaga M., Himeda T., Kuwajima M., Shibata H., Higuti T., *Biochim. Biophys. Acta*, **1760**, 1364–1372 (2006).
- 38) Kita T., Nishida H., Shibata H., Niimi S., Higuti T., Arakaki N., *J. Biochem.*, **146**, 787–796 (2009).