

ミトコンドリア DNA の遺伝子発現を安定化するメカニズムを発見

国立精神・神経医療研究センター、神経研究所、疾病研究第二部の松島雄一流動研究員、後藤雄一部長、およびミシガン州立大学の Laurie S. Kaguni 教授の共同研究チームは、ミトコンドリアに存在する蛋白質分解酵素 Lon が特定の蛋白質を選択的に分解しミトコンドリア DNA の遺伝子発現を安定化させていることを世界で初めて発見しました。ミトコンドリアはエネルギーを作り出す細胞内小器官であり強い酸化ストレスにさらされています。Lon は酸化されて傷つき機能不全になった蛋白質を分解することで蛋白質の品質管理を行っています。研究グループはショウジョウバエ細胞を用いて Lon が機能不全蛋白質の分解だけではなく、TFAM と呼ばれる蛋白質を選択的に分解することでミトコンドリア DNA の転写を安定的に保つ機能を持つことを明らかにしました。この成果は 2010 年 10 月 26 日発行の米国科学アカデミー紀要 (PNAS) で発表されました。

【研究の背景】

動物の細胞内には細胞核内の他にミトコンドリアマトリクスに DNA をそれぞれ保持しています (図 1)。核 DNA とは異なりミトコンドリア DNA (mtDNA) は一つの細胞の中に数百から数万コピー存在します。核 DNA はヒストンにより折り畳まれ保護されていますが、mtDNA はヌクレオイドと呼ばれる mtDNA と蛋白質の複合体として存在することが近年明らかにされてきました (図 1)。ヌクレオイドを構成する蛋白質は主に mtDNA の転写や複製に関与する因子であり、特に TFAM と呼ばれる転写因子が重要な働きをします。TFAM は mtDNA の維持に必須であり、TFAM を減少させると mtDNA が消失し、逆に mtDNA を減少させても TFAM が消失することが知られていましたが、この時の TFAM の消失のメカニズムは明らかにされていませんでした (図 2)。

mtDNA には細胞のエネルギー源に当る ATP を生産するための装置である酸化的リン酸化サブユニットがコードされています。酸化的リン酸化による ATP 生産の結果ミトコンドリアは強い酸化ストレスにさらされているためミトコンドリアの蛋白質は酸化されて傷害を受けます。Lon は大腸菌からヒトまで高度に保存されている蛋白質分解酵素であり、動物細胞ではミトコンドリアマトリクスに存在し酸化傷害等の結果機能不全になった蛋白質等を分解することで蛋白質の品質管理を行っています。ミトコンドリアマトリクスには Lon の他に 2 種類の蛋白質分解酵素が存在し Lon と同様に機能不全となった蛋白質の分解に関与し、これらが互いに相補しながら機能していると考えられています (図 1)。

【研究成果の概要】

我々はショウジョウバエ培養細胞 (シュナイダー-S2 細胞) を用いて実験をおこないました。通常細胞に加えて Lon を過剰に発現させた細胞と Lon を枯渇させた細胞をそれぞれ樹立し実験に用いました。Lon を過剰発現させた細胞では TFAM と mtDNA が減少し、Lon を枯渇させた細胞では TFAM と mtDNA が増加しました。この結果から、Lon が TFAM の分解に関わっていることが示唆されました。Lon による TFAM の分解を確認するため我々は mtDNA の複製を阻害し mtDNA を減少させた状態での TFAM の量の変化に着目して実験を進めました。通常細胞では mtDNA の減少にやや遅れて TFAM の減少が観察されましたが、Lon 過剰発現細胞では mtDNA 減少に伴う TFAM の減少がより顕著であり、一方 Lon 枯渇細胞では TFAM の量に変化が全く見られませんでした。TFAM とは異なり他のミトコンドリアヌクレオイド蛋白質にはほとんど量的変化が見られませんでした。これらことは Lon が TFAM を選択的に分解すること、ミトコンドリアマトリクスの他の二種類の蛋白質分解酵素は TFAM の分解に関与していないことを示しています。また mtDNA 減少時に Lon は mtDNA 当たりの TFAM の量を

一定に保つように分解すること、Lon 枯渇細胞では mtDNA 減少時に TFAM は分解されないため mtDNA 当たりの TFAM の量比 (TFAM/mtDNA 比) が急激に上昇することも判りました。

次に TFAM/mtDNA 比が上昇した時の影響を調べるために TFAM を過剰に発現させた細胞を樹立し解析を行ったところ、TFAM/mtDNA 比が通常の細胞の 2 倍を超えると mtDNA の転写の阻害が確認され、TFAM/mtDNA 比が通常の 8 倍を超えると mtDNA の転写産物がほとんどなくなるということがわかりました (図 3A)。このことから、Lon が TFAM を分解しているのは TFAM/mtDNA の比率を一定に制御することで mtDNA 転写の安定化を計っていると考えられました。そこで通常細胞と Lon 枯渇細胞の mtDNA の量をそれぞれ約半分程度に減少させたところ、通常細胞では Lon が TFAM を分解する結果 TFAM/mtDNA 比は変化しないため mtDNA の転写に変化が見られないのに対し、Lon 過剰細胞では TFAM が分解されない結果 TFAM/mtDNA 比が上昇し転写が阻害されることが明らかになりました (図 3B)。

以上のことから Lon は mtDNA の量に応じて TFAM を分解し TFAM/mtDNA 比を一定に保つことで mtDNA の転写の安定化に寄与していることが明らかになりました。

【研究成果の応用】

抗 HIV 薬など抗ウイルス薬の一部には副作用として mtDNA の減少が起きることが知られています。もし Lon の機能に異常があれば mtDNA 減少に伴う TFAM の分解がうまく起こらないため TFAM/mtDNA 比が上昇し mtDNA の遺伝子発現にも大きな影響が出ると考えられます。ことから Lon の TFAM/mtDNA 比調整機能が抗ウイルス薬の副作用に影響を与えている可能性が考えられます。

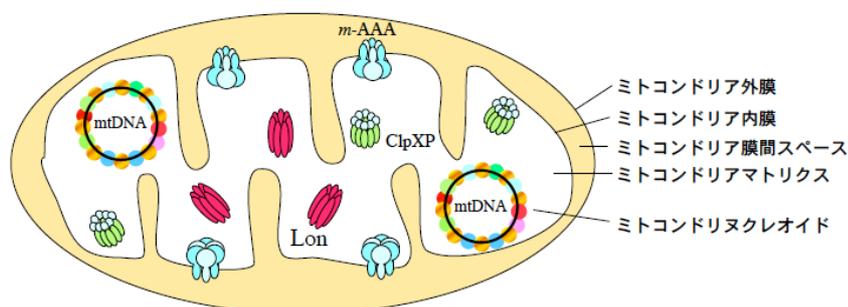


図 1、動物のミトコンドリア。ミトコンドリアは二枚の膜から成り、内膜の内側はマトリクスと呼ばれ mtDNA や Lon が存在しています。mtDNA は蛋白質との複合体を形成しています。またミトコンドリアマトリクス内には Lon の他に m-AAA、ClpXP と呼ばれる二種類の蛋白質分解酵素が機能不全蛋白質の分解を担っています。

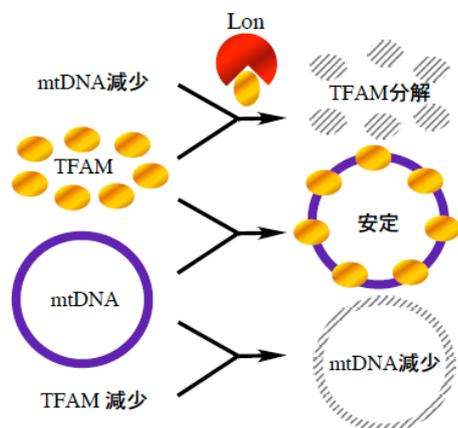
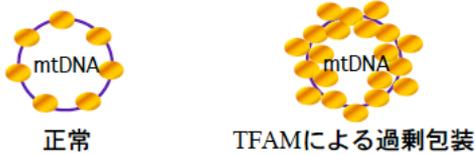


図 2、TFAM と mtDNA の共依存関係。TFAM と mtDNA が共に存在する場合は mtDNA-TFAM 複合体は安定した状態で存在できるが、mtDNA が減少すると TFAM も減少し、逆に TFAM が減少

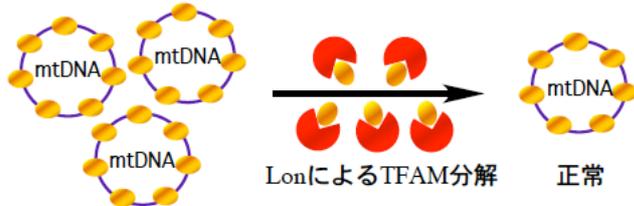
したときには mtDNA も減少します。この度の我々の研究により mtDNA 減少時における TFAM の減少は Lon によって TFAM が分解されることにより引き起こされることが明らかになりました。

(A) TFAMとmtDNAの比率



(B)

正常細胞でのmtDNA減少時



Lon枯渇細胞でのmtDNA減少時

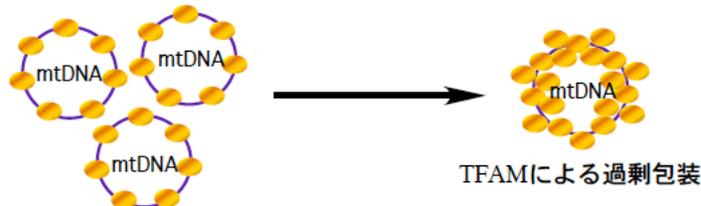


図3、mtDNA と TFAM の関係。(A)通常の状態(左)に比べ TFAM 過剰発現細胞等で mtDNA/TFAM 比が高い状態(右)では mtDNA が TFAM によって過剰包装された状態になり、mtDNA の転写が阻害されることとなります。(B)mtDNA 減少時における Lon の影響。通常細胞では Lon による TFAM の分解により mtDNA/TFAM 比が一定に保たれますが(上)、Lon 枯渇細胞では TFAM の分解がおこなわないため mtDNA/TFAM 比が上昇し mtDNA が TFAM により過剰包装されることで転写の阻害が引き起こされると考えられます(下)。Lon は TFAM を mtDNA の量に合わせて分解することで TFAM による mtDNA の過剰包装を防いでいます。

【発表雑誌・タイトル・著者】

・発表雑誌

Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America

・タイトル

Mitochondrial Lon protease regulates mitochondrial DNA copy number and transcription by selective degradation of mitochondrial transcription factor A (TFAM)

・著者

Yuichi Matsushima, Yu-ichi Goto, and Laurie S. Kaguni

【研究グループ】

・国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病第二部
流動研究員 松島雄一、疾病研究第二部部長 後藤雄一

・ミシガン州立大学 生化学・分子生物学部

(ミシガン州立大学 ミトコンドリア研究センター)

教授 Laurie S Kaguni

【研究サポート】

本研究は 精神・神経疾患共同研究費、 文部科学省科学研究補助金他のサポートを受けて実施されました。

【本研究に対するお問い合わせ先】

国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第二部

流動研究員 松島雄一（まつしま ゆういち）

Tel 042-346-1713

E-mail: ymatsush@ncnp.go.jp