

分野: 医学系

キーワード: TFEB, HKDC1, マイトファジー、ミトコンドリアとリソソームのクロストーク、細胞老化

ミトコンドリアとリソソームの 恒常性維持 & 細胞老化を抑制する分子メカニズムの発見

【研究成果のポイント】

- ◆ リソソームの機能を制御するマスター転写因子 TFEB (Transcription Factor EB) はミトコンドリアの機能制御にも関わることが分かっていたが、TFEB 下流で、この二つの細胞小器官のクオリティーコントロールに関わる共通因子があるのかは不明であった。
- ◆ 今回 TFEB がミトコンドリアおよびリソソームにストレスを受けた際にヘキソキナーゼファミリーのひとつ HKDC1 (hexokinase domain containing 1) の発現を直接制御することにより両者のクオリティーコントロールに必須の働きを持つことを発見した。
- ◆ HKDC1 は傷ついたミトコンドリアのオートファジーによる除去(マイトファジー※¹)と同時に傷ついたリソソームの修復を促進することにより、細胞を健康に保ち細胞老化※²を抑制することが明らかになった。
- ◆ TFEB-HKDC1 経路の調節を介した老化抑制や加齢性疾患の治療法への応用が期待される。

❖ 概要

大阪大学大学院医学系研究科 大学院生の崔夢瑩さん(博士後期課程)、医学系研究科遺伝学/生命機能研究科細胞内膜動態研究室の吉森保教授、奈良県立医科大学医学部医学科生化学講座の中村修平教授らの研究グループは、**ミトコンドリアとリソソーム両者のクオリティーコントロールを介して、細胞老化を抑制する新たな分子メカニズムを明らかにしました(図1)。**

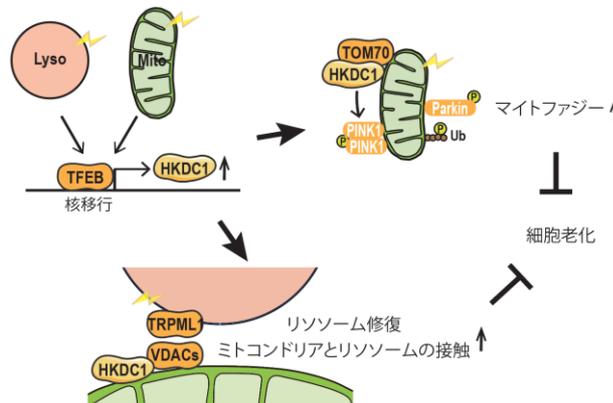


図1: 研究成果の概略

エネルギー産生を担う細胞内小器官であるミトコンドリアと、生体分子の分解を担うリソソームの機能を維持することは細胞を健康に保つうえで重要です。またミトコンドリアとリソソームは細胞内において接触部位をもちクロストークを行っており、互いの機能維持にそれぞれの存在が重要であることが示唆されて

Press Release

います。さらに近年、細胞老化や様々な加齢関連疾患において、損傷を受けて機能低下したミトコンドリアやリソソームが共に蓄積していることが報告され、これが細胞老化や様々な加齢関連疾患における共通した特徴であることがわかってきました。しかし、ミトコンドリア、リソソームを制御する共通の機構があるかどうか、両者のクロストークの分子機構、またその老化における意義は不明でした。

今回、研究グループは、オートファジー・リソソーム機能のマスター転写因子として働き、ミトコンドリア機能制御にも関わる転写因子 TFEB に着目し、この下流でミトコンドリアおよびリソソーム両者のクオリティコントロールに関わる共通因子を探索しました。その結果、ミトコンドリアとリソソームが損傷を受けた際に TFEB 依存的に活性化される新規の因子として、ヘキソキナーゼファミリーの一つ HKDC1 を同定しました。HKDC1 は解糖系の酵素として働くことが知られていますが、この機能とは独立して、損傷したミトコンドリアの除去や損傷リソソームの修復を介して両者のクオリティコントロールに必須の働きを持つことが分かりました。HKDC1 はミトコンドリア損傷時において代表的な損傷ミトコンドリア除去機構である PINK1/Parkin 依存性マイトファジーを介して損傷ミトコンドリアの除去を担うこと、またリソソーム損傷時においては、ミトコンドリア・リソソーム接触部位を増加させ、リソソームの膜修復を促進していることを見出しました。さらに HKDC1 を欠損した細胞では機能低下したミトコンドリアや損傷リソソームの蓄積を伴い、細胞老化が進行することが分かりました。これらの結果から、TFEB の下流で HKDC1 はミトコンドリアとリソソーム両者の恒常性を維持し、細胞老化の抑制に働く必須の因子であることが明らかとなりました。今後 TFEB-HKDC1 経路の調節を介した老化抑制や加齢性疾患の治療法への応用に役立つことが期待されます。

本研究成果は、2024 年 1 月 4 日(木)(日本時間)に国際科学誌「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America」(オンライン)に公開されました。

❖ 研究の背景

エネルギー産生を担う細胞内小器官であるミトコンドリアと、生体分子の分解を担うリソソームはどちらも細胞を健康に保つうえで重要な細胞内小器官です。またミトコンドリアとリソソームは接触部位をもち、脂質やアミノ酸など代謝物の移動、イオンの交換を行うことにより互いの機能維持に重要な役割を果たします。実際ミトコンドリア病ではリソソーム機能不全が、またリソソーム病ではミトコンドリアの機能不全が生じることからもミトコンドリアとリソソームとの密接な関わり合いは明らかです。さらに近年細胞老化や様々な加齢関連疾患において損傷ミトコンドリア・損傷リソソームが蓄積していることが明らかとなり、ミトコンドリアやリソソームの機能不全は細胞老化や様々な加齢関連疾患における共通した特徴であることがわかってきました。

損傷ミトコンドリアの除去機構には複数の経路が知られていますが、代表的な機構として PINK1/Parkin 依存性マイトファジー(オートファジーによる損傷ミトコンドリアの除去)が挙げられます。この機構においては、ミトコンドリアのストレスがミトコンドリア脱分極^{※3}を引き起こし、PINK1 が安定化し活性化します。この活性化 PINK1 はリン酸化応答によりマイトファジーに重要なユビキチン化酵素である Parkin が損傷ミトコンドリア上へ移行するのを促進し、Parkin はミトコンドリアタンパクをユビキチン化することによりマイトファジーが進行します。またリソソームが損傷した際には、損傷リソソームの修復機構、リソファジー(オートファジーによる損傷リソソームの除去)、リソソーム生合成機構など、複数の機構によりリソソーム恒常性が維持されます。

本研究グループをはじめとした研究により、転写因子 TFEB はミトコンドリア損傷時とリソソーム損傷時のいずれにおいても活性化され、損傷ミトコンドリアや損傷リソソームの除去・修復に関わることが明らかとなっています(Nakamura et al., Nat Cell Biol, 2020; Nezich et al., J Cell Biol, 2015)。また TFEB は細胞老化や個体老化の制御にも密接に関与することが知られています(Lapierre et al., Nat Commun, 2013; Curnock et al., EMBO J, 2023)。しかし TFEB の下流でミトコンドリア、リソソームの恒常性を制御する共通の機構があるのか、またそうであればその細胞や個体老化での意義は何なのか、よく分かっていませんでした。

❖ 研究の内容

研究グループはまず、ミトコンドリアとリソソームがストレスを受けた際の遺伝子発現変化を RNA-seq^{※4}によって解析し、いずれのストレスでも TFEB 依存的に発現上昇する共通の標的遺伝子として HKDC1 を同定しました(図 2 上)。ChIP(クロマチン免疫沈降)とこれに続く qPCR(定量 PCR)解析から、TFEB は HKDC1 遺伝子上流約 3000bp にあるプロモーター領域に結合し、転写を直接活性化することが明らかとなりました(図 2 下)。

次に損傷ミトコンドリア応答として代表的なマイトファジーと HKDC1 との関わり合いを検証しました。マイトファジーを誘導するミトコンドリア脱分極剤存在下において、HKDC1 ノックダウン細胞ではミトコンドリアタンパクの分解が阻害されており、HKDC1 がマイトファジーに必須の働きをもつことが明らかとなりました(図3左)。次に代表的なマイトファジー経路である PINK1/Parkin 依存性マイトファジーにおける HKDC1 の役割を検証したところ、HKDC1 は PINK1/Parkin 依存性マイトファジーの最初のステップである PINK1 の安定化に不可欠であることが明らかとなりました(図3右)。さらにプロテオミクス解析^{※5}に

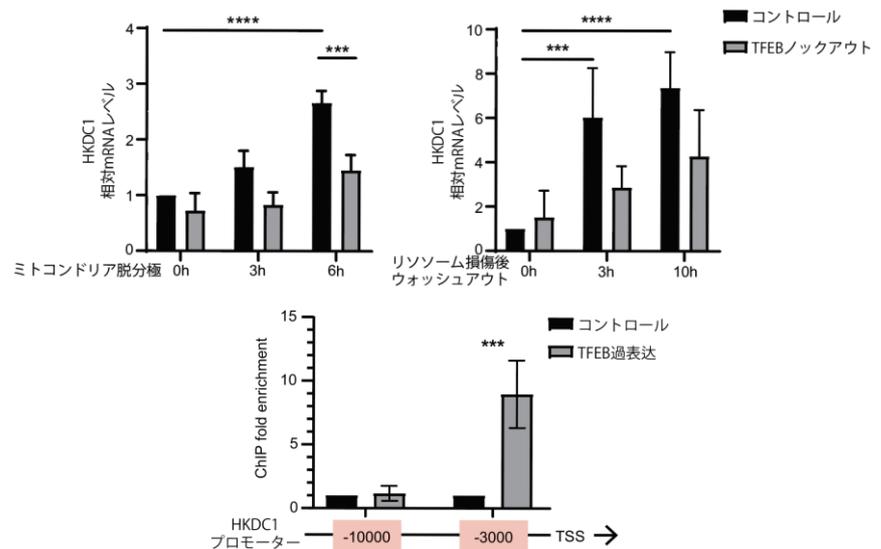


図2: HKDC1 はミトコンドリア、リソソームへのストレス下における TFEB の直接の標的遺伝子である

(上)HKDC1 はミトコンドリアおよびリソソームへのストレスにより TFEB 依存的に発現上昇する

(下)ChIP-qPCR 実験。TFEB は HKDC1 のプロモーター領域に結合する

より、HKDC1 は TOM70 と相互作用することが明らかとなり、これにより PINK1 の安定化を制御していることが分かりました。(図3右)

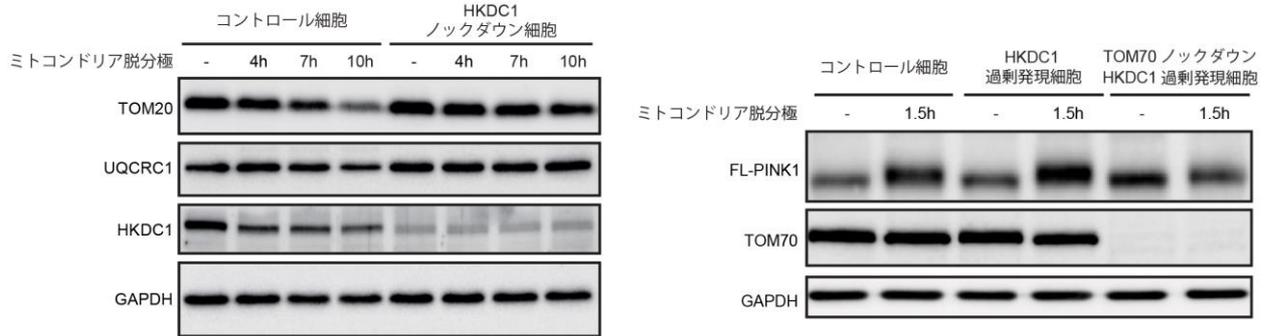


図3:HKDC1 は PINK1 の安定化を介して PINK1/Parkin 依存マイトファジーに必須の働きをもつ
(左) ミトコンドリア脱分極時、コントロール細胞ではミトコンドリアタンパク質 TOM20 および UQCRC1 が徐々に分解される。一方、HKDC1 ノックダウン細胞ではこの分解が抑制される。(右)ミトコンドリア脱分極時、コントロールの細胞では PINK1 の蓄積が見られる。HKDC1 を過剰発現するとこの蓄積が TOM70 依存性に亢進する。

次に、損傷リソソーム時における HKDC1 の果たす役割を検証したところ、HKDC1 欠損細胞においては損傷リソソームの修復が十分に行われなことがわかりました(図4左)。研究グループはミトコンドリアタンパクである HKDC1 が損傷リソソームの修復を行う機構として、さまざまな物質の交換を介して互いの機能維持に必須の働きを果たすと考えられるミトコンドリア・リソソーム接触部位の関与を検証しました。スプリット GFP ベースのセンサーを用いてミトコンドリア・リソソーム接触部位を検出したところ、野生型細胞ではリソソーム損傷時においてミトコンドリア・リソソーム接触部位が増加する一方で、HKDC1 ノックダウン細胞では接触部位の増加を認めませんでした(図 4 右)。以上よりリソソーム損傷時 HKDC1 はミトコンドリア・リソソーム接触部位を増加させることで、損傷リソソームの修復に重要な役割を果たすことが明らかとなりました。

重要なことに、ドキシソルビシンにより細胞老化を誘導した際に HKDC1 ノックダウン細胞では損傷ミトコンドリアと損傷リソソームの蓄積を認め、細胞老化も進行していました(図 5)。

以上より TFEB が直接転写を制御する HKDC1 がミトコンドリアとリソソーム両者の恒常性維持に必須の役割を持ち、損傷ミトコンドリア・損傷リソソームの蓄積を抑制し、細胞老化を防ぐことが明らかとなりました。

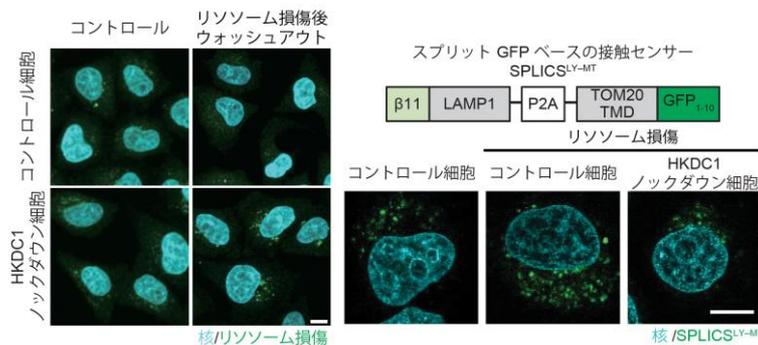


図 4:HKDC1 の欠損によりリソソーム損傷が亢進する
(左) リソソーム損傷後、コントロール細胞ではリソソーム損傷が回復する。一方で HKDC1 ノックダウン細胞ではリソソーム損傷細胞の著明な残存を認める。(右)リソソーム損傷時、ミトコンドリア・リソソーム接触部位が増加するが、HKDC1 ノックダウン細胞では接触部位の増加は認めない。

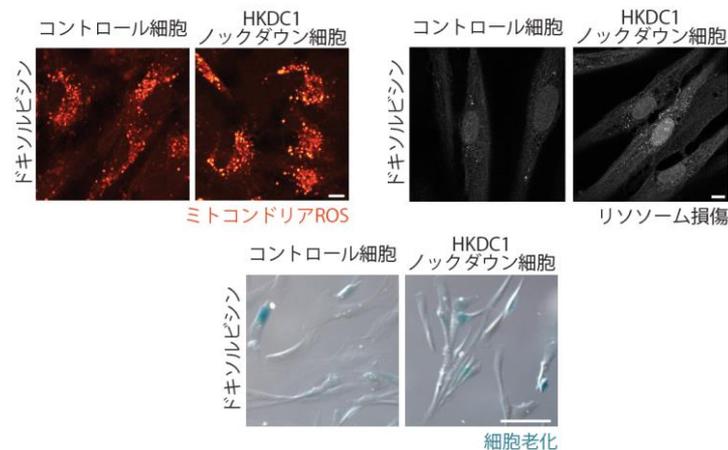


図 5:HKDC1 の欠損により細胞老化が進行する

野生型細胞と HKDC1 ノックダウン細胞にドキシソルビシンによる細胞老化の誘導を行った。HKDC1 ノックダウン細胞ではミトコンドリア ROS(活性酸素)の増加(上左)、損傷リソソームの蓄積(上右)、細胞老化の進行(下)を認める。

❖ 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

本研究では、ミトコンドリアとリソソーム両者のクオリティーコントロールを介して、細胞老化を制御する新たな仕組みを解明することができました。本研究で得られた知見が、健康寿命の延伸や加齢性疾患の新たな治療戦略に繋がることが期待されます。

❖ 特記事項

本研究成果は、2024年1月4日(木)(日本時間)に国際科学誌「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America」(オンライン)に公開されました。
タイトル:“HKDC1, a novel target of TFEB, is essential to maintain both mitochondrial and lysosomal homeostasis, preventing cellular senescence”

著者名:Mengying Cui, Koji Yamano, Kenichi Yamamoto, Hitomi Yamamoto-Imoto, Satoshi Minami, Takeshi Yamamoto, Sho Matsui, Tatsuya Kaminishi, Takayuki Shima, Monami Ogura, Megumi Tsuchiya, Kohei Nishino, Brian T Layden, Hisakazu Kato, Hidesato Ogawa, Shinya Oki, Yukinori Okada, Yoshitaka Isaka, Hidetaka Kosako, Noriyuki Matsuda, Tamotsu Yoshimori*, Shuhei Nakamura* (*責任著者)

DOI:<https://doi.org/10.1073/pnas.2306454120>

本研究は、科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業 CREST 研究領域「細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の創出」における研究課題「オートファジーによる細胞外微粒子応答と形成」(研究代表者:吉森保)「JPMJCR17H6」、日本医療研究開発機構(AMED)革新的先端研究開発支援事業(AMED-CREST)研究開発領域「プロテオスタシスの理解と革新的医療の創出」における研究課題「細胞内膜動態によるプロテオスタシス制御の理解:健康長寿の実現に向けて」(研究代表者:吉森保)「JP22gm1410014」、日本学術振興会基盤研究S「疾患と老化に対抗するオートファジーの分子機構と制御因子の作動原理の解明」(研究代表者:吉森保)「22H04982」文部科学省 学術変革領域研究 B「TFEB 依存的・非依存的ポストリソソームシグナルによる個体および生殖寿命制御機構」(研究代表者:中村修平)「21H05145」、日本学術振興会 科研費 挑戦的研究(萌芽)、「ミクロ」オートファジーによるリソソーム膜修復を介した老化抑制機構の解明」(研究代表者:中村修平)「23K18140」の一環として行われました。

Press Release

❖ 用語説明

※1 マイトファジー

オートファジーを介したミトコンドリアの選択的分解機構であり、損傷したミトコンドリアの代謝に関与していると考えられる。

※2 細胞老化

増殖中の正常な細胞に、がん遺伝子の活性化や酸化ストレス等が加わり、修復不可能なほど強い DNA 損傷が起こった際に誘導される不可逆的細胞増殖停止現象。

※3 ミトコンドリアの脱分極

二重膜構造のミトコンドリアの内膜に配置する、ATP 産生などを司る呼吸鎖複合体は、その代謝活性により内膜を境に H⁺イオン濃度勾配による電位差(ミトコンドリア膜電位)を形成する。膜電位が保たれることはミトコンドリアの活性が維持されていることの指標となり、種々の要因によりこの膜電位を消失させると(脱分極)、ミトコンドリアは膜構造が断片化され機能不全となる。

※4 RNA-seq

次世代シーケンスを用いて取得したリードの情報(生データ)をデータ解析することにより、遺伝子の発現量が解析できる手法。

※5 プロテオミクス解析

ゲノミクスに対する言葉。従来の個別のタンパクの解析とは違い、いつでもどのタンパクがどれだけ発現しているかを系統的、網羅的にデータ収集し解析する技術、方法論。

❖ 参考 URL

大阪大学 大学院医学系研究科 遺伝学／生命機能研究科 細胞内膜動態学

<http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/yoshimori/jp/>

奈良県立医科大学 生化学講座

<https://bioch.naramed-u.ac.jp/>

中村修平教授 research map

<https://researchmap.jp/shuheii/?lang=japanese>

❖ 本件に関する問い合わせ先

<研究に関すること>

吉森 保(よしもり たもつ)

大阪大学 大学院医学系研究科 遺伝学／生命機能研究科 細胞内膜動態研究室 教授

中村 修平(なかむら しゅうへい)

奈良県立医科大学 生化学講座 教授

<報道に関すること>

大阪大学 大学院医学系研究科 広報室

TEL: 06-6879-3387

Email: medpr@office.med.osaka-u.ac.jp

Press Release

奈良県立医科大学 研究推進課 産学連携推進係

TEL:0744-22-3051(内線:2552)

Email: sangaku@narmed-u.ac.jp