

細胞小器官の膜リン脂質の新規修飾様式の発見 ——ホスファチジルエタノールアミンのユビキチン化——

1. 発表者：

坂巻 純一（東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 分子生物学分野 特任助教）
水島 昇（東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 分子生物学分野 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆エンドソームやリソソームなどの細胞小器官や一部のウイルスの膜を構成するリン脂質ホスファチジルエタノールアミンがユビキチン化されることを発見しました。
- ◆真核生物に普遍的に存在するタンパク質ユビキチンは、他のタンパク質に共有結合して、そのタンパク質の分解や性質変化をもたらすシグナルとして知られていました。今回の発見はユビキチンが細胞小器官の脂質にも結合していることをはじめて示すものです。
- ◆多くの生命現象や疾患に関連することが知られているユビキチンの全く新しい機能を解明したことにより、細胞生物学や病態生理学の広範囲への波及効果が期待されます。

3. 発表概要：

真核生物に普遍的に存在するタンパク質であるユビキチンは、他のタンパク質に共有結合して、そのタンパク質の分解や性質の変化をもたらすシグナルとして働きます。ユビキチン化が1980年に発見されてから40年以上経ちますが、これまでユビキチン化はタンパク質のみに起きると考えられてきました。

今回、東京大学大学院医学系研究科の水島昇教授らの研究グループは、細胞小器官（注1）の膜を構成するリン脂質であるホスファチジルエタノールアミン（注2）がユビキチン化（注3）されることを発見しました。ホスファチジルエタノールアミンのユビキチン化は、エンドソームやリソソームなどの細胞小器官や一部のウイルスでみられ、ユビキチンと結合する性質を持つ他のタンパク質を引き寄せる働きをしていると考えられます。本研究は、生理的条件下で細胞小器官の膜脂質そのものがユビキチン化されていることを示す初めての成果であり、非常に多くの生命現象や疾患に関連することが知られているユビキチンの働きに一石を投じたこととなります。

本研究は、東京大学大学院医学系研究科機能生物学専攻システムズ薬理学教室の上田泰己教授、大出晃士講師との共同研究であり、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業 総括実施型研究（ERATO）「水島細胞内分解ダイナミクスプロジェクト」（研究総括：水島昇）などの支援を受けて行われました。

4. 発表内容：

（1）研究の背景

ユビキチンとタンパク質の共有結合は真核細胞で普遍的に見られる修飾反応で、ユビキチン化と呼ばれています。この反応では、ユビキチンはユビキチン活性化酵素（E1 酵素）、ユビキチン結合酵素（E2 酵素）へと順に受け渡され、さらにユビキチンリガーゼ（E3 酵素）の仲介によって標的タンパク質に共有結合します（図1）。ユビキチン化は標的タンパク質のプロテアソーム（注4）による分解や、局在、活性、タンパク質間結合などの性質の変化を引き

起こします。タンパク質のユビキチン化が 1980 年に発見されて 40 年以上経ちますが、これまでユビキチン化はタンパク質のみに起きると考えられてきました。

(2) 研究内容

本研究は、2000 年に大隅良典博士（東京大学特別栄誉教授・東京工業大学栄誉教授）らのグループにより報告され、2016 年のノーベル生理学・医学賞受賞の際の主要論文のひとつである、オートファジー（注5）タンパク質 ATG8（哺乳類では LC3 や GABARAP と呼ばれる）がリン脂質と共有結合するという発見に着目して始まりました。ATG8 はユビキチンに似たタンパク質ですが、タンパク質でなくリン脂質のひとつであるホスファチジルエタノールアミンと共有結合するというユニークな特徴を持っています。ATG8 とホスファチジルエタノールアミンとの共有結合はユビキチン化に似た反応により形成されます（図2）。ユビキチンはタンパク質を構成するアミノ酸のうちリジンと共有結合しますが、リジンとホスファチジルエタノールアミンの構造は類似しています（図2）。そこで、ユビキチンもホスファチジルエタノールアミンに結合するのではないかと仮説を立て研究を始めました。

仮説の検証の結果、出芽酵母やヒト細胞などの真核細胞でホスファチジルエタノールアミンがユビキチン化されていることがわかりました。さらに、昆虫のウイルスであるバキュロウイルスでもホスファチジルエタノールアミンのユビキチン化がみられました。これらのことより、リン脂質のユビキチン化は広く存在している可能性が示唆されました。

出芽酵母を用いてさらに調べたところ、エンドソームや液胞（ヒト細胞ではリソソームに相当）などの細胞小器官の膜に存在するホスファチジルエタノールアミンがユビキチン化されていることが判明しました。ホスファチジルエタノールアミンのユビキチン化はタンパク質のユビキチン化と同様の反応によって触媒されており、ユビキチン活性化酵素 Uba1、ユビキチン結合酵素 Ubc4/5、ユビキチンリガーゼ Tul1 が一連の反応を担います（図3）。Tul1 はエンドソームと液胞の膜に存在することが知られており、リン脂質のユビキチン化の空間的制御は Tul1 の局在によって主に決定されていると考えられました。また、ホスファチジルエタノールアミンと結合したユビキチンは、脱ユビキチン化酵素 Doa4 により除去されるか、あるいは液胞へ運ばれて分解されることを見出しました。さらに、ホスファチジルエタノールアミンと結合したユビキチンが膜の変形や切断に関与する ESCRT タンパク質複合体をエンドソーム膜に引き寄せ、エンドソーム内腔に小胞が形成する過程（腔内小胞形成）に関わる可能性を示唆しました。以上、細胞小器官の膜を構成するリン脂質がユビキチン化されることを初めて明らかにしました。

ユビキチンはファミリーを形成しており、ユビキチンと似たアミノ酸配列と構造を持つ他のタンパク質が多く知られています。そこで、それらについてもリン脂質と共有結合するかどうかを検証したところ、NEDD8 や ISG15 もリン脂質と共有結合することが明らかになりました。以上の結果より、リン脂質との共有結合は、ATG8 に限らず、ユビキチンとユビキチンに似たタンパク質が持つ一般的な特徴であることが示唆されました。

(3) 社会的意義

本研究成果はエンドソームやリソソームなどの細胞小器官の機能調節機序やユビキチン化の役割の理解に貢献すると期待されます。リソソームの機能異常はリソソーム病や神経変性疾患などのさまざまな疾患と関連することが知られていることから、本研究の発展がこれらの疾患の理解にも貢献することが期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Molecular Cell」（米国東部夏時間 8月30日 : オンライン版）

論文タイトル：Ubiquitination of phosphatidylethanolamine in organellar membranes

著者：Jun-ichi Sakamaki, Koji L. Ode, Yoshitaka Kurikawa, Hiroki R. Ueda, Hayashi Yamamoto, Noboru Mizushima* (*責任著者)

6. 問い合わせ先：

<本研究に関するお問い合わせ>

東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 分子生物学分野

教授 水島 昇 (みずしま のぼる)

Tel : 03-5841-3440、Fax : 03-3815-1490

E-mail : nmizu@m.u-tokyo.ac.jp

<報道に関するお問い合わせ>

東京大学大学院医学系研究科 総務チーム

Tel : 03-5841-3304、Fax : 03-5841-8585

E-mail : ishomu@m.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

(注1) エンドソームやリソソームなどの細胞内小器官

細胞内には膜で囲まれた細胞小器官が複数存在する。エンドソーム、リソソーム、ミトコンドリア、小胞体、ゴルジ体、ペルオキシソームなどが挙げられる。エンドソームは、細胞外から取り込んだ物質や、ゴルジ体から輸送されてくる物質が通過する中継点である。リソソームは加水分解酵素を多数含む酸性小器官であり、細胞外からエンドソームを介して、また、オートファジー (注5) によって細胞内から運ばれてきた物質を分解する。

(注2) リン脂質とホスファチジルエタノールアミン

リン脂質はグリセリンやスフィンゴシンに脂肪酸とリン酸が結合した構造をもつ脂質の総称である。細胞膜や細胞小器官の膜の主な構成成分である。ホスファチジルエタノールアミンはリン脂質の基本骨格の頭部にエタノールアミンが結合している。

(注3) ユビキチン化

ユビキチン化はユビキチンと呼ばれる小さいタンパク質が他のタンパク質と共有結合する化学修飾反応である。ユビキチンはタンパク質を構成するアミノ酸のうち主にリジンに共有結合する。また、ユビキチン同士が共有結合し、重合化もする (ポリユビキチン化と呼ばれる)。ユビキチン化反応では、ユビキチンはユビキチン活性化酵素 (E1 酵素)、ユビキチン結合酵素 (E2 酵素) へと順に受け渡しされ、ユビキチンリガーゼ (E3 酵素) の仲介によって標的タンパク質へ結合する (図1を参照)。

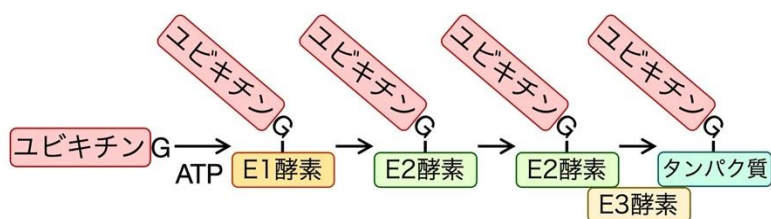
(注4) プロテアソーム

ユビキチン化されたタンパク質を特異的に認識、分解する巨大なタンパク質分解酵素複合体。ボルテゾミブなどのプロテアソームを阻害する薬剤は多発性骨髄腫などの治療薬として利用されている。

(注5) (マクロ) オートファジー

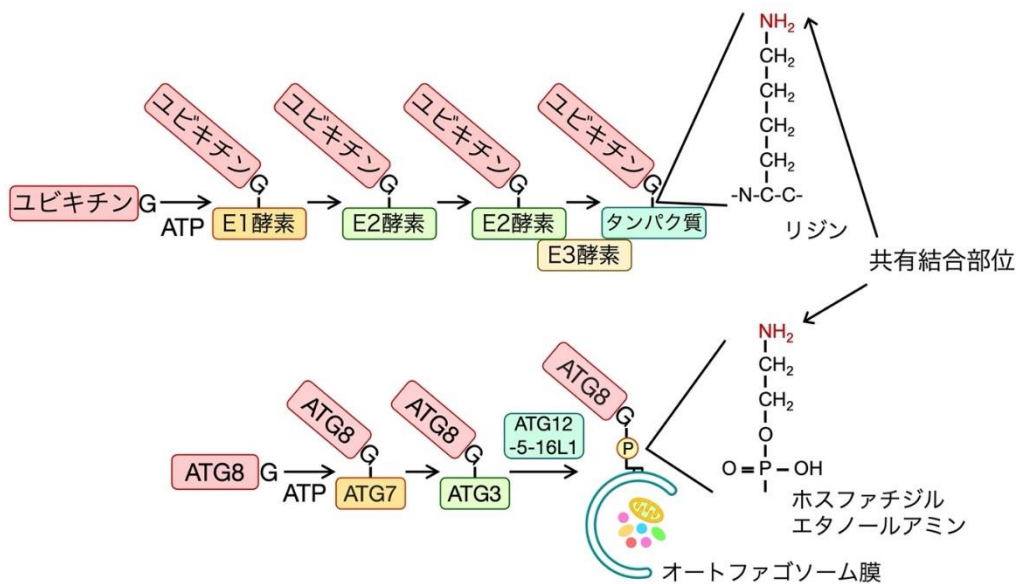
細胞の主要な分解機能の一つ。オートファゴソームと呼ばれる膜構造が細胞質基質やミトコンドリアなどの細胞小器官を取り囲み、リソソーム(注1)と融合する。その生理的機能としては、飢餓への適応や細胞内の恒常性維持などが知られており、近年では特に神経変性疾患などとの関連が注目されている。

8. 添付資料：



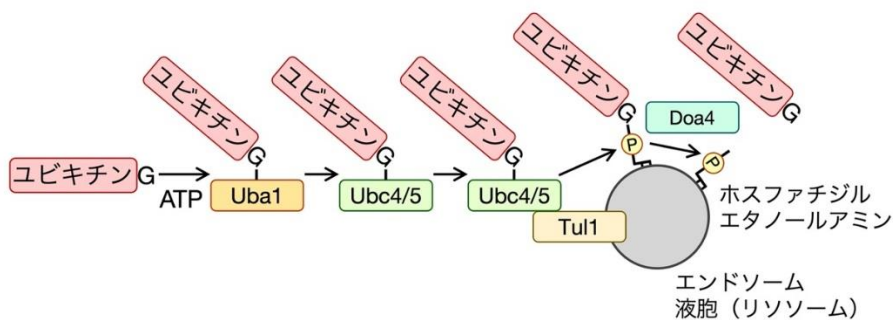
(図1) ユビキチン化反応

ユビキチンはユビキチン活性化酵素 (E1 酵素) (ATP: アデノシン三リン酸が必要)、ユビキチン結合酵素 (E2 酵素) へと順に受け渡しされ、ユビキチンリガーゼ (E3 酵素) が E2 酵素と標的タンパク質を橋渡しするようにして標的タンパク質へとユビキチンが渡される。G はアミノ酸の一種類であるグリシンを表し、カルボキシ末端のグリシンと標的タンパク質が共有結合する。



(図2) ユビキチン化と ATG8 結合反応の類似性

ATG8 は E1 様酵素 ATG7 (ATP : アデノシン三リン酸が必要) 、 E2 様酵素 ATG3 へと順に受け渡しされ、 E3 様酵素複合体 ATG12-ATG5-ATG16L1 の働きで、オートファゴソーム (注5を参照) 上のホスファチジルエタノールアミンと共有結合する (図下)。この反応はユビキチン化反応 (図上) と類似している。リジンの側鎖やホスファチジルエタノールアミンの頭部にあるアミノ基 (NH₂) にユビキチンや ATG8 が共有結合する。



(図3) ホスファチジルエタノールアミンのユビキチン化の分子機序

ユビキチンは E1 酵素 Uba1 (ATP : アデノシン三リン酸が必要) 、 E2 酵素 Ubc4/5 へと順に受け渡しされ、エンドソームや液胞に存在する E3 酵素 Tul1 が E2 酵素を呼び込み、膜上のホスファチジルエタノールアミンへ共有結合する。G はグリシンを表し、カルボキシ末端のグリシンとホスファチジルエタノールアミンが共有結合する。ホスファチジルエタノールアミンと結合したユビキチンは脱ユビキチン酵素 Doa4 により除去される。