

# 小胞体局在還元酵素 ERdj5 の欠損が引き起こす ミトコンドリア断裂

潮 田 亮\*

## 要 旨

細胞小器官の1つである小胞体は、細胞内のカルシウムイオン ( $\text{Ca}^{2+}$ ) 貯蔵庫として働き、小胞体からサイトゾルに  $\text{Ca}^{2+}$  を放出することで、筋収縮、涙・唾液など外分泌、免疫応答、細胞死など様々な生命現象のシグナル源として重要な役割を果たす。小胞体膜上に存在する  $\text{Ca}^{2+}$  ポンプは、 $\text{Ca}^{2+}$  を小胞体内腔へと取り込み、小胞体内腔の  $\text{Ca}^{2+}$  を高濃度に、そしてサイトゾルの  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を低く保ち、細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  バランスを維持する。以前に、我々のグループは小胞体局在還元酵素 ERdj5 が小胞体の  $\text{Ca}^{2+}$  ポンプを活性化することを見出した。今回、この調節機構の破綻により、サイトゾルでの  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が定常的に上昇することで、別の細胞小器官であるミトコンドリアをバラバラに断裂し、ミトコンドリアからの活性酸素種を蓄積させることを発見した。細胞内での活性酸素種蓄積は、細胞老化を亢進させ、ミトコンドリアからのシトクロム c 放出によるアポトーシス（細胞死）を誘導し、これはアルツハイマー病をはじめとした神経変性疾患やミトコンドリア病の原因になる。今回の発見から、ERdj5 の機能を正常に維持することがミトコンドリア機能の低下を防ぎ、健康寿命の延伸につながる事が期待される。さらに、ERdj5 の機能に注目した解析は、ミトコンドリア機能の低下を原因の1つとするアルツハイマー病のような神経変性疾患など様々な疾患の治療法開発の足がかりになるのではないかと期待する。

キーワード：小胞体，ミトコンドリア，小胞体ストレス応答，カルシウムイオン，レドックス，活性酸素種

## 背景

小胞体は、生体膜に囲まれた膜系の細胞小器官で、分泌・膜タンパク質の立体構造形成（フォールディング）の場とされ、多くの分子シャペロンや酸化異性化酵素が存在し、そのフォールディングを介助する (Ellgaard *et al.*, 2003)。しかし、小胞体で全てのタンパク質が正しい立体構造を獲得出来るわけではなく、構造異常タンパク質の蓄積は小胞体ストレスを惹起させ、小胞体ストレスの亢進はアルツハイマー病に代表される神経変性疾患、糖尿病や癌など様々な病気の原因となることが知られ

---

\* 京都産業大学生命科学部先端生命科学科・京都産業大学タンパク質動態研究所

ている。

細胞は小胞体ストレス状態から回復するために、小胞体ストレス応答という巧妙な対応戦略を持つ。小胞体ストレス応答の1つとして、構造異常タンパク質を小胞体から排出し、サイトゾルのユビキチン・プロテアソーム系で分解させる小胞体関連分解が、小胞体ストレスから細胞を守るための重要な機構とされる。以前、我々のグループは、小胞体でERdj5が「還元酵素」として働くことを世界で初めて発見し、ERdj5の還元活性が異常タンパク質の小胞体関連分解に関与することを見出し、タンパク質品質管理に重要な役割を果たすことを明らかにした (Ushioda *et al.* 2008, Hagiwara *et al.* 2011, Ushioda *et al.* 2013)。その後、ERdj5の還元活性が小胞体膜上に存在するCa<sup>2+</sup>ポンプSERCA2bのポンプ活性を正に制御することを明らかにし、サイトゾルから小胞体へのCa<sup>2+</sup>の取り込みを促進していることを明らかにした (Ushioda *et al.* 2016) (図1)。これらの一連の研究から、ERdj5が小胞体内腔のCa<sup>2+</sup>濃度を高濃度に維持するために重要であることを証明した。

これまでの報告で、還元酵素ERdj5がタンパク質品質管理とCa<sup>2+</sup>制御の両方に関与し、小胞体恒常性維持に重要な働きをすることを示してきたが、ERdj5欠損によって細胞にどのような影響が観察されるのか、その生理的な重要性は明らかにされてこなかった。本研究では、ERdj5を欠損した哺乳類細胞と線虫を用い、ERdj5欠損による細胞および個体への影響を観察した (Yamashita *et al.*,

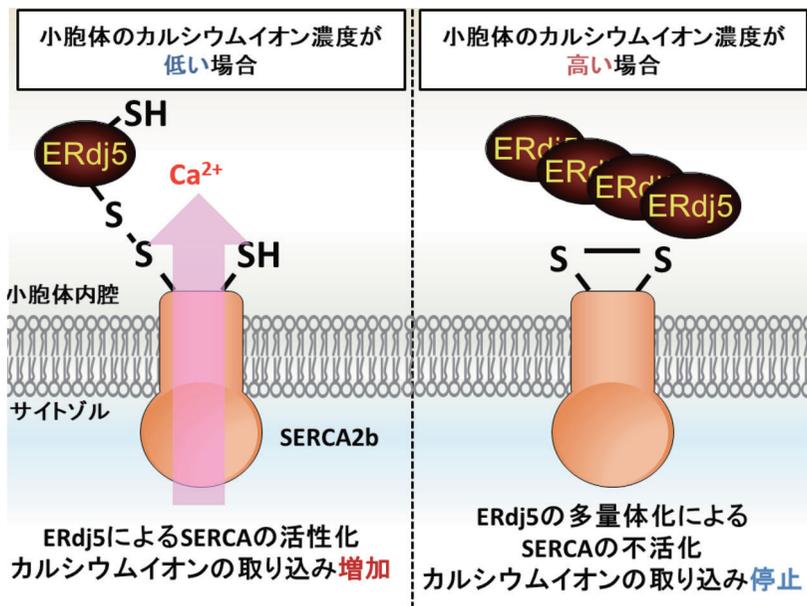


図1：ERdj5による細胞内Ca<sup>2+</sup>制御

小胞体のCa<sup>2+</sup>濃度が低いとき、ERdj5はSERCA2bに結合し、SERCA2bを活性化させる。活性化したSERCA2bはCa<sup>2+</sup>を小胞体に取り込む(図1左)。

小胞体のCa<sup>2+</sup>濃度が上昇すると、ERdj5はオリゴマーを形成し、SERCA2bから解離する。ERdj5の解離によりSERCA2bは不活化し、Ca<sup>2+</sup>の取り込みを停止する(図1右)。

2021)。

## 結果

ERdj5 の生理的な重要性を個体で観察するため、モデル生物として線虫を用い、線虫の ERdj5 (線虫では Dnj-27 と呼ばれる) を欠損させ、その影響を観察した。ERdj5 が存在する野生型の線虫では、ミトコンドリアはチューブ状に繋がった形態が観察されるが、ERdj5 を欠損させた線虫では、ミトコンドリアがバラバラに断裂することが観察された (図 2)。さらに哺乳類細胞を用いて、ミトコンドリア形態を観察したところ、ERdj5 欠損細胞でミトコンドリアの断裂が観察され、線虫でも哺乳類細胞でも同様の結果が得られた。ミトコンドリアは細胞内のエネルギー合成を担う重要な細胞小器官であり、ミトコンドリア形態は、「融合」と「断裂」のバランスによって成り立つ。しかし、過度なミトコンドリアの断裂はミトコンドリア機能を低下させ、ミトコンドリアからのシトクロム c 放出による細胞死を引き起こす。今回、ERdj5 欠損によるミトコンドリア断裂の原因が、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  の不均衡にあるのではないかと予想した。実際、ERdj5 の欠損により、小胞体膜上の  $\text{Ca}^{2+}$  ポンプ SERCA2b が活性化できなくなり、サイトゾルから小胞体への  $\text{Ca}^{2+}$  の取り込みが不十分になることで、サイトゾルの  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が 1.4 倍ほど常に上昇していることを見出した。ミトコンドリアをくびりきる因子 Drp1 はサイトゾルの  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇とともに活性化することが知られており、ERdj5 欠損細胞では、サイトゾルの  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が恒常的に上昇しており、Drp1 が活性化していることを明らかにした。これらの結果から、ERdj5 欠損によるミトコンドリアの断裂は、活性化した Drp1 が原因であることをつきとめた (図 3)。さらに、ERdj5 の欠損により過度なミトコンドリア断裂が起こっている細胞では、活性酸素種の蓄積が観察され、細胞老化の亢進が示唆された。線虫では、ERdj5 の欠損によって、線虫の個体寿命が短くなることが観察された。また、ERdj5 の欠損は、抗癌剤スタウロスポリンに対して脆弱となり、より多くの細胞でアポトーシスが起ることを見出した。

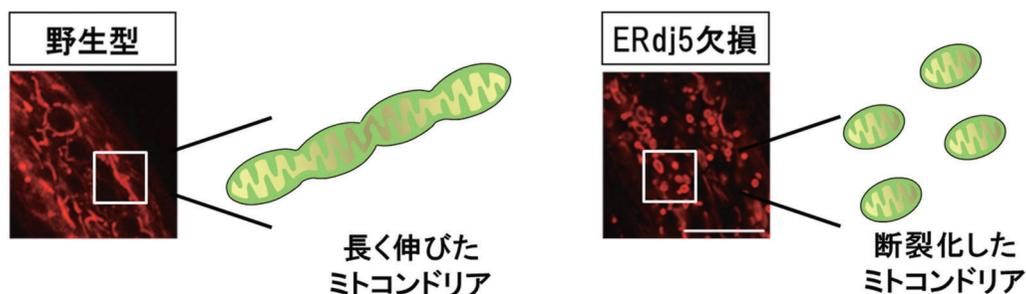


図 2：線虫の腸細胞におけるミトコンドリア形態

野生型ではミトコンドリアはネットワーク状の構造を形成している (図 2 左)。

ERdj5 のホモログを欠損した場合には、ミトコンドリアの構造がバラバラに断裂する (図 2 右)。

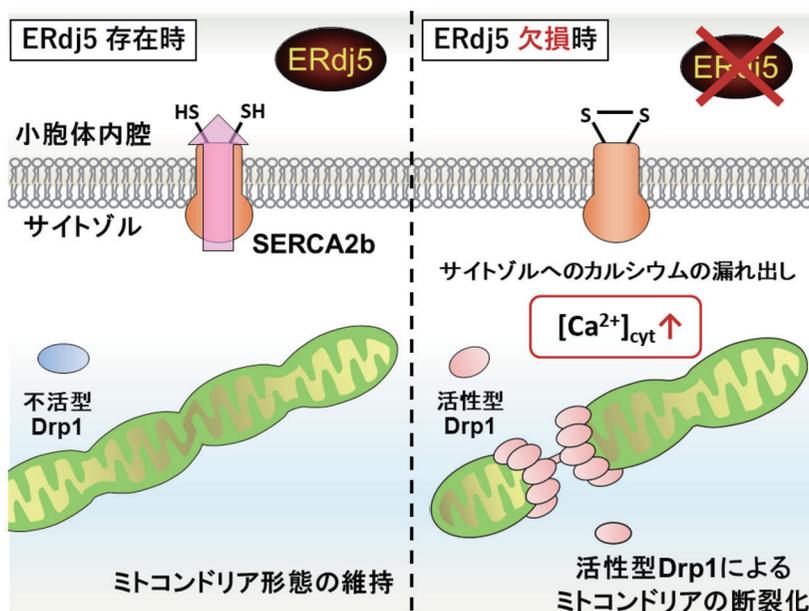


図3：ERdj5の欠損によるミトコンドリアの断裂化

ERdj5 存在下では、小胞体内腔とサイトゾルの  $\text{Ca}^{2+}$  濃度のバランスが保たれ、ミトコンドリア形態が維持されている (図3左)。ERdj5 が欠損すると、カルシウムイオン濃度の恒常性が破綻し、小胞体から  $\text{Ca}^{2+}$  が漏れ出ることによって、サイトゾルの  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が上昇する。サイトゾルの  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が上昇するとミトコンドリア「断裂」タンパク質である Drp1 が活性化し、ミトコンドリアが断裂される (図3右)。

#### 今後の展開

今回、小胞体の恒常性維持に重要な役割を果たす ERdj5 を欠損させ、細胞内での影響を観察した。その結果、ERdj5 の欠損は小胞体のみならず、ミトコンドリアの形態・機能に影響を与え、細胞老化を亢進することを見出した。ERdj5 は、小胞体内腔で還元酵素として機能するが、その活性化メカニズムは不明な点が多いのが現状である。ERdj5 がどのように酵素活性を小胞体で維持できるのか、その詳細を明らかにすることは、小胞体のみならずミトコンドリア、そして細胞全体の恒常性維持に重要である。

また、ミトコンドリアの異常断裂によるミトコンドリアの機能低下は、活性酸素種を細胞内に蓄積させ、細胞老化・個体老化を亢進すると言われている。ミトコンドリアの機能低下は、シトクロム c の放出を介したアポトーシスを引き起こし、これらの細胞死は、アルツハイマー病やパーキンソン病といった神経変性疾患の原因の1つとされている (図4)。今回の結果より、小胞体に局在する ERdj5 が正常に働くことが、ミトコンドリアの機能低下を防ぎ、関連する疾患の新たな治療法開発につながるのではないかと期待する。さらに、ERdj5 の欠損が抗癌剤スタウロスポリンに対して脆弱になることで、新たな抗癌剤開発のターゲットになる可能性もある。

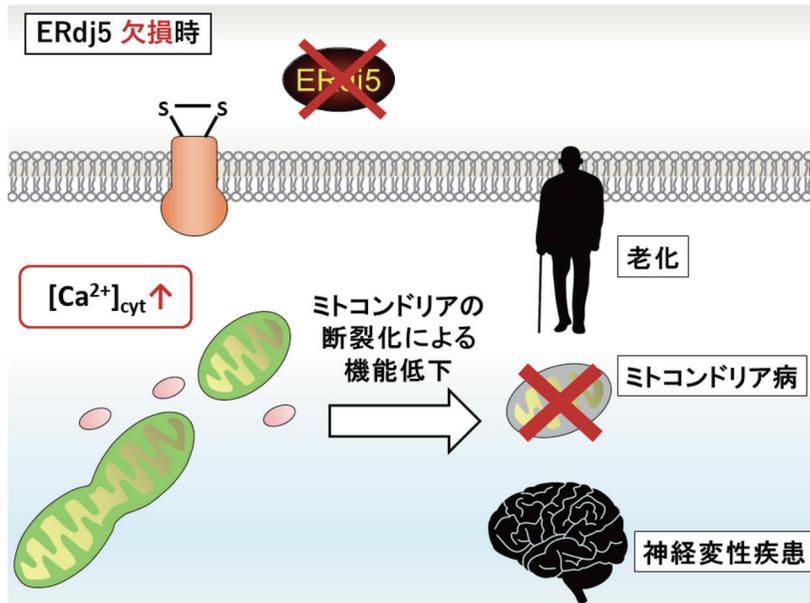


図 4 : ERdj5 の欠損を原因としたミトコンドリア断裂の影響

ERdj5 の欠損によりミトコンドリアの断裂が亢進すると、ミトコンドリアの機能が低下する。ミトコンドリア機能の低下は、エネルギーの合成量を減少させミトコンドリア病を引き起こす。また、細胞へ活性酸素種を蓄積させることで細胞老化を亢進する。細胞老化が進むとミトコンドリアからシトクロム *c* が放出され、アポトーシスが誘導される。神経細胞でのアポトーシス誘導は神経変性疾患の原因になる。

#### 参考文献

1. Ellgaard, L. & Helenius, A. Quality control in the endoplasmic reticulum. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 4, 181–191. (2003).
2. Ushioda, R. *et al.* ERdj5 is required as a disulfide reductase for degradation of misfolded proteins in the ER. *Science* 321, 569–572. (2008).
3. Hagiwara, M. *et al.* Structural basis of an ERAD pathway mediated by the ER-resident protein disulfide reductase ERdj5. *Mol Cell* 41, 432–444. (2011).
4. Ushioda, R., Hoseki, J. & Nagata, K. Glycosylation-independent ERAD pathway serves as a backup system under ER stress. *Mol Biol Cell* 24, 3155–3163 (2013).
5. Yamashita, R., Fujii, S., Ushioda, R., & Nagata, K. Ca<sup>2+</sup> imbalance caused by ERdj5 deletion affects mitochondrial fragmentation. *Sci. Rep.* 11, Article number 20772 (2021)

# Mitochondrial fragmentation by the deletion of ERdj5, an ER resident disulfide reductase.

Ryo USHIODA

## Abstract

The endoplasmic reticulum (ER), a eukaryotic cell organelle, serves as an intracellular reservoir of calcium ions ( $\text{Ca}^{2+}$ ).  $\text{Ca}^{2+}$  release from the ER to the cytosol plays an important role as a second messenger in various biological phenomena such as muscle contraction, exocrine secretions such as tears and saliva, immune response, and cell death.  $\text{Ca}^{2+}$  pumps on the ER membrane uptake  $\text{Ca}^{2+}$  into the lumen of the ER, maintaining high ER  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations and low cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations to keep intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  balance. Previously, our group found that the ER-localized reductase ERdj5 activates SERCA2b, the ER  $\text{Ca}^{2+}$  pump. In this study, we found that disruption of this regulatory mechanism causes a steady increase in the  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in the cytosol, which fragments mitochondria and causes to release of reactive oxygen species (ROS) from mitochondria. Accumulation of ROS in cells accelerates cellular senescence and induces apoptosis (cell death) due to cytochrome c release from mitochondria, which causes neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease. Based on this finding, it is expected that maintaining the normal function of ERdj5 will prevent the deterioration of mitochondrial function and lead to the extension of healthy life expectancy. Furthermore, we expect that analysis focusing on the function of ERdj5 will lead to the development of treatments for various diseases, such as neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease, which are caused by decreased mitochondrial function.

**Keywords :** Endoplasmic Reticulum, Mitochondria, Unfolded protein response, Calcium ion, Redox, Reactive oxygen species