

## サイエンスネット

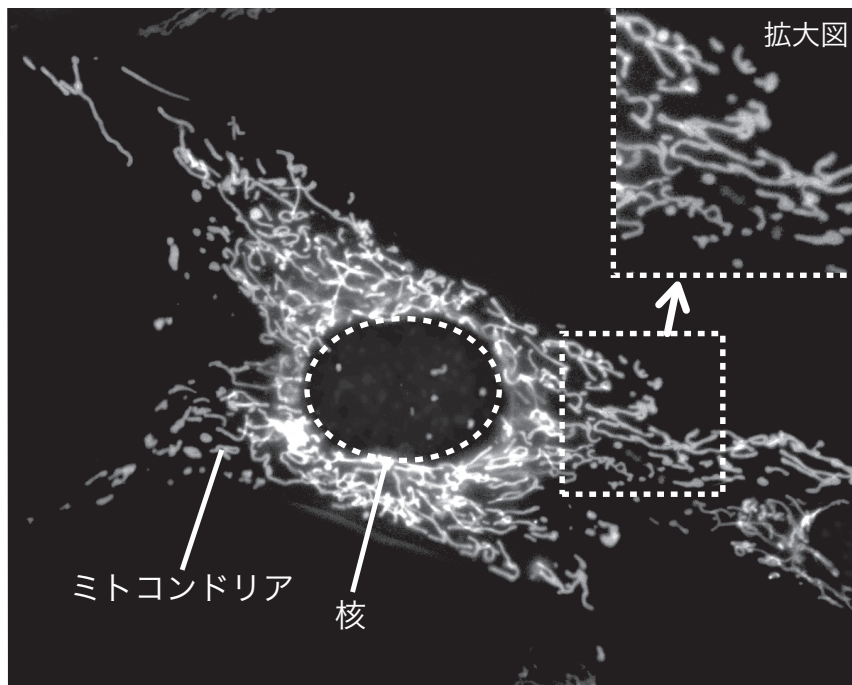
物(化)生(地)...

数研出版株式会社

SCIENCE NET

Contents

- ▶ 特集1 / 石原 直忠…2      ▶ 特集3 / 小笹哲夫 他…10  
▶ 特集2 / 岩谷 素顕…6      ▶ コラム / 長谷川靖哉 …14



## マウス線維芽細胞のミトコンドリア

久留米大学 分子生命科学研究所 石原直忠教授

教科書で扱われているモデル図では、ミトコンドリアは回転楕円体の構造として示されていることが多い。しかし哺乳動物細胞内では、ミトコンドリアは必ずしも「まめ」のような形をしているわけではない。写真は、マウス胎児由来の線維芽細胞のミトコンドリアを GFP で可視化し、生きたまま観察したものである。この写真には、培養皿の底に接着した 1 つの細胞の中のミトコンドリアが示されている。拡大図でよく見えるように、ミトコンドリアは細長く、また枝分かれしたネットワーク構造として観察される。

## ミトコンドリアのダイナミクスとその役割

久留米大学 分子生命科学研究所 教授 石原 直忠

### 1. 多彩な機能をもつ細胞小器官、ミトコンドリア

ヒトを含む多細胞生物はすべて真核細胞から成り立っている。真核細胞の内部は生体膜により細かく分けられており、それぞれの区画が役割分担することで、きわめて多くの反応を制御しつつ同時に進められるようになってきている。これらの膜区画は細胞小器官とよばれており、そのひとつであるミトコンドリアは呼吸によりエネルギー生産を行っている。呼吸は、ミトコンドリアのマトリックス(内膜の内側領域)のクエン酸回路、さらに内膜の電子伝達系による酸化リン酸化により、酸素を用いて生体のエネルギー通貨である ATP を合成する反応である。一方、現在の高校教科書にはあまり記載されていないが、ミトコンドリアは「細胞内の発電所」としてエネルギーを生産する以外にも多くの機能もっている<sup>1)</sup>。例えば「化学工場」及び「処理工場」としての機能もっており、アミノ酸や脂質・鉄及び鉄を含むヘム・ステロイドホルモンなど、さまざまな物質の合成と分解の場として、生体内の代謝制御において重要なたらしきをしている。またミトコンドリアは活性酸素種(ROS)の主要な発生源でもある。さらに、細胞の制御においても重要な機能を持ち、細胞死(アポトーシス)や、細胞内のカルシウム応答にもかかわっている。

このように、ミトコンドリアは細胞の生命活動の維持と死を同時につかさどる多彩な機能をもつ細胞小器官であり、近年生命科学や医学の広い分野から再び注目され研究が進められるようになった。

### 2. 哺乳動物細胞のミトコンドリア

ミトコンドリアは動物・植物を問わず真核細胞に共通に存在する二重膜構造の細胞小器官である。高校教科書で扱われている真核細胞のモデル図では、ミトコンドリアは回転楕円体の構造として示されていることが多い。しかし生きた細胞内では、ミトコンドリアは必ずしもこのような「まめ」のような形をしているわけではない。表紙の写真は、マウス胎児

から構築した線維芽細胞(MEF)のミトコンドリアを生きたまま観察した顕微鏡像である。右上の拡大図でよく見えるように、生きた哺乳動物培養細胞内では、ミトコンドリアは細長く、また枝分かれしたネットワーク構造として観察される。さまざまな長さのミトコンドリアが同じ細胞内に同時に観察されており、ミトコンドリアは不定形の構造であることがわかる。筆者が大学院在学時に初めて自分の目でミトコンドリアを観察したときには、教科書のモデル図との違いに大きな衝撃を受けた。しかし元来、ミトコンドリアは光学顕微鏡での観察により見いだされ名づけられたものであり、「ミト(mito)」はギリシャ語で「糸」を示す言葉である。発見当初よりミトコンドリアは糸状の構造であることが知られていたが、その後の電子顕微鏡による観察において、組織切片中のミトコンドリアの断面図が頻りに観察されたことから、楕円体のミトコンドリアのイメージが定着したらしい。しかし近年の生細胞観察や、立体的に電子顕微鏡観察する技術により、ミトコンドリアの形態が見直されつつある。

### 3. ミトコンドリアのダイナミクス

表紙写真のように、線維芽細胞では長いミトコンドリアが観察されたが、主に短いミトコンドリアをもつ細胞を含む組織もある。このように、細胞分化によってミトコンドリアの形態は大きく変化するが、その分子機構(どのようにミトコンドリアの形態は変化するのか?)とその意義(なぜミトコンドリアの形態が変わるのか? 変わらないとどうなるのか?)は最近までほとんどわかっていなかった。近年の顕微鏡の自動化、カメラ・検出器の高感度化、蛍光試薬・蛍光タンパク質の整備などの生細胞観察技術の向上により、比較的容易に生きたミトコンドリアの構造変化を観察できるようになり、ミトコンドリアの動的特性の理解が急速に進んだ。ヒト由来の HeLa 細胞のミトコンドリアを培養しながら経時的に撮影すると、ミトコンドリアが細胞内で活発に動き、構造を変化させる動画を作成することもできる<sup>2)</sup>。図

1a は経時的に撮影した画像を示している。この動画では、細長いミトコンドリアがちぎれたり(分裂: 矢頭▼)、また2つのミトコンドリアがくっついたり(融合: 矢印↓)する様子が頻りに観察される。我々は、この2つのミトコンドリアがくっついた状態は、単なる接触ではなく、外膜と内膜がそれぞれ融合していることを確認した<sup>3)</sup>。まず、一方の細胞のミトコンドリアの内部を緑に、もう一方の細胞のミトコンドリアの内部を赤に可視化した細胞をそれぞれ用意して、これらを細胞融合させた。すると融合した細胞では、2色のミトコンドリアの蛍光が時間と共に一致した分布を示すようになった(図1b)。これにより、ミトコンドリア膜が融合して内容物が混合していることを実験的に顕微鏡下で観察できた。これらの生細胞観察実験により、哺乳動物培養細胞のミトコンドリアは活発に融合と分裂を繰り返していることが明らかになった。

### 4. ミトコンドリアの融合と分裂に機能する因子

ミトコンドリアは細菌の共生を起源としており、共生前には細菌型の細胞分裂装置をその内部にもっていたと考えられる。しかし、酵母や動物のミトコ

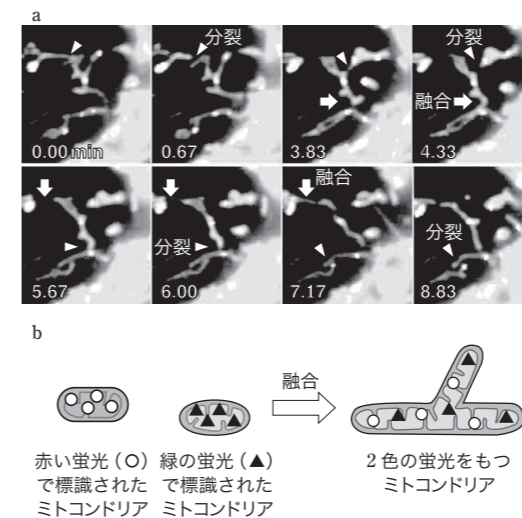


図1 (a) HeLa 細胞の中のミトコンドリアの融合と分裂の生細胞観察。矢頭は分裂を、矢印は融合を示している。この元となる動画は、<http://www.pnas.org/content/110/29/11863.long?tab=ds> において見ることができる(mov 6)。 (b) ミトコンドリア融合の解析実験のモデル図。2つの細胞のミトコンドリアをそれぞれ異なる蛍光タンパク質で標識し、細胞融合すると、2色の蛍光が一致することで、ミトコンドリアの融合を生きた細胞内で観察できる。

ンドリアは進化の過程で自身の細菌型の分裂機構を失い、かわりに真核細胞特異的な分裂機構を獲得したと考えられている。現在までに、ミトコンドリアの融合と分裂の制御には、核ゲノムにコードされている3つのグループのGTP加水分解酵素群が機能することがわかっている。このミトコンドリア分裂因子を不活化させると、融合のみが進行するためつながった長いミトコンドリアのネットワークが形成され、細胞内のミトコンドリアがほぼ1つにつながってしまう(図2左)。逆にミトコンドリアの融合因子を不活化させた細胞では、分裂のみが進むため、短く独立したミトコンドリアの数が増加する(図2右)。これらの結果から、「ミトコンドリアの形態は、融合と分裂のバランスによって制御されている」との基本概念が理解された<sup>4)</sup>。このミトコンドリアの融合と分裂のバランス変化が、ミトコンドリアが関与するさまざまな生命現象や病態に関与する可能性が考えられ注目されている。それではなぜ、ミトコンドリアは活発に構造を変化させるのだろうか?

### 5. ミトコンドリア融合の意義

動物でミトコンドリア融合にかかわる因子が最初に見いだされたのは、ハエの精子形成が異常となる雄性不稔変異体からだった<sup>5)</sup>。昆虫の精子形成過程では、ミトコンドリアが集合し、融合して巻きついた特殊な構造体をつくることが知られている。この構造ができない変異体の原因遺伝子として、ミトコンドリア外膜の融合にはたらく遺伝子が同定された。この遺伝子は、酵母・カビなどの単細胞真核生物から動物まで保存されており、その後広くミトコンドリア融合の研究が始められる契機となった(なお、現時点では植物に相同因子は見つかっておらず、い

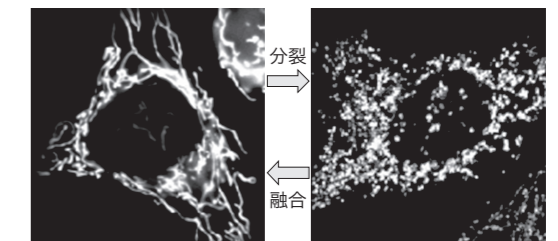


図2 ミトコンドリアの形態は融合と分裂のバランスにより制御される。

まだにミトコンドリア外膜融合にはたらく因子は発見されていない。間もなくして、この遺伝子の変異がヒトの神経変性疾患の原因となることがわかり、さらに遺伝子欠損マウスが作出されたことで、ミトコンドリアの融合が初期発生や神経機能維持に重要であることが示された。またミトコンドリア融合が停止した培養細胞では、ミトコンドリアが短くなり、呼吸活性が弱くなるため、ミトコンドリアの融合はその活性維持に重要である機能をもつことが明らかになっている。

## 6. ダイナミクスによる ミトコンドリアの品質管理

ミトコンドリアの融合と分裂の役割として、近年「ミトコンドリアの品質管理」について活発に研究が進められている。酸化ストレスは、神経変性疾患・代謝疾患や老化などのさまざまな生命現象に関与している。ミトコンドリアは呼吸の副産物として活性酸素種を発生するため、ミトコンドリア自身も障害される。そこで、障害を受けたミトコンドリアの融合を止めることで細胞内のミトコンドリアネットワークから隔離し、さらに切り分けたミトコンドリアのみ分解することで障害を排除できるのではないかと考えるようになった(図3)。特に近年、神経変性疾患である家族性パーキンソン病の原因因子群が、障害ミトコンドリアを特異的に分解するはたらきをもつことが見いだされた<sup>6)</sup>。この反応はミトコンドリア特異的なオートファジーとして「マイトファジー(ミトファジー)」とよばれている。パーキンソン病以外の神経変性疾患にもミトコンドリアが密接に関与することが明らかになりつつあるが、現時点ではパーキンソン病の原因に直接マイトファジーが

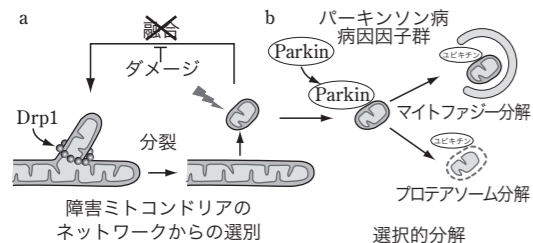


図3 ミトコンドリアの品質管理のモデル図 (a) ミトコンドリアの融合と分裂のサイクルの中で、障害を受けたミトコンドリアだけがネットワークから選別される。(b) 障害を受けたミトコンドリアが選択的に分解されることで、ミトコンドリアの機能を正常に保つ。

かかわるか、はっきりわかっておらず、今後の研究進展が期待されている。

## 7. ミトコンドリア分裂の意義

ミトコンドリアの分裂に機能する遺伝子も同定されており、酵母・カビ・藻類から高等動物・植物に至るまで広く保存されている。この遺伝子を欠損したマウスは胎児期致死となり、またこの遺伝子の突然変異をもつ重篤な病態も報告されていることから、初期発生に重要な機能をもつことがわかっている(図4a)。

高校教科書では「ミトコンドリアは細胞内で分裂によって増える」とされており、ミトコンドリア分裂を抑制すると生体に大きな影響が見られて当然のように思われるかもしれない。しかし、この記事は酵母や哺乳動物培養細胞に関していうと、必ずしも正確ではない。上記のミトコンドリア分裂に機能する遺伝子を欠損した酵母は正常に生育し、呼吸活性も正常である。哺乳動物培養細胞でもミトコンドリアの活性は十分に維持される。またこのとき、ミトコンドリアは分裂できなくてもその量は維持されており、分裂できなくても長く伸びることで増殖が可能である(図4b)。このことから細胞内で活発に観察されるミトコンドリアの分裂は、必ずしもすべての細胞に必須な反応ではないことがわかる。それではなぜ、個体レベルでは分裂が重要となるのだろうか？

我々を含む複数のグループの研究から、ミトコンドリア分裂は神経細胞において重要な機能をもつことが明らかになっている。神経細胞でミトコンドリア分裂を停止させると、巨大化したミトコンドリアの配置が異常となり、神経変性死となる(図4c)。神経細胞はきわめて長い神経突起をもち、ミトコンドリアを含む細胞内構造を積極的に輸送し配置する必要があるため、分裂して小さなミトコンドリアの数を増加させることで、ミトコンドリアを適切に配置しやすくしていると考えられる<sup>4)</sup>。この結果は、分化した細胞の特性によってミトコンドリアダイナミクスの要求性が変化することを示している。この成果をふまえて、筆者らの研究グループはさまざまな特徴的な細胞の解析を進め、ミトコンドリアダイナミクスの本質を明らかにしたいと考えている。

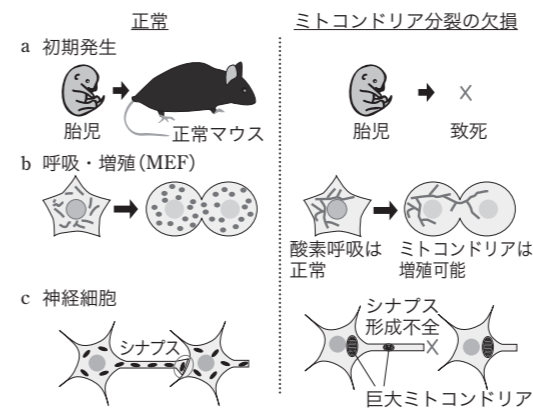


図4 哺乳類のミトコンドリア分裂の機能のモデル図

## 8. 卵におけるミトコンドリアの ダイナミクス

マウスのさまざまな分化組織の研究を進める中で、最近筆者らは、ミトコンドリアの動的変化が卵の成熟、及び老化に関与していることを発見した<sup>7)</sup>。ミトコンドリアは卵の老化に関与しているが、卵の内部でミトコンドリアの形態を制御するしくみはほとんど知られていなかった。そこで、① マウス卵のミトコンドリア分裂を停止させたところ、細胞内のミトコンドリアが凝集し集められた構造が形成された(図5c)。この構造は、ミトコンドリアと小胞体の接触を介してさまざまな細胞小器官が集められたものだった。② 一方、老化したマウスの卵のミトコンドリアを観察したところ、若い卵と比較してミトコンドリア分裂が弱くなっており、上記①でのミトコンドリアが分裂できない卵と類似した凝集構造が観察された(図5c)。③ このミトコンドリア分裂できない卵は、細胞応答や、卵と周辺環境とのコミュニケーションが異常となっており、その結果、卵の成熟が停止し不妊となることがわかった(図6)。これら①~③の結果から、卵が健康に維持され正常に発育するには、ミトコンドリアが分裂し適切に変形する必要があることが明らかになった。卵の老化の分子機構には不明な点が多く残されているが、今回ミトコンドリアの形態に注目することで、卵の老化にかかわる新しい視点を提案することができた。今後のさらなる研究により、生殖医療への応用(卵の質を評価するための検査手法、あるいは質を改善させる治療法など)につながることを期待される。

このようにきわめて多彩な機能をもつミトコンドリアのダイナミクスに注目して研究を進めることで、分化細胞に独特なミトコンドリアの特性が明らかになりつつある。今後、分化組織や病態でのミトコンドリアを解析することで、生物の成り立ちの基本原則の理解を進め、病態理解をさらに進めることができるかもしれない。おもしろくて役に立つ、不思議なミトコンドリアの動きを今後も眺め続けていきたい<sup>8)</sup>。

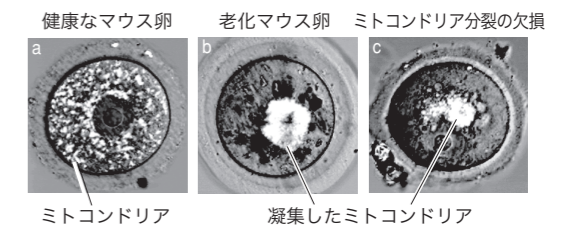


図5 卵のミトコンドリアの形態観察

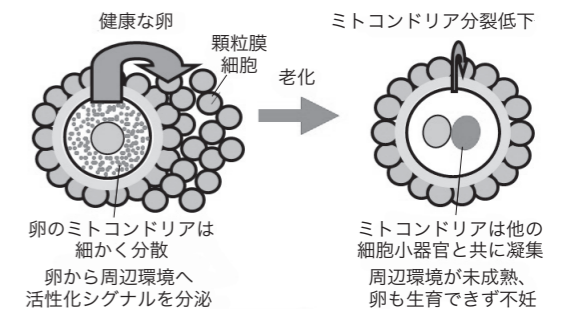


図6 卵のミトコンドリア分裂の役割を示したモデル図

## 謝辞

本解説文は、筆者を研究に導いた半田高校の藤井真理子先生(現東海南高校)に感謝と共に捧げます。

## 参考文献

- 1) 瀬名秀明, 太田成男. ミトコンドリアのちから. (新潮文庫, 2007)
- 2) R. Ban-Ishihara *et al*, PNAS. 110:11863-11868 (2013)
- 3) N. Ishihara *et al*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 301: 891-898 (2003)
- 4) 細胞工学 29 巻 5 号特集, 監修 石原直忠(2010)
- 5) 伴匡人ら, 化学と生物 53: 27-33 (2015)
- 6) 医学のあゆみ 250 巻 7 号特集, 監修 水島昇(2014)
- 7) O. Udagawa *et al*, Curr. Biol. 24: 2451-2458 (2014)
- 8) 研究室ホームページ: <http://mitochondria.jp/>