

【総説】

ユビキチン化を介したミトコンドリア機能制御

伊藤 直樹¹、椎葉 一心^{1,2}、三ツ堀 樹大¹、柳 茂²

¹ 東京薬科大学大学院 生命科学研究科

² 学習院大学 理学部 生命科学科

要約

ミトコンドリアはエネルギー産生のみならず、カルシウム濃度の調節、細胞死制御、代謝制御、免疫応答、熱産生など多彩な役割を担っている。これらのミトコンドリアの重要な生理機能はそのダイナミックな挙動や形態変化と連動していることから、近年、ミトコンドリアダイナミクス制御が活発に研究されている。特にミトコンドリアと小胞体は近接することによって、物質交換のみならず様々なシグナル伝達の足場として機能することが明らかとなり、オルガネラ間の調節機構の重要性が注目されている。また、ミトコンドリアダイナミクスの破綻はミトコンドリアの品質管理の低下を招き、神経変性疾患など様々な病態と関連していることから、病態の解明および治療の標的として期待されている。本稿では私たちの研究テーマであるミトコンドリア膜上でのユビキチン化を介した調節機構を中心にミトコンドリアダイナミクス制御と品質管理、病態との関連について概説する。

キーワード： MITOL/MARCH5、ミトコンドリアダイナミクス、ユビキチン化、タンパク質品質管理、ミトコンドリア-オルガネラ膜接触

1. はじめに

ミトコンドリアは外膜と内膜の2枚の生体膜と独自のDNAを有し、活発に融合と分裂を繰り返している。他のオルガネラにはないこれらの特徴は、ミトコンドリアが好気性バクテリアに由来することを示し、細胞内共生説の根拠となっている。進化の過程でミトコンドリアの機能はエネルギー産生にとどまらず様々な機能が付加されたと考えられる。最近では、膜接触を介して小胞体を始めとする他のオルガネラと連携していることや、抗ウイルス免疫のシグナル伝達、ゲノムの損傷を引き起こすレトロトランスポゾン抑制するPIWI結合性RNA (PIWI-interacting RNA, piRNA) の生合成が外膜上で行われていることが報告されている^[1, 2]。このような多彩な役割を調節するミトコンドリア膜上でのシグナル応答制御および管理機構が注目されている。

ユビキチン化はタンパク質の品質管理および活性制御に機能する翻訳後修飾である。私たちが2006年に発見したMITOL (別名: MARCH5) は、ミトコンドリア外膜を4回貫通した構造をもつE3ユビキチンリガーゼである^[3](図1)。MITOLのN末端のRINGドメイン(触媒領域)は細胞質側に向いており、ミトコンドリア外膜上の基質を認識する。私たちがこれまでにMITOLによってユビキチン化される基質を複数発見してきたが、その中には小胞体膜に局在するものもある。MITOLに

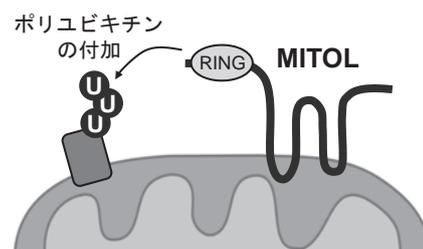


図1 MITOLの構造
MITOLはミトコンドリア外膜を4回膜貫通して局在するE3ユビキチンリガーゼである。細胞質側を向いたN末端にRINGドメイン(触媒領域)をもつ。

連絡先：柳 茂

〒171-8588 東京都豊島区目白1-5-1

TEL：03-5904-9457

FAX：03-5992-1029

E-mail：shigeru.yanagi@gakushuin.ac.jp

よるユビキチン化はいずれもミトコンドリア機能の維持や活性化に関与する。本稿ではミトコンドリア膜上におけるユビキチンシグナルの意義について紹介し、私たちの最新知見を踏まえてMITOLを標的とした疾患治療の可能性を考察する。

2. ミトコンドリアダイナミクス

ミトコンドリアは融合と分裂を繰り返しながら動的にその形態を変化させる。ミトコンドリアダイナミクスはエネルギー産生に連動しており、大量のエネルギーを産生する時は融合状態となり、エネルギー産生を抑制する時は分裂状態となる^[4]。また、不良ミトコンドリアを排除する時はミトコンドリアを分裂させることにより、スムーズなマイトファジーの実行を可能にしている。このようにミトコンドリアダイナミクスはエネルギー需要への対応とミトコンドリア機能の維持に必須の役割をしている。ミトコンドリア膜の融合と分裂はGTP加水分解酵素 (GTPase) 活性をもつタンパク質群が制御している。Mfn1/2とOPA1はそれぞれ外膜と内膜の融合に関与している。一方、分裂には細胞質に存在するDrp1が関与しており、Drp1をミトコンドリア外膜に局在化させる受容体としてMFFやMiD49/51が同定されている^[5]。これらのミトコンドリア形態の調節因子群はリン酸化やユビキチン化、S-ニトロシル化など様々な翻訳後修飾を介して厳密に調節されている。ミトコンドリアダイナミクス制御の破綻はミトコンドリア機能の低下を誘発して、神経変性疾患や心不全などの様々な老化関連疾患の病態と密接に関連している。

MITOLの基質として最初に同定されたのはミトコンドリアの分裂因子Drp1である^[3,6]。その後、Drp1のレセプターであるMiD49も基質として報告された^[7]。よって、MITOLはこれら基質のプロテアソームによる分解を促進し、異常な蓄積を抑制することでミトコンドリアの過剰分裂を防いでいる (図2)。MITOLの発現を抑制すると、老化マーカーであるβ-ガラクトシダーゼで染色される老化細胞が有意に増加するが、Drp1の蓄積を抑制しておくことで細胞老化の表現系が部分的にレスキューされる。同様に、心臓特異的にMITOLを欠損させたマウスの心筋において、心臓老化の表現系であるβ-ガラクトシダーゼの染色領域の拡大、広範なりポフスチ

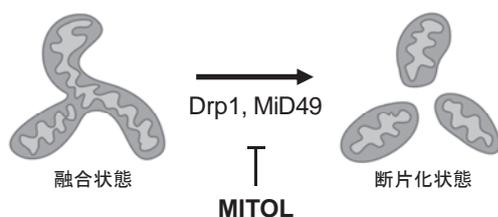


図2 ミトコンドリア過剰分裂の抑制
ミトコンドリア分裂に関与するDrp1およびMiD49のプロテアソーム分解を誘導することで、MITOLは過剰分裂によるミトコンドリアの断片化を防いでいる。

ンの沈着と線維化の亢進が認められたが、Drp1の阻害剤 (Mdivi-1) を腹腔投与しておくことで、これらの心臓老化の表現系が部分的にレスキューされた [未発表論文]。これらの結果は、MITOLの機能低下がDrp1の蓄積によるミトコンドリアダイナミクスの破綻を誘発し、細胞老化や臓器老化を引き起こすことを示唆している。

3. ミトコンドリア品質管理

1) ミトコンドリアタンパク質の輸送管理

ミトコンドリア内部で機能するタンパク質は細胞質リボソームで前駆体として合成され、外膜トランスロカーゼ (translocase of the outer membrane, TOM) 複合体がつくるチャンネルを通過して内部へと運び込まれる^[8]。近年、酵母を用いた研究により、小胞体関連分解 (endoplasmic reticulum-associated degradation, ERAD) に似た機構がミトコンドリアにも存在することが明らかになった^[9]。mitoTAD (mitochondrial protein translocation-associated degradation) と命名された同機構は、TOM複合体を継続的に監視して、搬入中に移動が停止した前駆体タンパク質の除去を促進する。私たちは以前からMITOLの結合分子のスクリーニングにおいて、ミトコンドリア内膜やマトリックスに局在するタンパク質が検出されることに疑問をもっていたが、最近、哺乳類におけるmitoTAD様の機構にMITOLが関与することが報告されている^[10]。TOM複合体を通過するTMM65など、ミトコンドリア内膜タンパク質の前駆体はMITOLによってユビキチン化されており、ミトコンドリア局在性の脱ユビキチン化酵素であるUSP30は、そのユビキチン化を解除してTOM複合体を介したタンパク質の運搬を促進する。USP30が欠損するとTOM複合体に前駆体タンパク質が蓄積し、プロテアソーム分解が誘導される。一方で、MITOLを欠損しても前駆体タンパク質のユビキチン化は完全には消失しなかったことから、ミトコンドリアに局在するMUL1など他のユビキチンリガーゼの関与も推測されている。

2) 変性タンパク質の除去機構

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、脊髄小脳変性症 (spinocerebellar degeneration, SCD) などの多くの神経変性疾患において、変性タンパク質の集積が病態の発症と深く関わっている。ALSの原因遺伝子産物の一つである変異型SOD1 (mSOD1) は、タンパク質構造の変化により凝集しミトコンドリア外膜に蓄積する。一方、SCDは別名ポリグルタミン病とも呼ばれ、ポリグルタミン鎖が異常伸長することによって変性し、凝集タンパク質polyQとなってこれら核内やミトコンドリアに蓄積する。蓄積したmSOD1、polyQによってミトコンドリアのタンパク質輸送などが障害されミトコンドリア機能低下を引き起こすことが、神経毒性メカニズムの一つとして考えられている^[11]。以前私たちは、MITOLがmSOD1、polyQを認識してユビキチン化し、プロテアソーム分解に導くことを見出した^[12,13]。

MITOLの発現を抑制した神経由来の細胞株に mSOD1、polyQ を発現させると、ミトコンドリアに過剰蓄積して細胞死を引き起こした。興味深いことに、マウスの脳や心臓など多くの臓器では MITOL の発現が加齢とともに低下することが確認されている。したがって、MITOL の発現低下による変性タンパク質の分解不全が、加齢によって神経変性疾患が発症する一因になると考えられる(図3)。マウス ES 細胞において、MITOL は転写因子 Klf4 によって発現誘導されていることが報告されているが^[14]、生体において MITOL の発現調節に関与するかは不明である。今後、MITOL の発現機構の解析を通して、MITOL の活性化を標的にした新たな疾患治療薬の開発が期待される。

私たちは、アルツハイマー病 (Alzheimer's disease, AD) に着目し、MITOL との関連について解析を行った。AD は最もよく知られる老化関連疾患だが、有効な治療法は未だに確立されていない。AD はアミロイドベータ (amyloid beta, Aβ) やリン酸化タウの細胞内蓄積、Aβ凝集物の細胞外蓄積を特徴とする疾患であり、これらのタンパク質蓄積が神経細胞死や認知機能低下を誘導すると考えられている^[15]。多くの研究において AD 患者脳内でのミトコンドリア機能障害が認められており、発症初期の特徴として広く知られている^[16]。AD におけるミトコンドリア機能障害は Aβ のミトコンドリア膜への蓄積によって惹起されることが報告されている^[17]。そのメカニズムは未解明な点が多いが、近年ではミトコンドリア移行シグナルを切断してミトコンドリアタンパク質の成熟を促す PreP/Cym1 が、Aβ によって機能不全に陥り、ミトコンドリア内部に未成熟タンパク質が蓄積することでミトコンドリア機能障害が起こることが明らかとなった^[18]。また、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) の前駆体であるニコチンアミドリボシドを添加すると、NAD⁺/SIRT1 経路が活性化され、プロテアーゼやシャペロンといったミトコンドリアストレス応答分子や呼吸鎖複合体の発現が上昇し、Aβ 蓄積の抑制ならびに認知機能障害の改善が報告されている^[19]。ミトコンドリア機能維持は Aβ の凝集体形成および Aβ を介した細胞傷害を抑制できることを示唆している。したがって、ミトコンドリア機能は老化と非常に密接な関係にあり、ミト

コンドリアの機能不全は AD の発症リスクを高めると推測できる。

近年実施された AD 患者と健常者を対象としたスクリーニングで、AD 患者において MITOL の発現が顕著に低下していることが見出された^[20]。そこで私たちは MITOL 神経特異的欠損マウスと家族性 AD モデルマウスを掛け合わせ MITOL 欠損 AD モデルマウスを作製し、MITOL 欠損に伴うミトコンドリア恒常性の破綻が AD 病態にどのような影響を及ぼすのか検討を行った。その結果、MITOL 欠損 AD モデルマウスでは通常の AD モデルマウスと比較してミトコンドリア機能の低下と著しい認知機能の悪化が認められた [未発表論文]。その原因として Aβ 線維がもつオリゴマー産生の増大による毒性の高い Aβ オリゴマーの蓄積が認められた (図3)。ミトコンドリア機能障害が AD 様病態の顕現に先立って発生していることを鑑みると、AD 病態の進行に伴うミトコンドリア機能の低下を防ぐことは、発症までに数十年の歳月を要する AD への新たな予防戦略になるだろう。

3) 機能不全ミトコンドリアの除去機構

近年、機能不全に陥ったミトコンドリアはマイトファジーと呼ばれる選択的オートファジーにより分解されることが明らかとなった^[21] (図4)。さらに、2008 年にはマイトファジーの実行因子としてパーキンソン病原因遺伝子である E3 ユビキチンリガーゼ Parkin が発見され爆発的に解析が進んだ^[22]。現在では Parkin を欠損させてもマイトファジーが起きることから、Parkin 依存性マイトファジーと非依存性マイトファジーに大別されることが多い。マイトファジーと老化との関連についてはまだ結論はついていないが、老化による活性酸素の増加が老化関連因子 p53 の蓄積を誘導し Parkin の機能を減弱させ、マイトファジーが停滞するとの報告がある^[23-25]。事実、老化に伴いミトコンドリア量は増加することから^[26]、加齢や老化過程においてマイトファジーの機能が低下していることが推測できる。ただし、単に応答反応としてミトコンドリア生合成が増えた可能性は否定できない。

最近では、加齢、老化に伴い発現が低下する S-ニトログルタチオン還元酵素 (S-nitrosoglutathione



図3 MITOL 発現低下と神経変性疾患

MITOL を発現抑制すると mSOD1 や polyQ の分解が停滞し、またメカニズムの詳細は不明だが、間接的な経路により Aβ オリゴマーの増加がみられた。

加齢による MITOL の発現量低下は神経変性疾患の発症原因となる可能性がある。

reductase, GSNOR) の欠損マウスの解析により、Parkin の過剰な S- ニトロシル化がマイトファジーの機能低下を引き起こすことが明らかとなった^[27]。実際に加齢性疾患である孤発性パーキンソン病患者でも Parkin の過剰な S- ニトロシル化が検出されることから^[28]、老化・加齢に伴うレドックス変容とミトコンドリアの関係に注目が集まっている。GSNOR 欠損マウスでは S- ニトロシル化 Drp1 の蓄積が確認され過剰なミトコンドリア分裂を誘導することが示されている。一方で、老化細胞ではミトコンドリアが融合状態に傾く傾向にあり^[29, 30]、隔離膜 (オートファゴソーム) で囲みづらくなることがマイトファジーの停滞につながるのではないかと考えられている^[31]。このように、老化過程における個体と細胞レベルのミトコンドリアダイナミクスについては未だ議論の余地があり、それに付随しマイトファジーへの影響を考慮しなければならない。MITOL は Drp1 や微小管安定化タンパク質 (MAPIB-LC1) の S- ニトロシル化体を制御できることから^[32]、機能不全ミトコンドリア除去に応答するのではないかと考えている。実際に、私たちは MITOL がミトコンドリアの膜電位低下依存的に Parkin を制御しマイトファジーを調節する結果を得ている [未発表論文]。老化に伴う MITOL の活性変化やマイトファジーに与える影響およびミトコンドリア膜上でのユビキチンシグナルの変容については今後の課題である。

4. ミトコンドリアと他のオルガネラ膜接触

1) ミトコンドリア-小胞体膜接触の制御

ミトコンドリアと小胞体は活発なコミュニケーションを行っており、1950 年代に初めて両者の膜接触が観察されて以来、その機能解析が進められてきた^[33-36]。ミトコンドリアと小胞体の膜接触部位 (mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane, MAM) は Ca^{2+} シグナル伝達、脂質輸送、小胞体ストレス応答、アポトーシス、マクロオートファジーなどの多くの細胞内イベントの要所となっている^[37]。そのため、MAM の崩壊はミトコンドリアの機能低下のみならず、細胞内シグナル伝達の不調を引き起こし、老化および加齢に関連する疾患の発症原因となる^[38]。近年私たちは、MITOL が MAM にも豊富に存在することに着目し、MAM における MITOL の生理的役割を探ってきた。実際に MITOL を発現抑制すると、ミトコンドリアと小胞体の相互作用が阻害されることが観察されていた。Mfn2 はミトコンドリアの融合因子として同定されていたが、2008 年ミトコンドリアと小胞体の双方に局在する Mfn2 同士が結合することで MAM 形成に働くことが報告された^[39]。しかしながら MAM 形成における Mfn2 の制御機構は不明であった。MITOL の結合分子として Mfn2 が同定されたことから、両者の相互作用について検討したところ、MITOL は小胞体ではなく、ミトコンドリアに局在する Mfn2 を特異的にポリユビキチン化することがわかった^[40]。さらに、このポリユビキチン化は Mfn2 をプロテアソーム経路による分解

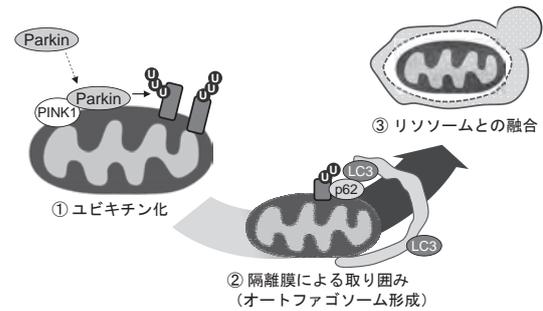


図 4 Parkin 依存性マイトファジー

細胞質に存在する Parkin は機能低下 (脱分極) したミトコンドリアへリン酸化酵素 PINK1 依存的に局在化され、外膜上のタンパク質群にポリユビキチン鎖を付加する (①)。ユビキチン結合型アダプターである p62 はこれらのユビキチン鎖を認識し、さらに隔離膜上の LC3 と結合することでオートファゴソームの形成を促進させる (②)。最終的にオートファゴソームとリソソームが融合し、内部のミトコンドリアが分解される (③)。

に導くものではなく、MAM への局在化を誘導し、また Mfn2 のもつ GTP 結合能を上昇させることで GTPase 活性依存的な多量体化を促進する。MITOL を発現抑制すると、ヒスタミン刺激条件下におけるミトコンドリア Ca^{2+} 濃度の上昇が対照に比べ、顕著に抑制された。これは MITOL 発現抑制時には Mfn2 が多量体化しないために MAM が減少し、小胞体からの Ca^{2+} をミトコンドリアが効率的に受け取れなかったことに起因すると思われる。以上のことから、MITOL は Mfn2 をユビキチン化することでミトコンドリアと小胞体の接触を正に制御するという新たなモデルを提唱した (図 5 上)。さらに、神経特異的に MITOL を欠損させたマウスを作製し、生体内の MAM 構造の変化を解析した。連続ブロック表面走査型電子顕微鏡 (serial block-face scanning electron microscopy, SBF-SEM) により、海馬ニューロン中のミトコンドリアと小胞体を 3 次元的に解析したところ、予想通り MITOL 欠損マウスでは野生型に比べて顕著な MAM の減少がみられた^[41]。また、ミトコンドリアのクリステ構造の崩壊も観察された。ミトコンドリア内膜の主要なリン脂質であるカルジオリピン (cardiolipin, CL) は、クリステ構造の維持に必要であることが示されている^[42]。そこで、MITOL を欠損した海馬のミトコンドリアを単離して CL を定量した結果、有意に減少していることがわかった。酵母において、小胞体とミトコンドリアの接触はミトコンドリアの CL 生合成に重要であることが報告され、実際に小胞体とミトコンドリアの接触部位は CL の前駆体であるホスファチジン酸輸送の足場となっている^[43, 44]。MITOL 欠損による CL の有意な減少は、脳内の CL の生合成や代謝に MAM を介した効率的な脂質輸送が必要であることを示唆している。

2) MAM を介した小胞体ストレス応答の抑制

最近私たちは MAM を足場として MITOL が小胞体

ストレスによる細胞死の抑制に働くことも見出した。小胞体に変性タンパク質が蓄積すると、小胞体膜上のストレスセンサーである、PERK、ATF6、IRE1 α の3つがそれぞれ活性化する^[45]。このような小胞体ストレス応答はアルツハイマー病などの神経変性疾患、炎症や癌などの加齢性疾患に関与することが報告されている^[46]。軽度なストレスである場合は翻訳抑制やERADなどの品質管理機構によって正常化されるが、ストレスが長期化し、ある閾値を超えるとアポトーシスの誘導が起こる。細胞死へのスイッチがIRE1 α によって行われることは知られていたが、その機構は不明であった。MITOLを欠損したマウス線維芽細胞においてツンカマイシン処理を行い、小胞体ストレスを誘導すると、野生型に比べ有意にアポトーシスの亢進がみられた。そこで、PERK、ATF6、IRE1 α それぞれの経路の活性化を評価したところ、MITOLの欠損はPERK、ATF6の経路には影響せず、IRE1 α 経路の過剰な活性化を引き起こすことがわかった。アポトーシスシグナルを惹起するIRE1 α のRNase活性にはIRE1 α 自身の多量体化が必要である^[47]。MITOLを欠損するとIRE1 α の多量体が増加したことから、MITOLはIRE1 α の多量体化を阻害し、アポトーシスシグナルを抑制することが示唆された。続いて、MITOLがIRE1 α を直接制御するか検討した結果、MITOLはIRE1 α と結合しポリユビキチン化することが

わかった。興味深いことに、このユビキチン化はプロテアソーム経路による分解を誘導するものではなく、また、MITOLはRNase不活性型の、単量体のIRE1 α と優先的に結合してユビキチン化した。IRE1 α は小胞体膜に局在しているため、MITOLとの相互作用はMAMを介して行われると推測された。よって、MAMの形成因子であるMfn2やPACS2を発現抑制したところ、予想通りMITOLによるIRE1 α のユビキチン化が減弱した。以上のことから、MITOLはMAMを足場として活性化前のIRE1 α と結合し、ユビキチン化することでIRE1 α の過剰活性化を抑制していることが明らかになった(図5下)。この発見は小胞体ストレス下における細胞生存と細胞死の運命決定は小胞体のみならず、MAMを介してミトコンドリアからも大きく方向付けできることを示している。

長期化した小胞体ストレスにおいては、IRE1 α のユビキチン化が解除され、MITOLによる制御を受けない活性化型のIRE1 α が増加し、アポトーシスシグナルが惹起された。このことは、ある種の脱ユビキチン化酵素とMITOLとが協調して、小胞体ストレス応答を制御していることを示唆している。この脱ユビキチン化酵素の候補としてタンパク質品質管理で報告されたUSP30のほか^[10]、最近私たちが新たに実施したMITOLの相互作用分子の探索から同定された脱ユビキチン化酵素群も

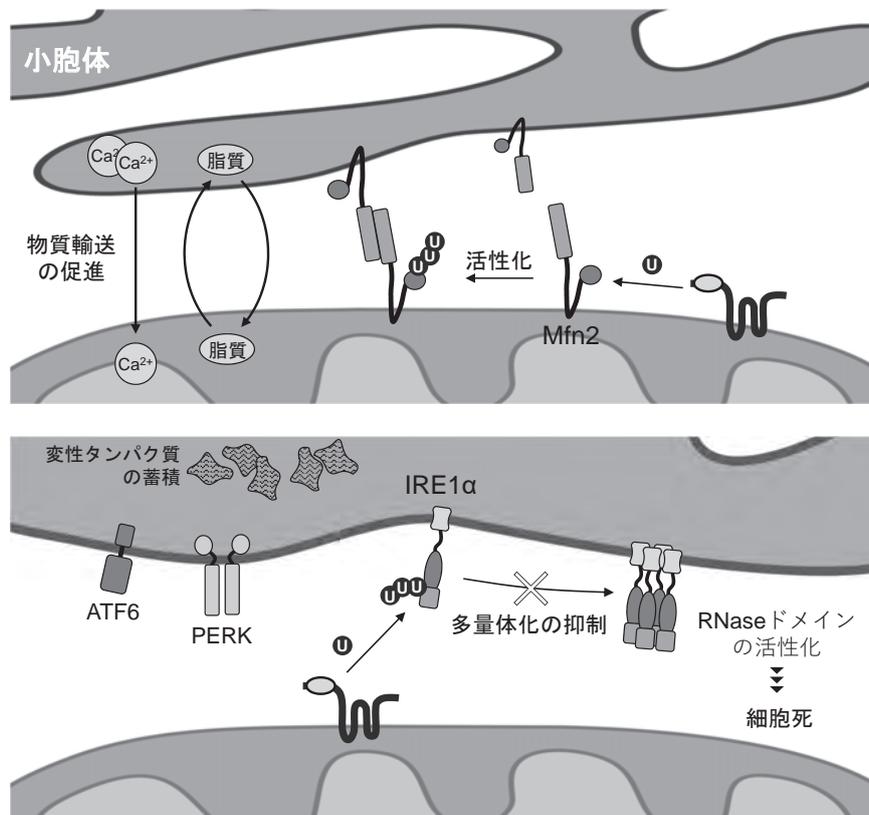


図5 MAMにおけるMITOLの機能

MITOLはMfn2を活性化することでミトコンドリアと小胞体の膜接触を促進させ、カルシウムイオンや脂質などの物質輸送を効率化させている(上)。また、MITOLは小胞体ストレスセンサーの一つであるIRE1 α をユビキチン化することでその多量体化を抑制している(下)。小胞体ストレスが長期化するとそのユビキチン化は解除され、IRE1 α の多量体化が起こりアポトーシスが誘導される。

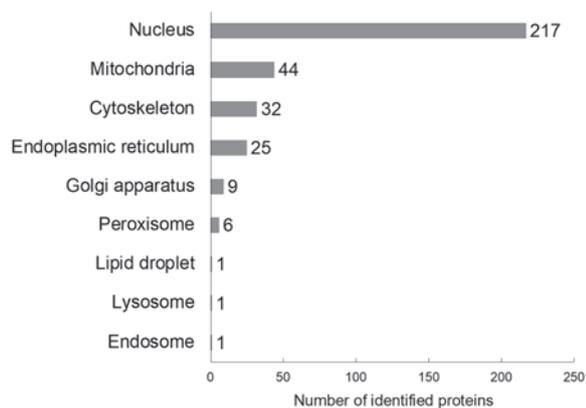


図6 MITOL 相互作用候補分子の局在別個数
APEX2 法による MITOL の相互作用分子の探索
によって同定された候補分子を UniProt データ
ベース上の局在情報と照らしてオルガネラ別に
分類した。

候補として考えられる [未発表論文]。実際に小胞体ストレス応答時において協調しているかは今後の課題である。

先述の相互作用分子の探索では、近位依存性ビオチン標識法の一つである APEX2 法を用いた^[48]。この手法では、MITOL の近傍 (周囲 20 nm) に存在する分子群を 1 分間という短時間でビオチン標識するため、結合の弱い分子や瞬間的に相互作用する分子も同定できる。その結果、小胞体タンパク質も数多く同定され、さらにゴルジ体、ペルオキシソーム局在性のタンパク質も同定された (図6)。同定されたタンパク質には Mfn2 以外の MAM 形成因子も複数含まれていたことから、改めて MITOL が MAM に豊富に存在し、そして MAM において多くの分子をユビキチン化して未知の機能制御をしている可能性が示された。今後、MITOL の機能解析を通して MAM におけるユビキチン化の新たな生理的意義と小胞体以外のオルガネラとの膜接触の制御機構の解明が期待される。

5. おわりに

MITOL 結合タンパク質の網羅的解析を行った結果、予想に反して多数の核内転写因子群が同定された。このことはミトコンドリア膜上で核機能を間接的に制御している可能性を示唆している。実際にレトロトランスポゾンを抑制する piRNA の生合成はミトコンドリア膜上で行われている。もしかするとミトコンドリアと核の間でより大規模でシステムチックな制御機構が存在しているのかもしれない。その昔、ミトコンドリアの祖先である好気性細菌が古細菌と共生してから好気性細菌由来の DNA はほとんど核へと移動したと考えられている。勝手な想像ではあるが、ミトコンドリアはかつての自らの分身を未だ忘れることなく、リモートコントロールしているのではないだろうか。今なおミトコンドリアは謎の多いオルガネラである。驚くようなミトコンドリアの新たな役割がまだまだ見つかってくるような気がしてならない。

略語リスト

- AD: Alzheimer's disease (アルツハイマー病)
- ALS: amyotrophic lateral sclerosis (筋萎縮性側索硬化症)
- ATF6: Activating transcription factor 6
- A β : amyloid beta (アミロイドベータ)
- CL: cardiolipin (カルジオリピン)
- Cym1: Cytosolic metalloprotease 1
- Drp1: Dynamin-related protein 1
- ERAD: endoplasmic reticulum-associated degradation (小胞体関連分解)
- GSNOR: S-nitrosoglutathione reductase (S- ニトロソグルタチオン還元酵素)
- IRE1 α : Inositol-requiring enzyme 1 alpha
- Klf4: Krueppel-like factor 4
- LC3: Microtubule-associated protein 1A/1B light chain 3
- MAM: mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane
- MAP1B-LC1: Microtubule-associated protein 1B light chain 1
- MARCH5: Membrane-associated RING finger protein 5
- MFF: Mitochondrial fission factor
- Mfn1: Mitofusin-1
- Mfn2: Mitofusin-2
- MiD49: Mitochondrial dynamics protein of 49 kDa
- MiD51: Mitochondrial dynamics protein of 51 kDa
- MITOL: Mitochondrial ubiquitin ligase
- mitoTAD: mitochondrial protein translocation-associated degradation
- mSOD1: mutant Superoxide dismutase 1 (変異型 SOD1)
- MUL1: Mitochondrial ubiquitin ligase activator of NFKB 1
- NAD⁺: nicotinamide adenine dinucleotide (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド)
- OPA1: Optic atrophy 1
- p53: Cellular tumor antigen p53
- p62: Phosphotyrosine-independent ligand for the Lck SH2 domain of 62 kDa
- PACS2: Phosphofurin acidic cluster sorting protein 2
- Parkin: Parkin RBR E3 ubiquitin-protein ligase
- PERK: PKR-like endoplasmic reticulum kinase
- PINK1: PTEN induced kinase 1
- piRNA: PIWI-interacting RNA (PIWI 結合性 RNA)
- polyQ: polyglutamine (ポリグルタミン)
- PreP: Presequence protease, mitochondrial
- SBF-SEM: serial block-face scanning electron microscopy (連続ブロック表面走査型電子顕微鏡)
- SCD: spinocerebellar degeneration (脊髄小脳変性症)
- SIRT1: NAD-dependent protein deacetylase sirtuin-1
- TMM65: Transmembrane protein 65
- TOM: translocase of the outer membrane (外膜トランスロカーゼ)
- USP30: Ubiquitin-specific-processing protease 30

参考文献

1. Anderson AJ, Jackson TD, Stroud DA, *et al.* Mitochondria-hubs for regulating cellular biochemistry: emerging concepts and networks. *Open Biol.* 9:190126, 2019.
2. Saxe JP, Chen M, Zhao H, *et al.* Tdrkh is essential for spermatogenesis and participates in primary piRNA biogenesis in the germline. *EMBO J.* 32:1869-1885, 2013.
3. Yonashiro R, Ishido S, Kyo S, *et al.* A novel mitochondrial ubiquitin ligase plays a critical role in mitochondrial dynamics. *EMBO J.* 25:3618-3626, 2006.
4. Wai T & Langer T. Mitochondrial Dynamics and Metabolic Regulation. *Trends Endocrinol. Metab.* 27:105-117, 2016.
5. Tilokani L, Nagashima S, Paupe V, *et al.* Mitochondrial dynamics: overview of molecular mechanisms. *Essays Biochem.* 62:341-360, 2018.
6. Nakamura N, Kimura Y, Tokuda M, *et al.* MARCH-V is a novel mitofusin 2- and Drp1-binding protein able to change mitochondrial morphology. *EMBO Rep.* 7:1019-1022, 2006.
7. Xu S, Cherok E, Das S, *et al.* Mitochondrial E3 ubiquitin ligase MARCH5 controls mitochondrial fission and cell sensitivity to stress-induced apoptosis through regulation of MiD49 protein. *Mol Biol Cell* 27:349-359, 2016.
8. Ravanelli S, den Brave F & Hoppe T. Mitochondrial Quality Control Governed by Ubiquitin. *Front. Cell Dev. Biol.* 8:270, 2020.
9. Martensson CU, Priesnitz C, Song J, *et al.* Mitochondrial protein translocation-associated degradation. *Nature* 569:679-683, 2019.
10. Phu L, Rose CM, Tea JS, *et al.* Dynamic Regulation of Mitochondrial Import by the Ubiquitin System. *Mol. Cell* 77:1107-1123.e1110, 2020.
11. Bartolini M & Andrisano V. Strategies for the inhibition of protein aggregation in human diseases. *Chembiochem* 11:1018-1035, 2010.
12. Yonashiro R, Sugiura A, Miyachi M, *et al.* Mitochondrial ubiquitin ligase MITOL ubiquitinates mutant SOD1 and attenuates mutant SOD1-induced ROS generation. *Mol. Biol. Cell* 20:4254-4530, 2009.
13. Sugiura A, Yonashiro R, Fukuda T, *et al.* A mitochondrial ubiquitin ligase MITOL controls cell toxicity of polyglutamine-expanded protein. *Mitochondrion* 11:139-146, 2011.
14. Gu H, Li Q, Huang S, *et al.* Mitochondrial E3 ligase March5 maintains stemness of mouse ES cells via suppression of ERK signalling. *Nat. Commun.* 6:7112, 2015.
15. Hegde AN & Upadhyya SC. Role of ubiquitin-proteasome-mediated proteolysis in nervous system disease. *Biochim. Biophys. Acta* 1809:128-140, 2011.
16. Swerdlow RH. Mitochondria and Mitochondrial Cascades in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 62:1403-1416, 2018.
17. Kaminsky YG, Tikhonova LA & Kosenko EA. Critical analysis of Alzheimer's amyloid-beta toxicity to mitochondria. *Front. Biosci.* 20:173-197, 2015.
18. Mossmann D, Vögtle FN, Taskin AA, *et al.* Amyloid- β peptide induces mitochondrial dysfunction by inhibition of preprotein maturation. *Cell Metab.* 20:662-669, 2014.
19. Sorrentino V, Romani M, Mouchiroud L, *et al.* Enhancing mitochondrial proteostasis reduces amyloid-beta proteotoxicity. *Nature* 552:187-193, 2017.
20. Bai Z, Han G, Xie B, *et al.* AlzBase: an Integrative Database for Gene Dysregulation in Alzheimer's Disease. *Mol. Neurobiol.* 53:310-319, 2016.
21. Wang K & Klionsky DJ. Mitochondria removal by autophagy. *Autophagy* 7:297-300, 2011.
22. Narendra D, Tanaka A, Suen DF, *et al.* Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *J. Cell Biol.* 183:795-803, 2008.
23. Hoshino A, Mita Y, Okawa Y, *et al.* Cytosolic p53 inhibits Parkin-mediated mitophagy and promotes mitochondrial dysfunction in the mouse heart. *Nat. Commun.* 4:2308, 2013.
24. Ahmad T, Sundar IK, Lerner CA, *et al.* Impaired mitophagy leads to cigarette smoke stress-induced cellular senescence: implications for chronic obstructive pulmonary disease. *FASEB J.* 29:2912-2929, 2015.
25. Manzella N, Santin Y, Maggiorani D, *et al.* Monoamine oxidase-A is a novel driver of stress-induced premature senescence through inhibition of parkin-mediated mitophagy. *Aging Cell* 17:e12811, 2018.
26. Correia-Melo C, Marques FD, Anderson R, *et al.* Mitochondria are required for pro-ageing features of the senescent phenotype. *EMBO J.* 35:724-742, 2016.
27. Rizza S, Cardaci S, Montagna C, *et al.* S-nitrosylation drives cell senescence and aging in mammals by controlling mitochondrial dynamics and mitophagy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 115:E3388-e3397, 2018.
28. Chung KK, Thomas B, Li X, *et al.* S-nitrosylation

- of parkin regulates ubiquitination and compromises parkin's protective function. *Science* 304:1328-1331, 2004.
29. Mai S, Klinkenberg M, Auburger G, *et al.* Decreased expression of Drpl and Fis1 mediates mitochondrial elongation in senescent cells and enhances resistance to oxidative stress through PINK1. *J. Cell Sci.* 123:917-926, 2010.
 30. Dalle Pezze P, Nelson G, Otten EG, *et al.* Dynamic modelling of pathways to cellular senescence reveals strategies for targeted interventions. *PLoS Comput. Biol.* 10:e1003728, 2014.
 31. Gomes LC & Scorrano L. Mitochondrial morphology in mitophagy and macroautophagy. *Biochim. Biophys. Acta* 1833:205-212, 2013.
 32. Yonashiro R, Kimijima Y, Shimura T, *et al.* Mitochondrial ubiquitin ligase MITOL blocks S-nitrosylated MAPIB-light chain 1-mediated mitochondrial dysfunction and neuronal cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109:2382-2387, 2012.
 33. Vance JE. Phospholipid synthesis in a membrane fraction associated with mitochondria. *J. Biol. Chem.* 265:7248-7256, 1990.
 34. Rizzuto R, Pinton P, Carrington W, *et al.* Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca²⁺ responses. *Science* 280:1763-1766, 1998.
 35. Copeland DE & Dalton AJ. An association between mitochondria and the endoplasmic reticulum in cells of the pseudobranch gland of a teleost. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 5:393-396, 1959.
 36. Bernhard W & Rouiller C. Close topographical relationship between mitochondria and ergastoplasm of liver cells in a definite phase of cellular activity. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2:73-78, 1956.
 37. Gordaliza-Alaguero I, Cantó C & Zorzano A. Metabolic implications of organelle-mitochondria communication. *EMBO Rep.* 20:e47928, 2019.
 38. Moltedo O, Remondelli P & Amodio G. The Mitochondria-Endoplasmic Reticulum Contacts and Their Critical Role in Aging and Age-Associated Diseases. *Front. Cell Dev. Biol.* 7:172, 2019.
 39. de Brito OM & Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature* 456:605-610, 2008.
 40. Sugiura A, Nagashima S, Tokuyama T, *et al.* MITOL regulates endoplasmic reticulum-mitochondria contacts via mitofusin2. *Mol. Cell* 51:20-34, 2013.
 41. Nagashima S, Takeda K, Ohno N, *et al.* MITOL deletion in the brain impairs mitochondrial structure and ER tethering leading to oxidative stress. *Life Sci. Alliance* 2:e201900308, 2019.
 42. Saric A, Andreau K, Armand AS, *et al.* Barth Syndrome: From Mitochondrial Dysfunctions Associated with Aberrant Production of Reactive Oxygen Species to Pluripotent Stem Cell Studies. *Front Genet.* 6:359, 2015.
 43. Kornmann B, Currie E, Collins SR, *et al.* An ER-mitochondria tethering complex revealed by a synthetic biology screen. *Science* 325:477-481, 2009.
 44. Scharwey M, Tatsuta T & Langer T. Mitochondrial lipid transport at a glance. *J. Cell Sci.* 126:5317-5323, 2013.
 45. Shore GC, Papa FR & Oakes SA. Signaling cell death from the endoplasmic reticulum stress response. *Curr. Opin. Cell Biol.* 23:143-149, 2011.
 46. Brown MK & Naidoo N. The endoplasmic reticulum stress response in aging and age-related diseases. *Front. Physiol.* 3:263, 2012.
 47. Li H, Korennykh AV, Behrman SL, *et al.* Mammalian endoplasmic reticulum stress sensor IRE1 signals by dynamic clustering. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107:16113-16118, 2010.
 48. Hung V, Udeshi ND, Lam SS, *et al.* Spatially resolved proteomic mapping in living cells with the engineered peroxidase APEX2. *Nat. Protoc.* 11:456-475, 2016.

Regulation of mitochondrial function via ubiquitination

Naoki Ito¹, Isshin Shiiba^{1,2}, Mikihiro Mitsubori¹, Shigeru Yanagi²

¹ Department of Life Sciences, Graduate School of Life Sciences, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences

² Department of Life Sciences, Faculty of Science, Gakushuin University

Abstract

Mitochondria play critical roles not only in energy production, but also in the regulation of intracellular calcium, cell death determination, lipid metabolic control, immune response, and heat production. These multiple functions of mitochondria are closely linked to their dynamic behavior and morphological changes, called mitochondrial dynamics. Therefore, much attention has been paid to mitochondrial dynamics regulation in recent years. In particular, the interaction between the mitochondria and the ER functions as a scaffold for various signal transductions as well as transfer of calcium or lipids. In addition, disruption in mitochondrial dynamics causes impairment of mitochondrial quality control, which is associated with various pathological conditions such as neurodegenerative diseases. Here, we outline the relationship between mitochondrial dynamics control, quality control, and pathological conditions, focusing on the ubiquitin-mediated regulatory mechanism on the mitochondrial membrane.

Keywords : MITOL/MARCH5, Mitochondrial dynamics, Ubiquitination, Protein quality control, Mitochondria-organelle contacts