

[033]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2018年

<https://hdl.handle.net/2324/6617896>

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 33, pp.1-, 2019. Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

バージョン :

権利関係 :



寄 附 研 究 部 門 ・ そ の 他

オルガネラホメオスタシス研究室

Division of Organelle Homeostasis

特任教授：藤木 幸夫

Professor : Yukio Fujiki, Ph.D.

オルガネラホメオスタシス研究室は、藤木幸夫特任教授、本庄雅則特任准教授を中心に、阿部雄一（特任助教）、大学院生 2 名の体制で研究を進めている（2019 年 3 月 31 日現在）。また、2018 年 10 月より八木田悠一（学術研究員）が、MRC Laboratory of Molecular Biology (Cambridge, UK) へ転出した。

本年度の研究成果等を報告致します。

真核生物の細胞内には膜で仕切られた細胞小器官（オルガネラ）が形成され、そこに特定のタンパク質が局在化することにより、高度な時空間的秩序に基づく生命活動が営まれている。こうしたタンパク質の細胞内輸送およびオルガネラの形成・分化に関わるタンパク質群は、当然遺伝情報の支配下にあるが、細胞は細胞からのみ複製でき、オルガネラの多くは *de novo* には形成されず、遺伝情報とは独立に既存の構造が拡大・分裂することで娘細胞に伝えられる。高等動物のペルオキシソームは過酸化水素の生成を伴う種々の物質酸化や極長鎖脂肪酸の β -酸化、エーテルリン脂質プラスマローゲンの生合成など、多くの代謝機能を有し生体に必須な細胞小器官（オルガネラ）である。ヒトにおいては、ペルオキシソームの形成不全に基づく致死性の先天性代謝異常症である Zellweger 症候群などのペルオキシソーム欠損症では、中枢神経系の機能異常を含む多様かつ重篤な症状を呈する。近年、ペルオキシソーム形成に必須な多くのペルオキシソーム遺伝子 (*PEX*) のクローニングと解析が飛躍的に進み、ペルオキシソーム欠損症の病因 *PEX* 遺伝子の全容解明、ついで、ペルオキシソーム形成機構の概要が明らかになりつつある。

A. ペルオキシソーム形成因子（ペルオキシシン）の機能

ペルオキシソームの形成機構については、サイトゾルの遊離型ポリソームで新規合成された構成タンパク質が既存のペルオキシソームに局在化し、その結果ペルオキシソームが成長、分裂して増殖していくという “growth and division model” が一般的に受け入れられている (Lazarow and Fujiki *Annu. Rev. Cell Biol.* 1: 489-530, 1985)。また、近年ペルオキシソーム特異的オートファジー（ペキソファジー）を介した分解機構を含め、これらの統合的制御によりペルオキシソームのホメオスタシスが維持されていると考えられている。ペルオキシソーム形成異常症の病因 *PEX* 遺伝子の同定と並行してペルオキシシン群の機能解析も大きく進展し、ペルオキシシンの機能は、(1) 膜

タンパク質輸送と初期膜形成, (2) マトリクスタンパク質輸送, (3) 分裂と形態制御, の3つに大別されることが明らかとなっている (Fujiki et al. *Front. Physiol.* 5: article 367, 2014; Fujiki *Proc. Jpn. Acad. Ser. B* 92: 463-477, 2016).

a. マトリクスタンパク質輸送に必要なペルオキシシン

遊離型リボソームで合成されたペルオキシソーム移行シグナル-1 (PTS1) タンパク質は, 1) サイトゾルで Pex5p と結合, 2) Pex5p とペルオキシソーム膜上の Pex14p との結合を介してペルオキシソームに標的化, 3) Pex14p を含む複数の膜局在性ペルオキシシンからなる膜透過複合体による膜透過, という過程を経てマトリクスへ移行する (図1).

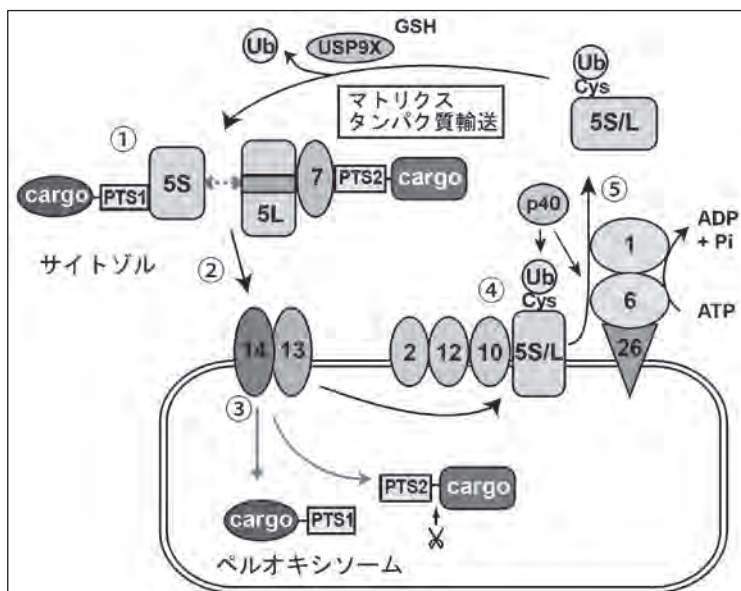


図1. 哺乳類ペルオキシソームにおけるマトリクスタンパク質輸送に必要なペルオキシシンとその機能.

ペルオキシシン中の数字は *PEX* 遺伝子産物固有の番号 (発見順) を示す. PTS1 タンパク質は, ① PTS1 受容体である Pex5p [2 種のアイソフォーム, S 型と L 型 (S 型内部に 37 アミノ酸の挿入配列) が存在] とサイトゾル

で結合, ② Pex14p を標的としてペルオキシソーム膜へ標的化, ③ 主に Pex14p と Pex13p から構成される Pex5p ドッキング複合体を介した膜透過, を経てマトリクスへ移行する. その後 Pex5p は, ④ C 末側領域に RING フィンガーを持つ 3 種の RING ペルオキシシン Pex12p, Pex10p, Pex2p を含むトランスロケーション複合体を経由し, ⑤ AAA ATPase ファミリーのペルオキシシン Pex1p および Pex6p の働きにより再びサイトゾルへ戻り, シャトルレセプターとして機能する. 一方, PTS2 タンパク質は Pex5pL-Pex7p-PTS2 カargo複合体として Pex14 と結合後インポートされる.

• Pex14p 膜透過複合体の解析

このように数多くのペルオキシシンのなかでも Pex14p は PTS1 受容体である Pex5p のペルオキシソーム膜上ドッキングタンパク質であり, Pex5p-マトリクスタンパク質複合体のペルオキシソームマトリクスへの移入において中心的な役割を担うことが知ら

れている．この新生鎖タンパク質移入に際し，マトリクスタンパク質の一つであるカタラーゼは 4 量体構造を維持したまま輸送されることを我々は報告しているが，このような特異な輸送メカニズムの詳細は殆ど明らかにされていない(Otera and Fujiki *Traffic* 13: 1364-1377, 2012)．そこで，ペルオキシソーム膜透過輸送の分子メカニズム解明を目的として，Pex14p を主な構成因子とする輸送装置複合体の同定，動的な構造変化およびペルオキシソーム移行シグナル受容体である Pex5p との機能的な相互作用と膜透過輸送活性について解析を現在進めている．哺乳動物細胞由来の Pex14p を主な構成因子とする 3 種の高分子量複合体，複合体 I (600 kDa)，II (770 kDa)，III (1,100 kDa) をすでに見出し，これらが協調し，かつそれぞれの複合体構造を変化させながら膜透過輸送を担うことを示唆する結果を得ている (図 2)．さらに，Pex14p に対して近位依存性ビオチン標識(BioID)法を適用することで，3 種の高分子量複合体を構成する因子の同定，加えてこれら 3 種の複合体がダイナミックに複合体構造を変化させる過程で一過的に相互作用する新規因子の探索を行った．その結果，Pex14p と相互作用する既知のタンパク質因子とともにいくつかの新規因子の同定に成功，さらにはリボソームタンパク質複合体が Pex14p を主な構成因子とする輸送装置複合体に近接していることを示唆する結果が得られた．このように Pex14p 複合体が担うペルオキシソーム膜透過輸送の分子メカニズムに関する新たな知見を得ることができた．

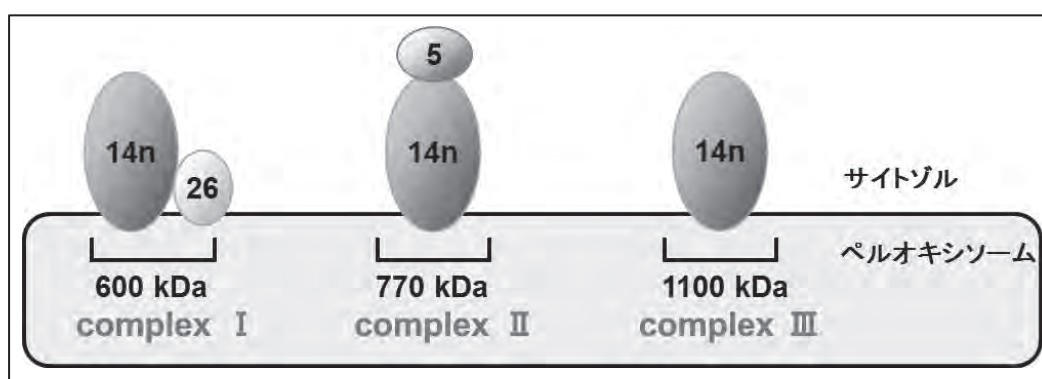


図 2. ペルオキシソームマトリクスタンパク質の膜透過輸送装置複合体の同定. Pex14p を主な構成因子とする複合体 I (600 kDa)，II (770 kDa)，III (1,100 kDa) が協調してマトリクスタンパク質の膜透過輸送を担う．

・ペルオキシソーム欠損症病因遺伝子 *PEX26* の新規変異同定とその障害の分子メカニズム

我々はペルオキシソーム欠損症の病因遺伝子 (*PEX*) の単離とペルオキシシンの同定と機能解明，すなわちペルオキシソーム生合成機構の全容解明を目指して研究を行ってきた．これまでに病因遺伝子として，*PEX1*，*PEX2*，*PEX3*，*PEX5*，*PEX6*，*PEX12*，*PEX13*，*PEX14* および *PEX19* を機能相補スクリーニングで，加えて *PEX10*，*PEX16* を酵母遺伝子のヒトホモログとして単離し，さらに，長年にわたり病因 (遺伝子) が不明であった

相補性群 A(8) 群について、相補遺伝子 (*PEX26*) の単離に成功することによりヒトペルオキシソーム欠損症における 13 種の相補性群の全病因 (遺伝子) の解明を達成している。Pex26p は AAA タンパク質ファミリーに属する Pex1p と Pex6p (AAA ペルオキシシン) をペルオキシソームヘリクルートする役割を担い、膜透過輸送装置複合体の主な構成因子である Pex14p と相互作用することもすでに報告している。ごく最近、我々は米国コロンビア大学で遺伝性の聴覚障害として報告された患者の病因遺伝子変異が、全エクソームシーケンス解析により Pex26p のアミノ酸配列中 51 番 Phe から Leu への点変異置換を有することを見出した。この患者由来の線維芽細胞を用いた形態学的な観察からはマトリクスタンパク質の輸送障害は見かけ上認められないが、この変異に起因した Pex26p と Pex14p との結合能の低下、新たに翻訳されたマトリクスタンパク質の輸送効率が著しく低下することを定量的に示した。この症例ではこれまでに報告されている重篤なペルオキシソーム欠損症とは全く異なる病態を示し、*PEX* 遺伝子の変異によって聴覚低下・損失のみをきたすものである。こうして得られた、Pex14p に対する Pex26p 結合能の低下が聴覚損失の病因になるという知見は、ペルオキシソーム代謝障害が神経系の発達と維持に異常をきたす病態発症のメカニズム解明に大きく寄与するものと期待される (Tanaka et al. *Cold Spring Harb. Mol. Case Stud.* 5: a003483, 2019: 業績・原著論文 No. 5)。

・ペルオキシソームに局在する新規ダイニンタイプ AAA+タンパク質の同定と解析

Pex7p は、N 末延長ペプチドすなわちペルオキシソーム移行シグナル 2 型 (PTS2) を有するタンパク質をペルオキシソームに輸送する PTS2 受容体である。今回、我々は FLAG タグを付加した Pex7p の免疫沈降共沈物の質量分析により、新規 Pex7p 結合タンパク質として P7BP2 (Pex7p Binding Protein 2) を同定した。P7BP2 (別名: KIAA0564) の細胞内局在に関しては、N 末端 34 アミノ酸で構成されるミトコンドリア局在化シグナルを介してミトコンドリアに局在すると報告されていた。我々は新たに、P7BP2 がミトコンドリアとペルオキシソームの両オルガネラに存在し、P7BP2 のペルオキシソーム局在化は N 末 66-79 アミノ酸領域に存在する PTS2 配列に依存することを明らかにした。また、これまでのゲノム解析から P7BP2/KIAA0564 には 3 つの AAA+ドメインが報告されていたが、本研究により C 末領域にコンセンサス配列から外れた AAA+ドメインがさらに 3 つ存在することを見出した。さらに組換え P7BP2 タンパク質の原子間力顕微鏡 (AFM) を用いた観察から、P7BP2 がダイニンのように単量体で擬似 6 回リング構造をとることを明らかにした (図 3)。ペルオキシソームとミトコンドリアにおいて、このダイニン様 AAA+タンパク質がどのような機能を有するのか、非常に興味深い (Niwa et al. *J. Biochem.* 164: 437-447, 2018: 業績・原著論文 No. 1)。

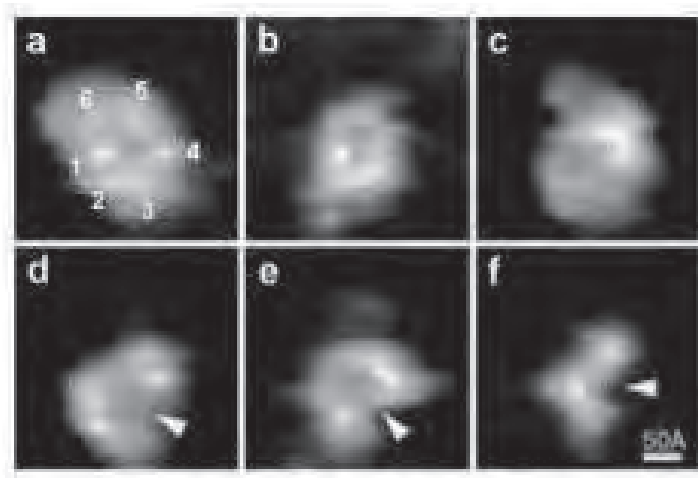


図 3. P7BP2 タンパク質の AFM 観察像.

6 個の AAA+ ドメインを持つ P7BP2 は, ダイニン様の擬似 6 回リング構造をとる. P7BP2 は円盤様の形状で観察されるが, a-c は閉じたリング構造を, d-f は小さな溝 (矢頭) を伴う開いたリング構造を持った像を示す. a の数字は 6 個のサブ構造を示す. Scale bar, 50 Å.

・PTS2 タンパク質の輸送に必要な最小限なサイトゾル因子は Pex7p と Pex5pL である

哺乳動物細胞において, 新規合成された PTS2 を持つタンパク質はサイトゾルで PTS2 受容体である Pex7p に認識され, さらに Pex7p には PTS1 受容体 Pex5p の long isoform (Pex5pL) が結合する (図 1 参照). これら 3 者複合体の形成が PTS2 タンパク質のペルオキシソームへの輸送に必要であることが示されていたが, Pex7p および Pex5pL 以外のサイトゾル因子の関与については不明であった. 今回, 細胞膜のみを選択的に透過性にしてサイトゾルを除去したセミインタクト化細胞と精製組換えタンパク質を用いて, PTS2 タンパク質輸送の再構成実験を構築し解析を行った. その結果, PTS2 タンパク質のペルオキシソーム輸送は, Pex7p と Pex5pL のみで必要かつ十分であることを明らかにした (Mukai et al. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* 1866: 441-449, 2019: 業績・原著論文 No. 4).

b. 膜タンパク質の輸送・挿入に必須なペルオキシシン

ペルオキシソーム膜局在性の Pex3p と Pex16p および主にサイトゾルに局在する Pex19p は, ペルオキシソーム膜タンパク質 (PMP) 輸送に必須な因子である. これらいずれの因子の変異や欠損はマトリクスタンパク質の輸送障害に加えてペルオキシソーム膜の形成にも異常を呈し, ペルオキシソームが形態的に全く認められない. Pex19p は PMP とサイトゾル中で複合体を形成, 安定化させ, 膜上の Pex3p を標的として輸送局在化させる経路 (Class I) を通る. C 末端近傍に位置する 1 つの膜貫通ドメインで脂質膜にアンカーするテイルアンカー型 (TA) 膜タンパク質を含め, ほとんどの PMP はこの Class I 経路で輸送される (図 4). 一方, Pex3p は Pex19p とサイトゾルで複合体を形成後, ペルオキシソーム膜上の Pex16p へ局在化される経路 (Class II) により輸送されることを明らかにしている (図 4). PMP の輸送経路については, 哺乳動物細胞または酵母を用いた実験系で統一された見解が, 一部まだ得られていない.

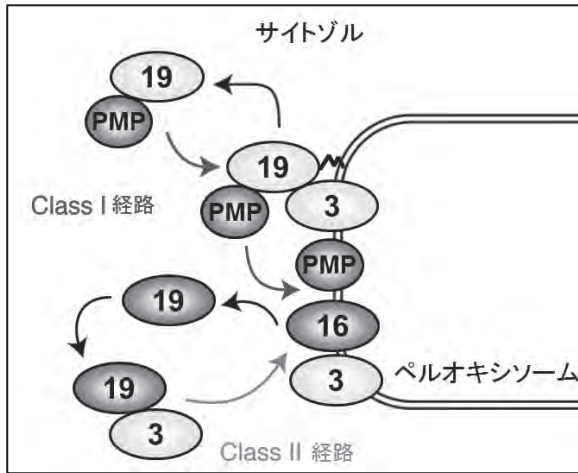


図4. ペルオキシソーム膜の形成機構.

大部分のペルオキシソーム膜タンパク質は Class I 経路を介して Pex19p 依存的に Pex3p へ標的化される．一方，Pex3p は Class II 経路により Pex19p 依存的に Pex16p へ局在化される．

Pex26p をはじめとした新規合成ペルオキシソーム局在性 TA はその標的化因子である Pex19p に認識され，小胞体局在性 TA の代表的な標的化因子 TRC40 (GET3) とは非依存的に輸送される (Yagita et al. *J. Cell Biol.* 200: 651-666, 2013; Liu et al. *Traffic* 17: 433-455, 2016)．一方，小胞体局在型 TA はサイトゾル因子である SGTA および Bag6 による認識，および TRC40 との結合を介して小胞体膜へ輸送される分子機構 (GET pathway) が明らかとなっている．我々は，ペルオキシソーム局在性 TA の一部が Bag6 複合体による品質管理を受けることを見出した．さらに Pex26pC 末疎水性領域を認識するサイトゾル因子の検索を目的として，Pex26pC 末領域の免疫沈降共沈降物のマス解析を行った結果，ユビキチンリガーゼの一つを同定した．このサイトゾル局在性ユビキチンリガーゼがペルオキシソーム局在性 TA の輸送・局在化に重要な役割を果たすことを示唆するものであり，TA 輸送におけるサイトゾルでの新たな品質管理機構の解明へ繋がるものとして期待される．

c. ペルオキシソームの分裂・形態形成制御機構

ペルオキシソームの分裂は，ペルオキシソーム膜の「伸張」「狭窄」，そして「切断」の3段階からなると考えられている．哺乳類細胞におけるペルオキシソーム分裂の中心因子は Pex11pβ である．GTPase である dynamin-like protein 1 (Dlp1, Dnm1) は，ミトコンドリアとペルオキシソームに局在する fission1 (Fis1) や mitochondrial fission factor (Mff) 依存的にペルオキシソームにもリクルートされ，ペルオキシソームの分裂・形態形成を制御する．近年の単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* (シゾン) を用いた研究により，ペルオキシソームの分裂は Dnm1 を含むリング構造の超分子ナノマシン peroxisome-dividing (POD) machinery の収縮による膜の分断により行われることが明らかになってきている．

これまで、POD machinery の構成タンパク質や収縮メカニズムの詳細は未解明であったが、我々はシゾンの分裂期ペルオキシソームから精製した POD machinery のプロテオーム解析により、新規分裂因子 DYNAMO1 の同定に成功した。DYNAMO1 は POD machinery に加えて mitochondrion-dividing (MD) machinery の構成因子のひとつでもあり、Dnm1 と直接結合することが判明した。DYNAMO1 は nucleoside diphosphate kinase (NDPK) ドメインを有しており、ATP から GTP へと変換する活性を示した。また、活性部位に変異を導入した変異型 DYNAMO1 をドミナントネガティブ体として細胞に発現させると、ミトコンドリアとペルオキシソームの分裂が阻害されたことから、DYNAMO1 は POD machinery および MD machinery 上においてその収縮を調節する機能を有することが認められた。ついで、DYNAMO1、Dnm1 のリコンビナントタンパク質を用いた分裂装置の *in vitro* 再構築実験において、DYNAMO1-Dnm1 タンパク質複合体繊維の形成が観察された (図 5 A, 左)。さらに、ATP を加えて、DYNAMO1 により GTP を産生させると、複合体繊維は急激に構造変化を起こし収縮することが判明した (図 5 A, 右)。

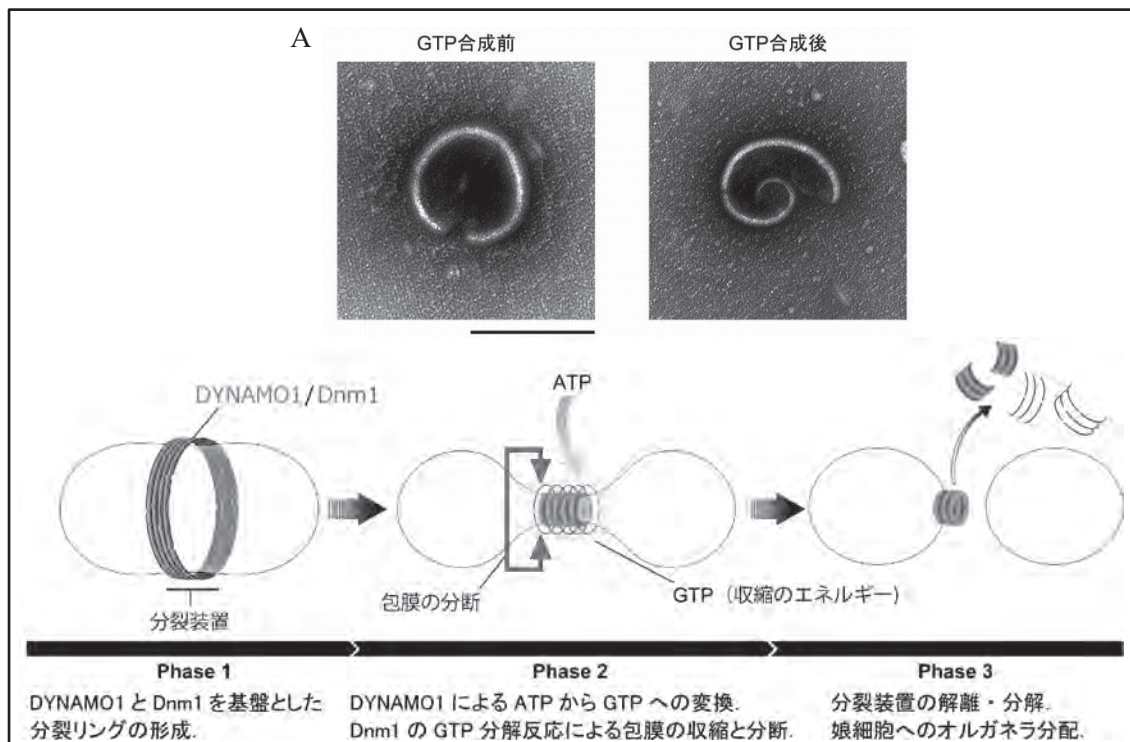


図 5. (A) DYNAMO1からのGTP供給によるDYNAMO1-Dnm1複合体繊維の収縮. MD ringやPOD ringを構成するDYNAMO1-Dnm1複合体繊維は、DYNAMO1によるGTP合成により著しく収縮し、オルガネラ分裂の駆動力となる。

(B) MD ringとPOD ring収縮におけるDYNAMO1作用機構のモデル図。

以上の結果から、DYNAMO1 と Dnm1 はペルオキシソームやミトコンドリアの分裂面の外側で形成される繊維状の骨格に沿ってリング構造を形成し、DYNAMO1 が生成する GTP をエネルギー源として、Dnm1 が収縮力を発揮し膜をくぶり切ると考えられる (Imoto

et al. *Nat. Commun.* 9: article 4634, 2018: 業績・原著論文 No. 3) (図 5B).

ちなみに、シゾンのゲノムには ATP-GTP 変換酵素として *DYNAMO1* と *DYNAMO2* をコードする 2 つの遺伝子のみが存在する。*DYNAMO1* は細胞周期の間に一定の発現量で存在しており、オルガネラ分裂時にのみ分裂面に移動する。一方、*DYNAMO2* は細胞周期を通して細胞質にのみ局在する。*DYNAMO2* は細胞周期に応じてその発現量を変化させ、S-M 期において発現量が増加する。この発現量の増減は細胞内の総 GTP 量の増減と相関関係が認められることから、*DYNAMO2* は細胞周期における総 GTP 量の調節因子として機能している可能性が示唆された (Imoto et al. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B.* 95: 75-85, 2019: 業績・原著論文 No. 6)。

B. ペルオキシソーム欠損による障害

個体におけるペルオキシソーム形成障害は、とくに胎生期における脳・神経形成や器官形成異常として症状が顕在化するが、その発症機構は不明な点が多い。

a. ペルオキシソーム欠損症の病態発症機構の解明

個体におけるペルオキシソーム形成因子の障害・欠損は Zellweger 症候群をはじめとするペルオキシソーム欠損症を発症する。ペルオキシソーム欠損症患者は発生期において神経細胞遊走障害や小脳形態異常などの中枢神経系障害を呈し、重篤な場合は生後一年以内に死亡する。これらの病態発症の原因はペルオキシソーム形成障害および代謝異常であると考えられているが、その詳細な分子機構は明らかになっていない。

我々はペルオキシソーム欠損症の病態発症機構解明を目的として、ペルオキシソーム形成因子 Pex14p の C 末端領域を欠失した *Pex14^{ΔC/ΔC}* マウスを確立している。このマウスは成長遅滞とともに中枢神経系障害を呈し、生後 2 週間以内に死亡する。中枢神経系において、その障害がとくに顕著な小脳では、顆粒細胞遊走障害やプルキンエ細胞の樹状突起発達異常などが観察される。ペルオキシソーム欠損による小脳形成障害機構の解明に向けて、小脳の形態形成に関わる因子に関して詳細に解析したところ、プルキンエ細胞周辺において brain-derived neurotrophic factor (BDNF) の発現量が増加していることを見出した。また、小脳神経初代培養実験により、高濃度の BDNF が *Pex14^{ΔC/ΔC}* マウスプルキンエ細胞の形態異常を誘発することが観察された。そこで、小脳において BDNF 受容体である TrkB を検証したところ、*Pex14^{ΔC/ΔC}* マウスにおいて不活性型受容体 TrkB-T1 が上昇していることを見出した。TrkB-T1 は活性型受容体 TrkB-TK+ の自己リン酸化活性に対して阻害的に作用することが知られている。そこで、*Pex14^{ΔC/ΔC}* マウス小脳における BDNF-TrkB シグナル伝達経路を解析したところ、TrkB-TK+ の自己リン酸化および下流の ERK・AKT のリン酸化の低下が観察された。以上のことは、ペルオキシソーム形成異常症における小脳形態異常の主たる原因として、

BDNF-TrkB を介した細胞シグナル応答の障害を発見したことを意味する (図 6). すなわち, この発見は世界で初めての本症の病態発症機構の解明として高く評価されている (Abe et al. *Life Sci. Alliance* 1: e201800062, 2018: 業績・原著論文 No. 2).

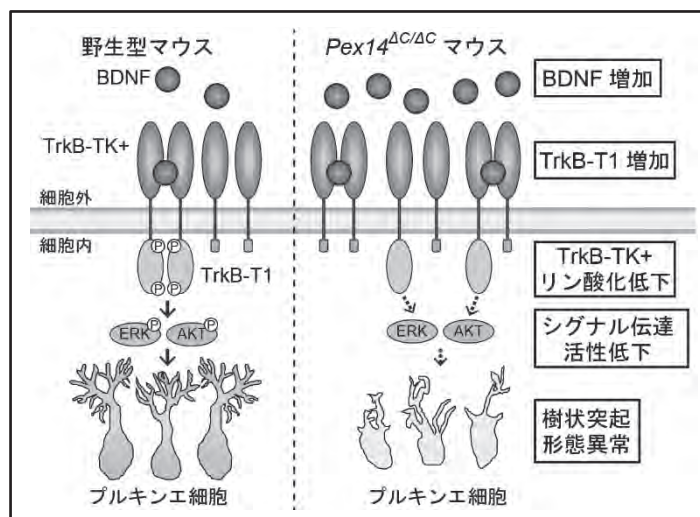


図 6. *Pex14*^{ΔC/ΔC} マウスにおける小脳ブルキンエ細胞の形態形成障害. 野生型マウスにおいては BDNF が TrkB-TK+ に結合し自己リン酸化 (P) を誘導し, 下流の ERK および AKT のシグナル伝達系の活性化を介してブルキンエ細胞の樹状突起形成を導く (左). *Pex14*^{ΔC/ΔC} マウスでは BDNF および TrkB-T1 が増加により, 下流のシグナル伝達系を不活性化させ形態形成異常を起す (右).

b. 脳におけるエーテルリン脂質プラスマローゲンの生合成制御と生理機能

プラスマローゲン (図 7 A) の生合成不全は関節点状石灰化, 重度精神運動発達遅滞, 白内障などを呈する斑状軟骨形成不全症 II 型 (RCDP) を発症し, 患児は生後早期に死に至るなど, プラスマローゲンは機能的に非常に重要なリン脂質である. また, プラスマローゲンの減少は孤発性アルツハイマー病, 認知症, 自閉症などの神経機能疾患においても認められ, プラスマローゲンの恒常性と脳機能との関連が強く示唆されている. プラスマローゲンは全 7 段階の反応を経て小胞体で合成が完了されるが, ペルオキシソームはそのうち初期 2 段階反応を担う. これまでに, 培養細胞を用いてプラスマローゲン生合成に必須な長鎖アルコール合成を担うペルオキシソーム局在性 C 末アンカータンパク質 (TA), fatty acyl-CoA reductase 1 (Far1) がプラスマローゲン生合成の律速酵素であることを公表している (図 7 B). さらに, プラスマローゲンの生合成は細胞膜内葉におけるプラスマローゲン量の感知, その情報のペルオキシソームへの伝達, ペルオキシソーム膜上での Far1 の発現レベルの調節による高度な時空間的機構で制御されることも明らかにしている (Honsho and Fujiki. *FEBS Lett.* 591: 2720-2729, 2017). 加えて, 上述の *PEX14*^{ΔC/ΔC} マウスおよびプラスマローゲン合成の初発酵素である dihydroxyacetonephosphate acyltransferase (DHAPAT) のノックアウトマウス (*dhapat*^{-/-}) の小脳や大脳においても, *FAR1* mRNA は野生型と同程度であるものの Far1 タンパク質のレベルは増加することを見出した. すなわち, 個体においてもプラスマローゲンの生合成は Far1 の発現レベル調節によって制御されるものと推察される.

次いで、プラスマローゲンの恒常性維持の生理学的意義の解明を試みた。これまでに、プラスマローゲン欠損細胞ではコレステロールの生合成が抑制されること、その原因はコレステロール生合成の中間体であるスクアレンのエポキシ化を触媒する酵素である squalene monooxygenase (SM) の発現量の増加であることを公表している (Honsho et al. *J. Biol. Chem.* 290: 28822-28833, 2015)。我々は、上述の2種のプラスマローゲン合成障害マウスの小脳において、野生型に比して SM の発現量増加とコレステロール量の有意な減少を見出した。コレステロールは末梢組織から脳へは供給されない。従って、小脳でのプラスマローゲン恒常性維持によるコレステロールの生合成調節は、プラスマローゲン恒常性維持の生理的役割の一端を明らかにした新たな知見といえる。

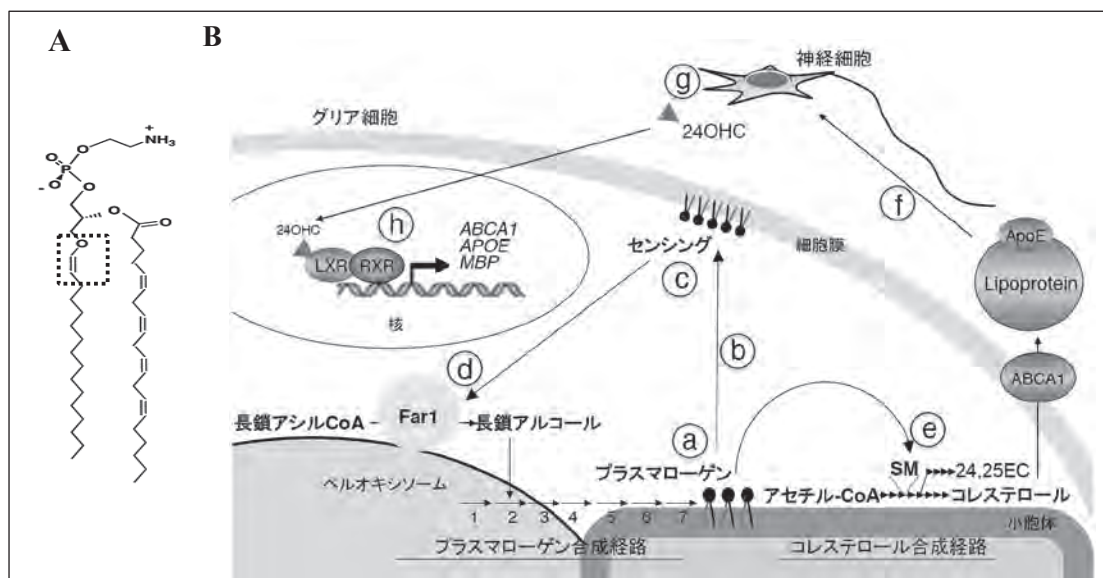


図7. プラスマローゲンの構造、生合成制御と生理機能. A, プラスマローゲンは *sn*-1 位にビニルエーテル結合を有する(点線四角). B, プラスマローゲンの生合成はペルオキシソームで開始され、7段階の反応を経て小胞体で完了される(a). その後、プラスマローゲンは細胞膜へと輸送される(b). プラスマローゲンの生合成は、細胞膜の内葉(inner leaflet)に存在するプラスマローゲンがセンシングされ(c)、その情報に基づいたプラスマローゲン生合成の律速酵素である Far1 の発現量調節によって制御される(d). プラスマローゲンの欠損や低下は、コレステロール生合成を担う酵素 squalene monooxygenase (SM) の分解を抑制し、その発現量を増加させ(e)、24, 25-epoxycholesterol (24, 25EC) の生合成を促進する一方、コレステロールの生合成を抑制する。脳では、グリア細胞で合成されたコレステロールは、リポタンパク質依存的に神経細胞へと輸送され(f)、一部のコレステロールは、プルキンエ細胞などの神経細胞にのみ発現する酵素によって 24-hydroxycholesterol (24OHC, ▲)へと変換される(g)。24OHC は脳に最も多く存在する liver X receptor (LXR) のリガンドである(h)。小脳のプラスマローゲンの合成障害は、コレステロールおよび 24OHC の合成を抑制し、その結果 LXR の標的遺伝子の発現を低下させる(h)。このような一連の代謝異常によって小脳のミエリン形成が障害されたものと推察される。

加えて、プラスマローゲン合成障害マウスの小脳では、脳のコレステロール代謝を担う ATP binding cassette transporter A1 (*ABCA1*) や apolipoprotein E (*APOE*), さらには、ミエリン形成に必須なミエリン塩基性タンパク質 (MBP) などの mRNA 量が低下していることを見出した。これら一連の遺伝子の転写は, liver X 受容体 (LXR) を介して促進されることが知られている。従って、プラスマローゲン合成障害マウスの小脳におけるコレステロール合成低下は, コレステロールを前駆体とし, かつ脳内で最も豊富な LXR のリガンドとして機能する 24-ヒドロキシコレステロール (24OHC) の生合成抑制に起因する LXR の転写活性低下とその標的遺伝子である MBP などの発現抑制によって、ミエリン形成の障害を呈するものと推察された (Honsho et al. *J. Biochem.*, in press, 2019: 業績・原著論文 No. 8)。

なお、これら一連の研究を実施する過程において新たに捕捉した実験方法に関し、Proteomics of peroxisomes: An approach to identify novel functions and regulatory networks of these cellular organelles. に公表した (Okumoto et al. *Proteomics of peroxisomes (Subcellular Biochemistry series)* 89: 287-298, 2018: 業績・著書 No. 1 ; Miyata et al. *Proteomics of peroxisomes (Subcellular Biochemistry series)* 89: 463-471, 2018: 業績・著書 No. 2)。また、これら研究成果のうち、一部は田村茂彦教授 (基幹教育院) および奥本寛治助教 (理学研究院) との共同研究によるものである。

業績目録

原著論文

1. Niwa, H., Miyauchi-Nanri, Y., Okumoto, K., Mukai, S., Noi, K., Ogura, T., and Fujiki, Y. 2018.
A newly isolated Pex7-binding, atypical PTS2 protein P7BP2 is a novel dynein-type AAA+ protein.
J. Biochem. 164, 437-447.
2. Imoto, Y., Abe, Y., Honsho, M., Okumoto, K., Ohnuma, M., Kuroiwa, H., Kuroiwa, T., and Fujiki, Y. 2018.
Onsite GTP fueling via DYNAMO1 drives division of mitochondrion and peroxisome.
Nat. Commun. 9, article 4634.
3. Abe, Y., Honsho, M., Kawaguchi, R., Itoh, R., Fujitani, M., Fujiwara, K., Hirokane, M., Matsuzaki, T., Nakayama, K., Marutani, T., Nakayama, K.I., Yamashita, T., and Fujiki, Y. 2018.
Peroxisome biogenesis deficiency attenuates the BDNF-TrkB pathway-mediated development of cerebellum.

- Life Sci. Alliance.** 1, e201800062.
4. Mukai, S., Matsuzaki, T., and Fujiki, Y. 2019.
The cytosolic peroxisome-targeting signal (PTS)-receptors, Pex7p and Pex5pL, are sufficient to transport PTS2 proteins to peroxisomes.
Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Res. 1866, 441-449.
 5. Tanaka, A.J., Okumoto, K., Tamura, S., Abe, Y., Hirsch, Y., Deng, L., Ekstein, J., Chung, W.K., and Fujiki, Y. 2019.
A newly identified mutation in the *PEX26* gene associated with a milder type of Zellweger spectrum disorder.
Cold Spring Harb. Mol. Case Stud. 5, a003483.
 6. Imoto, Y., Abe, Y., Okumoto, K., Ohnuma, M., Kuroiwa, H., Kuroiwa, T., and Fujiki, Y. 2019.
Dynamics of nucleoside diphosphate kinase protein DYNAMO2 correlates with global GTP level during cell cycle of *Cyanidioschyzon merolae*.
Proc. Jpn. Acad., Ser. B. 95, 75-85.
 7. Tanaka, H., Okazaki, T., Aoyama, S., Yokota, M., Koike, M., Okada, Y., Fujiki, Y., and Gotoh, Y. 2019.
Peroxisomes control mitochondrial dynamics and the mitochondrion-dependent pathway of apoptosis.
J. Cell Sci., in press.
 8. Honsho, M., Dorninger, F., Abe, Y., Setoyama, D., Ohgi, R., Uchiumi, T., Kang, D., Berger, J., and Fujiki, Y. 2019.
Impaired plasmalogen synthesis dysregulates liver X receptor-dependent transcription in cerebellum.
J. Biochem., in press.

総説

1. 藤木幸夫, 奥本寛治, 本庄雅則. 2018.
オルガネラ間の協奏によるペルオキシソームの機能と恒常性の制御.
生体の科学, 第69巻6号, 591-595.
2. 藤木幸夫, 奥本寛治. 2018.
ペルオキシソームの形成と分解を基盤とした恒常性制御機構.
医学のあゆみ, 第267巻13号, 983-988.
3. Honsho, M. and Fujiki, Y. 2019.
Homeostasis of plasmalogens in mammals.
In **Encyclopedia of Food Chemistry**, Elsevier Inc., Waltham, USA. vol. 2, pp.218-233.

著書

1. Okumoto, K., Miyata, N., and Fujiki, Y. 2018.
Identification of peroxisomal protein complexes in mammalian cells.
In: del Río, L.A. and Schrader, M. (eds.) Proteomics of peroxisomes: An approach to identify novel functions and regulatory networks of these cellular organelles. (Series Subcellular Biochemistry), vol. 89, pp.287-298,
Springer, Humana Press, New York, USA.
2. Miyata, N., Okumoto, K., and Fujiki, Y. 2018.
Cell death or survival against oxidative stress.
In: del Río, L.A. and Schrader, M. (eds.) Proteomics of peroxisomes: An approach to identify novel functions and regulatory networks of these cellular organelles. (Subcellular Biochemistry series), vol. 89, pp.463-471,
Springer, Humana Press, New York, USA.

学会発表

1. 奥本寛治 (2018, 5/14 - 5/15).
ペルオキシソームの細胞内移動の制御機構.
「新生鎖の生物学」第5回若手ワークショップ, 山形.
2. 阿部雄一, 本庄雅則, 藤木幸夫 (2018, 6/30 - 7/1).
Pex14 欠損マウスにおける小脳形態異常の分子機構.
平成30年度日本生化学会九州支部例会, 福岡.
3. 小山桂恵奈, 奥本寛治, 田村茂彦, 藤木幸夫 (2018, 6/30 - 7/1).
テイルアンカー型タンパク質 ACBD5 の翻訳速度とペルオキシソームへの輸送・局在化効率の関連性の検討.
平成30年度日本生化学会九州支部例会, 福岡.
4. 山下昂一郎, 田村茂彦, 藤木幸夫 (2018, 6/30 - 7/1).
ペルオキシソーム形成因子 *Pex14p* の細胞周期依存的なリン酸化による機能制御.
平成30年度日本生化学会九州支部例会, 福岡.
5. Yukio Fujiki (2018, 8/26 - 8/29).
Peroxisome homeostasis: Tightly regulated import and export of matrix enzyme, catalase.
International Symposium on “Proteins: From the Cradle to the Grave”, Shiga, Japan.
6. Kanji Okumoto, Yuichi Yagita, Masanori Honsho, and Yukio Fujiki (2018, 8/26 - 8/29).
Biogenesis of peroxisomal tail-anchored membrane proteins, new splicing variants of Miro1, acyl-CoA binding domain containing protein 5 (ACBD5), and peroxin Pex26p.
International Symposium on “Proteins: From the Cradle to the Grave”, Shiga, Japan.

7. Yuichi Yagita, and Yukio Fujiki (2018, 8/26 - 8/29).
Maintenance and *de novo* formation of mammalian peroxisomes in the absence of membrane assembly peroxin, Pex16p.
International Symposium on “Proteins: From the Cradle to the Grave”, Shiga, Japan.
8. 藤木 幸夫 (2018, 9/24 - 9/26).
ペルオキシソームの構成酵素および膜タンパク質の局在性と生理機能制御.
第 91 回日本生化学会大会, 京都.
9. Masanori Honsho, and Yukio Fujiki (2018, 9/24 - 9/26).
Plasmalogen homeostasis links to cholesterol biosynthesis in brain.
第 91 回日本生化学会大会, 京都.
10. 山下昂一郎, 田村茂彦, 藤木幸夫 (2018, 9/24 - 9/26).
ペルオキシソーム形成因子 Pex14p の細胞周期依存的なリン酸化による機能制御メカニズムの解析.
第 91 回日本生化学会大会, 京都.
11. Yukio Fujiki (2018, 10/14 - 10/16).
Peroxisome Homeostasis and Human Disorders.
BIT's 8th Annual World Congress of Molecular & Cell Biology, Fukuoka, Japan.
12. 藤木 幸夫, 奥本 寛治, 宮田 暖, Emily Cheng (2018, 10/26 - 10/27).
過酸化水素分解酵素カタラーゼの細胞内局在制御による酸化ストレス応答の分子機構.
第 13 回臨床ストレス応答学会大会, 小樽.
13. 藤木 幸夫, 丹羽 一, 宮内(南里) 康弘, 奥本 寛治, 向井 悟, 野井 健太郎, 小椋 光, 遠藤 斗志也 (2018, 11/28 - 11/30).
新しく単離した Pex7 結合 PTS2 タンパク質 P7BP2 は新規ダイニンタイプ AAA+である.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
14. 奥本 寛治, 田村 茂彦, 八木田 悠一, 本庄 雅則, 藤木 幸夫 (2018, 11/28 - 11/30).
ペルオキシソーム局在性テイルアンカー型膜タンパク質の輸送局在化機構.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
15. Yukio Fujiki (2018, 12/2 - 12/4).
Peroxisome biogenesis, dysfunctions, and disorders.
International Conference on Plasmalogen 2018 (ICP 2018), Shanghai, China.
16. Yukio Fujiki, Yuuta Imoto, Yuichi Abe, Masanori Honsho, Kanji Okumoto, Mio Ohnuma, Haruko Kuroiwa, and Tsuneyoshi Kuroiwa (2018, 12/8 - 12/12).
Local GTP fueling via nucleoside diphosphate kinase like protein DYNAMO1 drives division of peroxisome and mitochondrion.
ASCB/EMBO 2018 Meeting, San Diego, USA.

17. Yukio Fujiki (2019, 3/23 - 3/27).
Peroxisome homeostasis: Tightly regulated import and export of matrix enzyme, catalase.
EMBO Workshop “Current advances in protein translocation across membranes”, Sant Feliu de Guixols, Spain.
18. Yuichi Abe, Masanori Honsho, Ryota Itoh, Ryoko Kawaguchi, Masashi Fujitani, Kazushirou Fujiwara, Masaaki Hirokane, Takashi Matsuzaki, Keiko Nakayama, Ryohei Ohgi, Toshihiro Marutani, Keiichi I. Nakayama, Toshihide Yamashita, and Yukio Fujiki (2019, 3/23 - 3/27).
Pathogenesis mechanism of peroxisome biogenesis disorders.
EMBO Workshop “Current advances in protein translocation across membranes”, Sant Feliu de Guixols, Spain.