トピックス
新進気鋭
シリーズ

第58回 日本生物物理学会年会 若手招待講演

1 細胞自律的な細胞内温度制御の分子機構

村上 光^{1,*}¹京都大学大学院工学研究科

*現 東京大学大学院薬学系研究科

1. はじめに

温度は、生体分子の存在状態や反応性を規定する基本的な物理量である。即ち、生物にとって温度は、自らを特徴づける因子であると同時に、生命活動を左右する最も身近な環境要因の一つである。それゆえ、生物が環境温度の変化に対して自らの温度（体温）を維持することは、生命の恒常性における根源的な機能であると考えられる。

2. ミトコンドリアを介する 1 細胞温度制御の可能性

近年開発された単一生細胞内の温度計測技術は、細胞内の温度が細胞外とは異なり不均一であることや、細胞内の温度が細胞機能に関連して時空間的に変動することを明らかにした¹⁾。これらの発見は、個々の細胞が固有の温度を有している可能性を示しており、生物が自らの温度を 1 細胞レベルで制御していることを想像させた。そのような仕組みに寄与する有力な候補として、エネルギー産生に重要な細胞内小器官であるミトコンドリアが挙げられる。ミトコンドリアは内膜と外膜の 2 つの膜から成り、その内膜には酸化的リン酸化を担う呼吸鎖複合体 I-V が局在している。酸化的リン酸化の過程では、電子伝達により内膜を隔てたプロトン濃度勾配（化学エネルギー）が形成され、これが呼吸鎖複合体 V（ATP 合成酵素）に消費されて ATP が生合成される。一方、この化学エネルギーの一部は ATP 生合成に消費されることなく熱として拡散しており、近年の 1 細胞温度計測でもミトコンドリアが発熱している様子が捉えられている^{2),3)}。ATP のみならずこの熱も生物にとって重要なミトコンドリアの産物であり、低温環境における体温維持に貢献すると認識されてきた。しかしながら、ミトコンドリア熱産生が環境温度の変化にตอบสนองして 1 細胞レベルで制御される仕組みは殆ど不明であった。

3. $\Delta 9$ 脂肪酸不飽和化酵素

これまで筆者らは、細胞が環境温度の変化に適応する仕組みを明らかにするために、環境温度と密接な関係にある生体膜に関する研究を行ってきた⁴⁾。生体膜はリン脂質（図 1a）を主たる構成因子とする脂質二重層構造から成り、リン脂質分子の親水性頭部や疎水性尾部の組成が流動性といった生体膜の物理化学的性質を形成する。例えば、リン脂質尾部の不飽和脂肪酸（*cis*-二重結合により折れ曲がった構造を持つ脂肪酸）はリン脂質分子間の疎水性相互作用を低下させ、流動性を上昇させる。一方、生体膜の流動性は環境温度の変化にも強く影響され、環境温度が低下するほど流動性は低下する。このような生体膜の流動性の変動は生体膜の機能が適切に発揮されることを妨げるため、細胞は低温環境ではリン脂質の尾部における不飽和脂肪酸の割合を増加させることで生体膜の流動性の低下を防ぐことが知られている（図 1b）。筆者らが解析対象としてきた $\Delta 9$ 脂肪酸不飽和化酵素は、飽和脂肪酸に二重結合を導入する化学反応を触媒する酵素であり、不飽和脂肪酸の生合成における律速酵素である（図 1c）。酵母等の単細胞生物を含めた広い生物種におい

図 1

生体膜を介した低温環境への適応機構。a) リン脂質分子（ホスファチジルコリン）の構造。b) 温度変化及びリン脂質尾部における不飽和脂肪酸の割合の変化が生体膜の流動性に与える影響。c) $\Delta 9$ 脂肪酸不飽和化酵素による酵素反応。

A Cell-autonomous Control of Intracellular Temperature by Mitochondrial Thermogenesis

Akira MURAKAMI^{1,*}¹Graduate School of Engineering, Kyoto University

*Present Address: Graduate School of Pharmaceutical Science, The University of Tokyo

て、 $\Delta 9$ 脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子発現が低温暴露に応答して上昇することが報告されている。このことから、不飽和脂肪酸の生合成は低温環境に適応するための細胞自律的な仕組みであると考えられてきた。今回筆者らは、この不飽和脂肪酸の生合成が1細胞レベルの温度制御に寄与していると仮説を立て、 $\Delta 9$ 脂肪酸不飽和化酵素と細胞内温度の関係について1細胞温度計測により解析した。

4. $\Delta 9$ 脂肪酸不飽和化酵素による細胞内温度制御

本研究では、モデル細胞としてショウジョウバエ培養細胞 S2 を用いた。S2 細胞は $\Delta 9$ 脂肪酸不飽和化酵素として DESAT1 しか有さず、 $\Delta 9$ 脂肪酸不飽和化酵素の細胞機能の研究に適したモデル細胞である。S2 細胞の温度計測に際しては、蛍光性ポリマー温度センサー FPT 及び蛍光寿命顕微鏡 (FLIM) による細胞内温度計測法⁵⁾を導入した。まず、通常培養条件である 25°C の環境温度において、S2 細胞内の温度が DESAT1 の特異的阻害剤により約 5°C 低下し、これが培養培地への不飽和脂肪酸の添加により回復することを見出した。さらに、CRISPR-Cas9 システムにより樹立した *Desat1* 遺伝子破壊株の細胞内温度は、野生株の細胞内温度よりも有意に低かった。これらの結果から、定常時の S2 細胞内の温度が DESAT1 依存的に高く維持されていることが示された。この細胞内温度の上昇は、ミトコンドリアの酸化的リン酸化に依存した熱産生に起因していた。さらに、不飽和脂肪酸を含有したリン脂質が ATP 合成酵素の複合体形成及び活性を維持すること、これが定常時の酸化的リン酸化の活性に重要であることが明らかとなった (図 2 左)。

また、S2 細胞を 15°C の低温環境で 4 時間培養すると、不飽和脂肪酸を含有するリン脂質の割合がミトコンドリアにおいて DESAT1 依存的に増加した。この際には ATP 合成酵素の複合体形成が促進され、酸化的リン酸化の活性の指標であるミトコンドリア膜電位が顕著に上昇した。以上の結果から、低温環境における不飽和脂肪酸の生合成は、生体膜の流動性のみならずミトコンドリア熱産生を向上させるために重要であることが示された (図 2 右)。

5. 終わりに

一連の結果は、個々の細胞が環境温度の変化に対して細胞内温度を細胞自律的に維持していること、その仕組みに生体膜、及び膜脂質分子が関与することを強く示唆している。一方で、細胞内という微小空間における温度を理解するためには、本研究で示した細胞内

図 2

$\Delta 9$ 脂肪酸不飽和化酵素 DESAT1 による細胞内温度の制御機構のモデル図。CI-CV は呼吸鎖複合体 I-V。

熱産生のみならず、細胞内の特異な熱力学的環境を考慮する必要がある。今後は、細胞に遍く存在する生体膜脂質が細胞の熱力学的特性に如何に関与するかについても研究することにより、1細胞の温度恒常性、ひいては生物と温度の1細胞レベルの関係性を説明したい。

本研究は京都大学大学院工学研究科の博士後期課程在籍時に、梅田眞郷博士 (現京都大学名誉教授)、長尾耕治郎博士との共同研究により行われました。また、FPT による1細胞温度計測は原田慶恵博士 (大阪大学)、岡部弘基博士 (東京大学) との共同研究により達成されました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Okabe, K. *et al.* (2012) Nat. Commun. **3**, 705. DOI: 10.1038/ncomms1714.
- 2) Kiyonaka, S. *et al.* (2013) Nat. Methods **10**, 1232-1238. DOI: 10.1038/nmeth.2690.
- 3) Chrétien, D. *et al.* (2018) PLoS Biol. **16**, e2003992. DOI: 10.1371/journal.pbio.2003992.
- 4) Murakami, A. *et al.* (2017) J. Biol. Chem. **292**, 19976-19986. DOI: 10.1074/jbc.M117.801936.
- 5) Hayashi, T. *et al.* (2015) PLoS One **10**, e0117677. DOI: 10.1371/journal.pone.0117677.

村上 光

村上 光 (むらかみ あきら)

東京大学特別研究員 (日本学術振興会特別研究員 PD)

2020 年 3 月京都大学大学院工学研究科博士後期課程修了, 2020 年 4 月より現職。

研究内容: 1 細胞内温度の形成機構の解明

連絡先: 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 薬

学系総合研究棟生体分析化学教室

E-mail: murakami_a@mol.f.u-tokyo.ac.jp