ホスファチジルセリンはエンドソームを介した物質輸送に必須である リン脂質の新規機能

ホスファチジルセリン (phosphatidylserine; PS) は極性頭部にセリン残基をもつグリセリン脂質である (図1A)。真核細胞の膜の5~10%を構成し、特に細胞膜の細胞質側に濃縮して存在することが知られている。細胞膜におけるPSの機能として、(1) 細胞死に伴い細胞外に露出し、死細胞の貪食を誘起する“eat-me”シグナルとして機能すること、(2) カルシウムイオン、ジアシルグリセロールと協調してプロテインキナーゼCを細胞膜へ移行・活性化すること、などがよく知られている⁽¹⁾。これら細胞膜における機能に加えて、細胞内に存在するPSの機能が近年になり明らかにされてきた。本稿では、特に細胞内物質輸送に必須な細胞内PSに関しての最新の知見を紹介する。

エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれた細胞膜上または外界の物質のたどる経路には、(1) リソソームへ運ばれ分解を受ける経路/分解経路、(2) 細胞膜へ戻る経路/リサイクル経路、(3) ゴルジ体へ運ばれる経路/逆行性輸送経路の3種類がある。分解経路に乗る代表的な因子にEGFR (上皮成長因子受容体) があ

る。EGFを細胞膜上で結合し活性化したEGFRは、初期エンドソームから後期エンドソームへ、次いでリソソームへ運搬されることで分解を受ける。このシステムは、活性化された増殖因子受容体から増殖シグナルが出続けることによって細胞が過増殖することを防ぐための重要な細胞増殖の負の調節機構である。初期エンドソームからリサイクリングエンドソーム (REs) を経て細胞膜へリサイクルされる代表的な分子に、トランスフェリン受容体がある。上述の分解経路と対照的に、受容体の合成を新規に行うことなしにリガンド分子 (トランスフェリン) を繰り返し取り込むことができるというメリットがある。

近年、PSに高い特異性をもつタンパク質性の可視化プローブ (lactadherin タンパク質のC2ドメインにGFPを結合させた融合タンパク質) が報告された⁽²⁾。lactC2-GFPを細胞質中に発現することによって細胞質側のPSを可視化したところ、小胞体、ゴルジ体、ミトコンドリアなどPSの合成/代謝/運搬に関与している細胞小器官で予想に反して局在が認められず、その一方でエンド

図1 ■ PSを認識するタンパク質 evelctin-2

(A) PSはグリセロ骨格をもつリン脂質であり、極性頭部にセリン残基をもつ。(B) ヒト由来evelctin-2のPHドメインのO-ホスホセリン結合領域。O-ホスホセリンの電子密度 (σ A-weighted $F_o - F_c$ omit map; 3.0σ) をメッシュで示す。水素結合と塩橋を破線で示す。(C) evelctin-2はPHドメインによってREsに局在し、REsからゴルジ体への逆行性輸送 (例: コレラ毒素) を制御する。リサイクル経路 (トランスフェリン) には関与しない。

ソームと細胞膜に強い局在が認められた。彼らは続報において、エンドソームでも特にREsに強いPSの局在を認めたとしている⁽³⁾。

Evectin-2は、N末端にPH (pleckstrin homology) ドメイン (100 ~ 120 アミノ酸から構成される領域で、ホスファチジルイノシトールリン酸に結合する) をもち、C末端に膜貫通領域をもつ約220アミノ酸から構成されるタンパク質である。内田らは、(1) evectin-2がREsに局在すること、(2) evectin-2 PHがホスファチジルイノシトールリン酸でなくPSを特異的に認識すること、(3) O-ホスホセリンとの共結晶をX線構造解析することで、リガンド認識に必要なアミノ酸残基を特定 (図1B)、(4) REsの細胞質側に豊富に存在するPSをevectin-2 PHが認識することでevectin-2がREsに局在することを明らかにした⁽⁴⁾。この結果は、GrinsteinらのlactC2-GFPを用いた結果⁽³⁾と合致している。

Evectin-2のノックダウンにより、ゴルジ体に逆行性輸送経路によって運ばれるコレラ毒素の輸送がREsで大幅に遅滞するが、トランスフェリンのリサイクル経路には影響が認められない。また、逆行性輸送経路を使ってゴルジ体局在を維持しているタンパク質 (TGN46とGP73) のゴルジ体局在が失われる。このことから、内田らはevectin-2がREsからゴルジ体へ向かう逆行性輸送経路の特異的な制御因子であると結論している⁽⁴⁾ (図1C)。PSが単なる生体膜の構成脂質として存在するのではなく、PS結合タンパク質を通じて細胞機能を発揮していることを示したことに意義がある。

李らはPS生合成能力が低下しているCHO細胞変異株で、TGN38 (TGN46と同じく逆行性輸送経路を使ってゴルジ体局在を維持しているタンパク質) のゴルジ体局在が失われており、それは逆行性輸送経路の特異的な阻害に起因することを示している⁽⁵⁾。さらに、培地へのエタノールアミン (PS合成前駆体) の添加によってこの異常が回復することから、PSの減少と逆行性輸送経路阻害の因果関係を明確に示している。

酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) においてもPSの機能が明らかにされてきている。GrinsteinのグループはlactC2-GFPを用いることで、酵母の出芽部位を構成する細胞膜にPSが特に濃縮して存在することを示した⁽⁶⁾。種々の分泌経路に異常をもつ温度感受性変異細胞 (*sec1^{ts}*, *sec6^{ts}*, *sec7^{ts}* 細胞) を用いることによって、この出芽部位におけるPSの濃縮がゴルジ体からの分泌経

路によって形成・維持されていることを示唆した。*sec1^{ts}*, *sec6^{ts}* 細胞では非許容温度培養下で出芽部位へのPSの濃縮は認められなくなり、その一方で出芽部位の細胞質部分にPSが蓄積する。これは、ゴルジ体から分泌されたPSを含む輸送小胞が出芽部位を構成する細胞膜に融合することができず、その直下の細胞質部分に蓄積してしまったものと解釈できる。

彼らは、このPSの出芽部位での濃縮パターンがCdc42p (細胞極性の制御因子) の局在と酷似していることに着目して、PSとCdc42pの関係について研究を進めた。PSの生合成酵素を欠損している*cho1Δ*細胞では、(1) 出芽形成率が野生株と比較して非常に悪いこと、(2) 出芽をしている細胞でCdc42pの局在を見てみると出芽部位へのCdc42pの局在が完全に失われていること、(3) 培地にlysoPS (細胞内に取り込まれたのちにPSへと代謝される) を添加することによって出芽形成率が上昇し、Cdc42pの出芽部位への局在が回復すること、を明らかにした。Cdc42pはC末端に正電荷をもつアミノ酸残基がクラスターを形成している。PSとCdc42pが静電的な相互作用をすることで、PSの極性をもった分布がCdc42pの極性化を制御している可能性が考えられる。

Evectin-2の同定およびPS特異的な可視化プローブ (lactC2, evectin2-PH) の開発を通じて、細胞内PSの分布と機能が哺乳細胞で明らかにされてきた。酵母においては細胞小器官におけるPSの存在は可視化されていないが (これは量的な問題と考えられる)、それにもかかわらずPSの欠損により、細胞内物質輸送を介した細胞極性形成／出芽に異常が出ることは興味深い。細胞質にはevectin-2やCdc42p以外にも未同定の多様なPS結合タンパク質が存在し、哺乳細胞では特にREsを介した膜輸送経路を制御することで多彩な細胞現象を制御している可能性が考えられる。

- 1) P. A. Leventis & S. Grinstein: *Annu. Rev. Biophys.*, **39**, 407 (2010).
- 2) T. Yeung, G. E. Gilbert, J. Shi, J. Silvius, A. Kapus & S. Grinstein: *Science*, **319**, 210 (2008).
- 3) G. D. Fairn, N. L. Schieber, N. Ariotti, S. Murphy, L. Kuerschner, R. I. Webb, S. Grinstein & R. G. Parton: *J. Cell Biol.*, **194**, 257 (2011).
- 4) Y. Uchida, J. Hasegawa, D. Chinnapen, T. Inoue, S. Okazaki, R. Kato, S. Wakatsuki, R. Misaki, M. Koike, Y. Uchiyama *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 15846 (2011).
- 5) S. Lee, Y. Uchida, K. Emoto, M. Umeda, O. Kuge, T. Ta-

- guchi & H. Arai: *Genes Cells*, **17**, 728 (2012).
 6) G. D. Fairn, M. Hermansson, P. Somerharju & S. Grinstein: *Nat. Cell Biol.*, **13**, 1424 (2011).

(田口友彦, 東京大学大学院薬学系研究科)

プロフィール

田口 友彦 (Tomohiko TAGUCHI)

＜略歴＞1992年東京大学理学部生物化学科卒業／1997年同大学大学院理学系研究科修了, 理学博士／理化学研究所基礎科学特別研究員, 日本学術振興会海外特別研究員 (エール大学医学部細胞生物学部門), 大阪大学大学院医学系研究科特任准教授などを経て, 現職＜研究テーマと抱負＞物質のリサイクルを物質の分解と対比しながら理解していきたい. 特に, リサイクリングエンドソームの構造と機能を, 細胞生物学／生化学的手法を使って明らかにしていきたいと思っています＜趣味＞酒蔵巡り, 愛犬と遊ぶこと