

# 細胞内エネルギー代謝と生理機能

後藤仁志・野村真・小野勝彦

京都府立医科大学 医学科 教養生物学

## 序論

多細胞生物は様々な栄養を摂取し、それらを代謝することによって生命活動を維持している。このうち糖質・脂質・タンパク質は分解されてエネルギーを生じ、アデノシン三リン酸(ATP)というかたちエネルギーを取り出す。細胞内エネルギー代謝は、細胞が取り込んだ分子が様々な酵素反応によって分解されてエネルギーが取り出される過程および、核酸や脂質合成のための中間代謝産物を供給する過程のことを示し、そのコアのとなる過程は、多くの生物で高度に保存されている。特に、グルコースが分解されて、 $\text{H}_2\text{O}$  と  $\text{CO}_2$  に変換される過程は高校レベルの生物学教科書でも詳細に紹介され、生命活動を理解する上で最も基礎的な知識の一つである。このように古典的なエネルギー代謝の分野であるが、近年の解析技術の改良によって、新たな発見が相次いでいる。本論文では、エネルギー代謝経路と細胞機能について述べ、近年明らかとなってきたエネルギー代謝と遺伝子発現調節の関係を紹介し、更には筆者たちのグループで研究をおこなっているエネルギー源であるグリコーゲンについて述べ、エネルギー代謝研究の進展について議論したい。

## 1. 細胞内エネルギー代謝経路と細胞機能

グルコースなどの糖質は、細胞内に取り込まれるとヘキソキナーゼによってリン酸化されてグルコース 6 リン酸(G6P)となる。G6P は、ペントースリン酸回路によって核酸の合成などに用いられるか、10 種以上の酵素が関与する過程によって ATP、nicotinate adenine dinucleotide(NAD)、ピルビン酸に変換される(図 1)。後者の一連の反応は、1900 年代前半に発見され、発見者達の名前をとリエムデン・マイヤー・ホフ経路、あるいは解糖系と呼ばれている。解糖系における重要な調節機構の一つとしてホスホフルクトキナーゼ 1(PFK1)の活性制御があげられる。PFK1 は、解糖系に

においてフルクトース-6-リン酸に作用して、フルクトース-1,6-ビスリン酸を生成する酵素である。PFK1 の類似酵素である PFK2 は、同じフルクトース-6-リン酸(Fru6P)に作用してフルクトース-2,6-ビスリン酸(Fru2,6BP)を生成する。この Fru2,6BP は解糖系における副産物であるが、PFK1 の活性をアロステリックに調節する重要な因子である。PFK2 に属する四つの分子の一つである PFKFB3 は、Fru2,6BP を生成する重要な酵素であることが知られている。

解糖系の最終産物であるピルビン酸は、ミトコンドリアに輸送されてアセチル CoA へと変換され、TCA サイクルと酸化的リン酸化の過程を経て ATP が合成される(図 1)。これらのミトコンドリアにおける反応は、酸素を必要とし、酸素が無い嫌気的な条件下では、ピルビン酸はアセチル CoA ではなく乳酸へと変換される。しかし、ガン細胞では、酸素存在下でも主に解糖系によって ATP 合成を行い、この現象を Warburg 効果と呼ぶ(Warburg, 1956)。ガン細胞は、通常細胞とは異なるピルビン酸キナーゼアイソフォーム M2(PKM2)を発現し、これが TCA 回路に導入されるはずのピルビン酸を乳酸に変換し、Warburg 効果に寄与していることが明らかとなった。(Christofk et al., 2008)。最近の研究では、正常な骨細胞の分化や血管細胞の分化に好気的な解糖系エネルギー代謝を行うことが必要であり、解糖系を阻害すると細胞分化が抑制されることが報告されている(De Bock et al., 2013; Esen et al., 2013)。特に De Bock らの報告では、エネルギー代謝の阻害は遺伝子発現の変化を伴わず発生異常を引き起こすため、解糖系を介した迅速なエネルギー供給が遺伝子によってプログラムされた発生事象をタイムスケジュール通りに進めるために不可欠であることを示唆している。更に、脳の発生期においても神経細胞間のシナプスが盛んに形成される時期に、好気的な解糖系が盛んであることが報告されている(Goyal et al., 2014)。これらのことから、細胞内エネルギー代謝、特に解糖系は、発生や分化を調節する重要なファクターであることが示唆される。

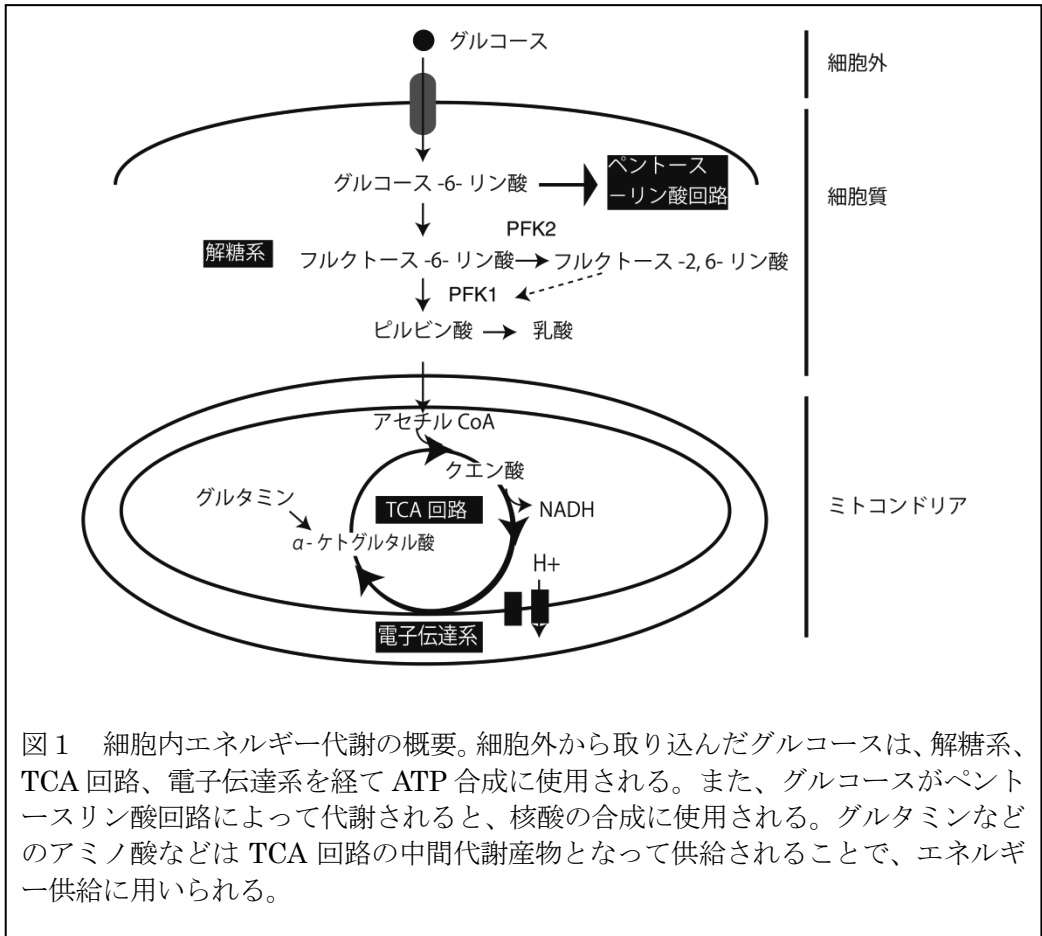


図1 細胞内エネルギー代謝の概要。細胞外から取り込んだグルコースは、解糖系、TCA 回路、電子伝達系を経て ATP 合成に使用される。また、グルコースがペントースリン酸回路によって代謝されると、核酸の合成に使用される。グルタミンなどのアミノ酸などは TCA 回路の中間代謝産物となって供給されることで、エネルギー供給に用いられる。

## 2. 細胞内エネルギー代謝と細胞周期・細胞死の調節

細胞内エネルギー代謝はどのようなメカニズムによって発生・分化を制御しているのだろうか？細胞内代謝は、細胞増殖や細胞死と深く関与していることが報告されている。例えば、細胞外栄養素の枯渇によって細胞周期が停止する。細胞外の栄養素の枯渇はアデノシン一リン酸(Adenosine Mono-Phosphate)の細胞内濃度の上昇をひき起こし、アデノシン一リン酸依存性キナーゼ(AMPK)が活性化され、標的タンパク質の一つである転写因子 p53 をリン酸化する。リン酸化 p53 は p21 遺伝子の転写を促進し、発現した p21 は、サイクリン依存性キナーゼ(Cdk)の活性を抑制することで細胞周期を停止させる(Jones et al., 2005)。近年、PFKFB3 を細胞に過剰発現させると、

細胞増殖が促進されることが報告されている(Yalcin et al., 2009)。この報告によると、PFKFB3 は細胞質のみならず、核にも存在して核の Fru2,6BP の上昇を引き起こす。この核内 Fru2,6BP の濃度上昇が cyclin D3 や、cdc25c などの細胞周期に重要な因子の発現を調節することが報告されている。これらの結果から、細胞内代謝経路における中間代謝産物は細胞周期調節系と密接に関連していることが示唆されている。

細胞が極度の栄養飢餓や長期間の栄養飢餓にさらされ、長期間 p53 のリン酸化が維持されると、細胞はアポトーシスを誘導することが報告されている。p53 は、DNA 損傷などにおけるアポトーシス促進因子としての役割がよく知られており、下流の因子として PUMA、BAX といったアポトーシス促進因子の発現を促進する(Miyashita and Reed, 1995; Nakano and Vousden, 2001; Zhao et al., 2008)。逆に、p53 は細胞内代謝に関連する因子の発現誘導を行うことによって抗アポトーシス作用も示す。グルコース飢餓における p53 の下流因子として、ホスホグリセリン酸ムターゼ(PGM)の発現が抑制され、TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator (TIGAR)や glutaminase2 の発現が誘導される(Bensaad et al., 2006; Hu et al., 2010; Kondoh et al., 2005; Matoba et al., 2006)。PGM は解糖系の酵素であり、PGM の発現抑制は解糖系の阻害につながる。また、TIGAR は Fru2,6BP を Fru6P に転換する酵素であり、TIGAR の発現誘導は PFK1 の活性を抑制することで解糖系阻害につながる。これらの作用により、p53 の活性化は解糖系の阻害を引き起こし、グルコースは通常よりもペントースリン酸経路によって消費される。ペントースリン酸経路によって生成される分子の一つである NADPH は、細胞内の還元型グルタチオンの維持を介して抗酸化作用を示す。また、glutaminase2 は、グルタミンをグルタミン酸に転換する酵素であり、生成されたグルタミン酸は、TCA 回路に導入されてミトコンドリアでの呼吸を推進したり、グルタチオン合成に関与することによって抗酸化作用を示す。これらのことから、p53 の活性化は細胞の栄養状態における細胞内での様々なバランスを調節しており、その平衡状態が乱れると細胞死に至ると考えられる。

### 3. 細胞内エネルギー代謝とエピジェネティクス

コア細胞内エネルギー代謝経路における中間産物は、エピジェネティクスの機構を介して遺伝子発現に関与することで細胞機能を制御することが明らかとなってきた。エネルギー代謝経路における電子伝達体である NAD の酸化型(NAD<sup>+</sup>)は、ヒストン脱

アセチル化酵素である Sirtuin ファミリーを活性化することによって遺伝子発現を制御することが知られている(Chang and Guarente, 2014)。また、アセチル CoA は、ヒストンタンパク質のアセチル化のドナーとなることで遺伝子発現を調節することが知られている。遺伝子発現に関与するアセチル CoA は、哺乳類では現在のところ二つの供給経路によって産生されると考えられている。一つめは、TCA サイクルの中間代謝産物であるクエン酸が、ミトコンドリアから細胞質に輸送され、ATP-citrate lyase(ACL)の作用によってアセチル CoA に転換される経路である。(Wellen et al., 2009)。二つ目は、核に存在するピルビン酸脱水素酵素複合体が、核内でピルビン酸をアセチル CoA に変換する経路である(Sutendra et al., 2014)。いずれにせよ、ヒストンアセチル化のと細胞内エネルギー代謝が密接に関係していることが示唆される。これらの制御は特定の遺伝子の発現を制御しているのであろうか？これまでの報告では、培養細胞で ACL の発現抑制を行うと、グローバルなヒストンのアセチル化の減少のみならず、PFK1 や乳酸脱水素酵素 A(LDHA)の発現阻害を引き起こすことが報告されている。このことから、アセチル CoA の細胞内濃度はフィードバック的に細胞内代謝に影響することが考えられる。更に、胚性幹細胞では TCA サイクルの中間代謝産物である  $\alpha$ -ケトグルタル酸が、脱メチル化酵素である Tet ファミリーの活性を制御することによりヒストンのメチル化を調節していることが報告された(Carey et al., 2014)。このことは、発生期のほかの時期や組織においても同様のメカニズムが関与していることを示している。これらの知見はいずれも、細胞内代謝とエピジェネティクスの関連の重要性を示唆していると考えられ、更に細胞内代謝経路が一時的に異常におちいると、エピジェネティックな機構によって後々の表現系に影響を及ぼすことも考えうる。

#### 4. グリコーゲンと生理機能制御

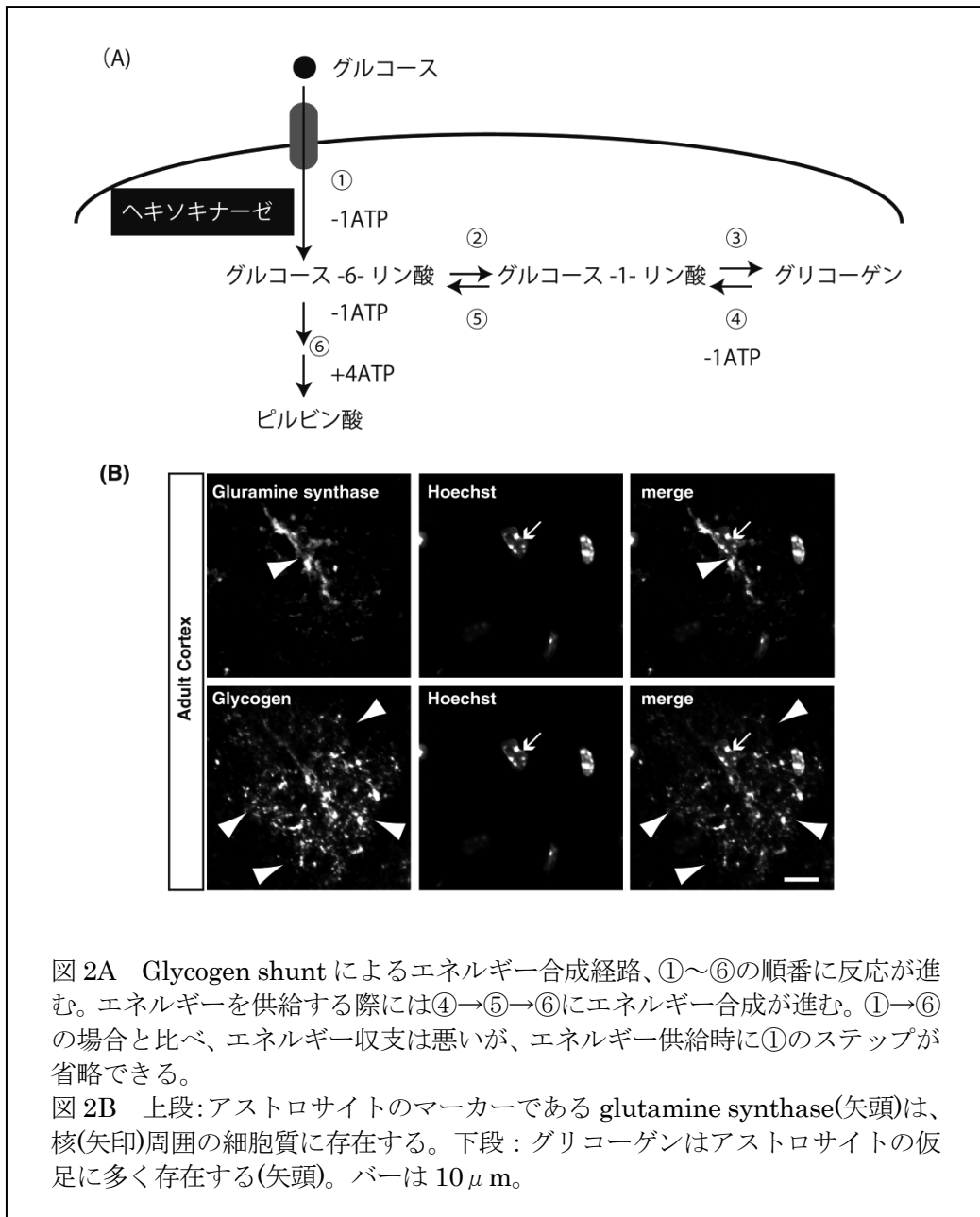
グリコーゲンは、1800 年代にクロード・ベルナールらによって見出されたグルコースが多数重合した多糖類である。グルコースは  $\alpha$  1,4 結合によって直鎖状のグルコースポリマーを形成し、 $\alpha$  1,6 結合によって分岐を作る。グリコーゲンを蓄える主要な組織は、肝臓、筋肉および脳である。グリコーゲンは、グルコースから主にグリコーゲンシンターゼによって合成され、使用時は、グリコーゲンホスホリラーゼによってグルコース-1-リン酸に変換される。生成されたグルコース-1-リン酸は、ホスホグルコ

ムターゼの作用によってグルコース-6-リン酸(G6P)に転換され、解糖系に供されてエネルギーの産生が行われる。グリコーゲンホスホリラーゼは、リン酸化や細胞内エネルギーの指標となる AMP によってアロステリックに正の活性調節を受ける。グリコーゲンは、筋肉では運動時に無酸素的に解糖系を駆動させる栄養貯蔵物質として働いていることから、エネルギー欠乏時にグルコースの代替として即時的に用いられる栄養貯蔵物質として働いていると考えられている。しかし、近年ではグリコーゲンはより動的に用いられる栄養素であることが提唱されている。すなわち、細胞内に取り込まれたグルコースは即座に解糖系に供与されるのではなく、一旦グリコーゲンに取り込まれ、エネルギー要求に応じてグリコーゲンが分解され、G6P に転換されて解糖系に供与されるという代謝経路である。グルコースが直接解糖系によって代謝される場合は 2 分子の ATP が使用され、4 分子の ATP が生成されるが、グリコーゲンを介する場合は 3 分子の ATP が使用されるため、最終的に 1 分子の ATP が生み出される(図 2A①~⑥の順番に反応が進む)。このように直接的な解糖系よりもエネルギー収支上は不利であるが、グリコーゲンを栄養供給源として使用することにより、解糖系の律速反応の一つであるグルコース→G6P の反応をスキップすることができるため、短期間にまとまったエネルギーを供給するのに都合がよいと考えられる。筋肉などでは収縮の合間に、使用されたグリコーゲンがグルコースから再合成され次の収縮のエネルギーとなる。このことは'Glycogen shunt'と呼ばれている(Shulman and Rothman, 2001)。Glycogen shunt は、神経系のエネルギー代謝経路にも重要であることが報告されている。血管から供給されたグルコースは直接神経細胞に供給されるのではなく、グリア細胞の一種であるアストロサイトのグリコーゲンに貯蔵され、使用される。神経系においては、興奮性シナプスにおける神経伝達物質であるグルタミン酸を放出後直ちに回収し、再使用することが情報伝達に重要であるが、この時の ATP 産生に Glycogen shunt のメカニズムが使用されていることが報告されている(Shulman et al., 2001)。グリコーゲン使用に重要な酵素であるグリコーゲンホスホリラーゼの阻害剤を海馬に投与すると、海馬神経細胞のシナプス伝達が阻害され、その結果として記憶形成に異常が認められることがニワトリやマウスを用いた実験によって証明されている(Gibbs et al., 2006; Suzuki et al., 2011)。筆者達の免疫染色を用いた組織学的解析によっても、glutamine synthase 陽性のアストロサイト(図 2B 上段矢頭、矢印は核を示している)において、グリコーゲンはシナプス間隙を被覆しているアストロサ

イトの突起に豊富に存在することが明らかとなっており(図 2B 下段矢頭)、グリコーゲンがシナプス近傍でのエネルギー供給に重要なことが示唆される。これらの報告から、**Glycogen shunt** は短期間に多量のエネルギーを供給する基礎的なメカニズムであること可能性が示唆される。

近年、グリコーゲンはガン細胞が **Glycogen shunt** のメカニズムによってエネルギーを供給し、分裂・増殖する際に必要なエネルギー源であることが報告された(Favaro et al., 2012)。このことから、グリコーゲンは単なる貯蔵物質ではなく、細胞の基本的機能を行うためにダイナミックに使用されるエネルギー源であることが示唆される。個体の発生・分化は短期間に多量のエネルギーを必要とする生物の事象であるが、発生・分化におけるグリコーゲンの生理的意義はあまり報告されていない。しかしながら、上述のような細胞周期やエピジェネティクスの機構を通じて、グリコーゲンは発生分化を制御していることが予想される。今後、筆者達の研究の進展によりこれらの事象が明らかとなることを期待したい。







## 5. 今後の展望

これまでは、細胞内エネルギー代謝の研究は、生化学的手法や培養細胞を用いた実験など比較的均一な条件下で行われてきた。今後は、細胞内エネルギー代謝の生物学的重要性を組織、個体レベルで明らかにする必要がある。近年開発された質量顕微鏡は、組織レベルの微小な代謝変化をとらえるのに非常に強力なツールである。組織の固定法によって細胞内エネルギー代謝の中間産物量が増加することが未だ問題であると考えられるが(Sugiura et al., 2014)、キャピラリー電気泳動型質量分析計(CE-MS)など生化学的手法と組み合わせることによって、微小領域での細胞内エネルギー代謝を検出することが可能であると考えられる。これらの手法を用いて、筆者達の研究室で解析しているような発生のような比較的小さな組織を対象とする生物学的事象も明らかとなると考えられる。

## 5. 謝辞

グリコーゲンに対するモノクローナル抗体を供与頂いた奥羽大学 馬場麻人教授に感謝申し上げます。また、研究全般の遂行に御協力いただいた京都府立医大生物学教室の有村和弘氏、川見美里氏に感謝申し上げます。

## 参考文献

- Bensaad, K., Tsuruta, A., Selak, M.A., Vidal, M.N., Nakano, K., Bartrons, R., Gottlieb, E., and Vousden, K.H. (2006). TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. *Cell* *126*, 107-120.
- Carey, B.W., Finley, L.W., Cross, J.R., Allis, C.D., and Thompson, C.B. (2014). Intracellular alpha-ketoglutarate maintains the pluripotency of embryonic stem cells. *Nature*.
- Chang, H.C., and Guarente, L. (2014). SIRT1 and other sirtuins in metabolism. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* *25*, 138-145.
- Christofk, H.R., Vander Heiden, M.G., Harris, M.H., Ramanathan, A., Gerszten, R.E., Wei, R., Fleming, M.D., Schreiber, S.L., and Cantley, L.C. (2008). The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumour growth. *Nature* *452*, 230-233.
- De Bock, K., Georgiadou, M., Schoors, S., Kuchnio, A., Wong, B.W., Cantelmo, A.R., Quaegebeur, A., Ghesquiere, B., Cauwenberghs, S., Eelen, G., *et al.* (2013). Role of PFKFB3-driven glycolysis in vessel sprouting. *Cell* *154*, 651-663.
- Esen, E., Chen, J., Karner, C.M., Okunade, A.L., Patterson, B.W., and Long, F. (2013). WNT-LRP5 signaling induces Warburg effect through mTORC2 activation during osteoblast differentiation. *Cell metabolism* *17*, 745-755.
- Favaro, E., Bensaad, K., Chong, M.G., Tennant, D.A., Ferguson, D.J., Snell, C., Steers, G., Turley, H., Li, J.L., Gunther, U.L., *et al.* (2012). Glucose utilization via glycogen phosphorylase sustains proliferation and prevents premature senescence in cancer cells. *Cell metabolism* *16*, 751-764.
- Gibbs, M.E., Anderson, D.G., and Hertz, L. (2006). Inhibition of glycogenolysis in astrocytes interrupts memory consolidation in young chickens. *Glia* *54*, 214-222.
- Goyal, M.S., Hawrylycz, M., Miller, J.A., Snyder, A.Z., and Raichle, M.E. (2014). Aerobic glycolysis in the human brain is associated with development and neotenus gene expression. *Cell metabolism* *19*, 49-57.
- Hu, W., Zhang, C., Wu, R., Sun, Y., Levine, A., and Feng, Z. (2010). Glutaminase 2, a

novel p53 target gene regulating energy metabolism and antioxidant function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *107*, 7455-7460.

Jones, R.G., Plas, D.R., Kubek, S., Buzzai, M., Mu, J., Xu, Y., Birnbaum, M.J., and Thompson, C.B. (2005). AMP-activated protein kinase induces a p53-dependent metabolic checkpoint. *Molecular cell* *18*, 283-293.

Kondoh, H., Lleonart, M.E., Gil, J., Wang, J., Degan, P., Peters, G., Martinez, D., Carnero, A., and Beach, D. (2005). Glycolytic enzymes can modulate cellular life span. *Cancer research* *65*, 177-185.

Matoba, S., Kang, J.G., Patino, W.D., Wragg, A., Boehm, M., Gavrilova, O., Hurley, P.J., Bunz, F., and Hwang, P.M. (2006). p53 regulates mitochondrial respiration. *Science* *312*, 1650-1653.

Miyashita, T., and Reed, J.C. (1995). Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene. *Cell* *80*, 293-299.

Nakano, K., and Vousden, K.H. (2001). PUMA, a novel proapoptotic gene, is induced by p53. *Molecular cell* *7*, 683-694.

Shulman, R.G., Hyder, F., and Rothman, D.L. (2001). Cerebral energetics and the glycogen shunt: neurochemical basis of functional imaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *98*, 6417-6422.

Shulman, R.G., and Rothman, D.L. (2001). The "glycogen shunt" in exercising muscle: A role for glycogen in muscle energetics and fatigue. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *98*, 457-461.

Sugiura, Y., Honda, K., Kajimura, M., and Suematsu, M. (2014). Visualization and quantification of cerebral metabolic fluxes of glucose in awake mice. *Proteomics* *14*, 829-838.

Sutendra, G., Kinnaird, A., Dromparis, P., Paulin, R., Stenson, T.H., Haromy, A., Hashimoto, K., Zhang, N., Flaim, E., and Michelakis, E.D. (2014). A nuclear pyruvate dehydrogenase complex is important for the generation of acetyl-CoA and histone acetylation. *Cell* *158*, 84-97.

Suzuki, A., Stern, S.A., Bozdagi, O., Huntley, G.W., Walker, R.H., Magistretti, P.J., and

Alberini, C.M. (2011). Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation. *Cell* *144*, 810-823.

Warburg, O. (1956). On the origin of cancer cells. *Science* *123*, 309-314.

Wellen, K.E., Hatzivassiliou, G., Sachdeva, U.M., Bui, T.V., Cross, J.R., and Thompson, C.B. (2009). ATP-citrate lyase links cellular metabolism to histone acetylation. *Science* *324*, 1076-1080.

Yalcin, A., Clem, B.F., Simmons, A., Lane, A., Nelson, K., Clem, A.L., Brock, E., Siow, D., Wattenberg, B., Telang, S., *et al.* (2009). Nuclear targeting of 6-phosphofructo-2-kinase (PFKFB3) increases proliferation via cyclin-dependent kinases. *The Journal of biological chemistry* *284*, 24223-24232.

Zhao, Y., Coloff, J.L., Ferguson, E.C., Jacobs, S.R., Cui, K., and Rathmell, J.C. (2008). Glucose metabolism attenuates p53 and Puma-dependent cell death upon growth factor deprivation. *The Journal of biological chemistry* *283*, 36344-36353.