The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ミトコンドリア内膜融合阻害因子 Mitochondrial Inner-membrane Fusion Inhibitor (MIFI) の生理・病態機能解析
Author(s)	東, 信太朗
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34392
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　東　信太朗　）	
論文題名	ミトコンドリア内膜融合阻害因子 Mitochondrial Inner-membrane Fusion Inhibitor (MIFI) の生理・病態機能解析

論文内容の要旨

ミトコンドリアはエネルギー産生において重要な細胞内小器官であり、ATP 産生や、脂肪酸のβ酸化に加え、アポトーシスの制御に関わるなど、細胞の機能維持にとって極めて重要な役割を果たしている。細胞内でミトコンドリアは、主に糸状の形態をとり、絶えず融合と分裂を繰り返すことで動的に形態を変化させている。近年、これら融合や分裂などの動態制御を担う因子が多数同定されたことを契機として、ミトコンドリアの動態制御の分子機構や生理・病態的な役割に関する研究が飛躍的に進展し、糖尿病などの代謝性疾患、拡張型心筋症など多様な疾患への関与も明らかにされつつある。

一方でこれらミトコンドリアの動態制御は、定常時におけるミトコンドリア・細胞の機能維持に重要であるほか、酸化ストレス等で障害を受けたミトコンドリアの機能補完や分解・廃棄など、いわゆるミトコンドリアの品質管理機構にとっても重要な役割を果たす。例えば融合が促進すると、膜電位が低下したミトコンドリアが他の正常なミトコンドリアと混合することで、その機能が補完されると考えられている。また融合が阻害されることにより、膜電位が著しく低下したミトコンドリアが、正常なミトコンドリアから隔離され、ミトコンドリア選択的オートファジー (マイトファジー) により分解・廃棄されることを促すと考えられている。しかしミトコンドリア動態と各疾患との関連を、このような品質管理機構の視点から追及している研究は未だ少なく、その中核であるマイトファジーの分子機構についても不明な点が多い。

当研究室では、Ⅱ型糖尿病の新規創薬標的の同定を目的として、同モデル動物で認められる過形成した膵島における遺伝子発現プロファイリングを行った。そして同サンプルで大きく発現変動する、機能が未知の遺伝子について、主に過剰発現系での解析を進めたところ、本分子はミトコンドリア内膜の融合を阻害することによって、その形態を断片化させるという、他のミトコンドリア動態制御因子には認められない特徴的な作用点を見出した。このため、これらの機能特性をもとに本分子を mitochondrial inner-membrane fusion inhibitor (MIFI) と命名した。しかし、これまで行われている検討は全て*in vitro* 過剰発現系を用いたものであるため、これらのミトコンドリア動態制御が、内因性の MIFI の機能として普遍化できるのかどうかは不明であり、また *in vivo* における MIFI の機能も明らかとなっていなかった。そこで、本研究では内因性 MIFI のミトコンドリア機能に対する役割、ならびにミトコンドリアが重要な役割を果たす膵島や心臓機能に対する MIFI の生理・病態的機能を明らかにすることを目的として、以下の検討を行った。

まず、遺伝子ノックダウン系を用いて検討を行った結果、ミトコンドリアの形態が伸長したほか、ミトコンドリア膜電位が低下し、ミトコンドリア由来の酸化ストレスが増加した。これらのことから、内因性の MIFI はミトコンドリアの形態を断片化する方向に制御するだけではなく、ミトコンドリアの機能維持にも関わることを明らかにした。また、MIFI のマイトファジーに対する作用を解析した結果、MIFI はミトコンドリアの機能を低下させる薬剤により誘発されるマイトファジーを、促進的することが明らかになった。以上より、内因性の MIFI はミトコンドリアの動態制御作用だけではなく、マイトファジーを介したミトコンドリアの品質管理機構においても重要な役割を果たすことが示唆された。

次に、*in vivo* での MIFI 生理・病態的な役割を解明する目的で、各種ストレス負荷モデルでの MIFI の発現解析と、膵β細胞特異的 MIFI 過剰発現マウス、ならびに心筋特異的 MIFI 過剰発現マウスの作製とその表現型解析を行った。その結果、II型糖尿病モデルの膵島や、心筋梗塞モデルならびに心臓圧負荷モデルの心臓など、種々の病態下において発現が減少することが明らかになった。また、膵β細胞における MIFI 過剰発現によって、定常状態では明らかな表現型の変化は観察されなかったが、高脂肪食の負荷により誘発される酸化ストレスの蓄積を抑制するとともに、膵β細胞の増殖を促進し、グルコース誘導性のインスリン分泌を亢進するという、膵島に対する保護的な作用を示すことが明らかになった。ミトコンドリア動態制御因子の過剰発現あるいは欠損動物ではほとんどが異常表現型を示すことから、この結果は、MIFI の発現誘導や活性亢進が、定常時には悪影響を及ぼさず、かつ病態時には保護効果を示すという、

副作用の少ない創薬標的として有用である可能性を示すものであり興味深い。一方、心筋における MIFI 過剰発現によって、定常状態では明らかな表現型の変化は観察されなかったが、圧負荷で誘発される心肥大や心収縮力の低下を増悪させることが明らかになった。このことから心臓においては、ストレス負荷後の MIFI の発現の誘導や、活性の亢進は、病態増悪的に働くことが示唆された。なお、膵島と心臓において、MIFI が、それぞれ保護と病態憎悪というように、作用に違いが認められた原因は不明であるが、各々の病態発現の機序を解析することで、MIFI などによるミトコンドリアの動態・機能調節の組織あるいは病態特異的な意義が一層明らかになるものと期待される。

以上、本研究ではミトコンドリア動態制御因子 MIFI による種々のミトコンドリア機能の調節作用を *in vitro* および *in vivo* で明らかにした。個々の病態モデルにおける発現変化と表現型変化の結果を併せると、MIFI は定常時よりもむしろ病態下で重要な役割を果たす分子であることが示唆された。しかしこれら多くの MIFI の機能が、そのミトコンドリア動態制御作用とどのようにリンクするのか、例えば MIFI による病態の保護あるいは増悪作用にミトコンドリアの断片化やマイトファジーの促進がどのように寄与するのかは不明である。今後、この点に関する研究を進めることで、MIFI の機能が統合的に明らかにされるとともに、ミトコンドリアの機能変化に基づく種々の生体統御機構の解明や、治療薬の開発が進展することを期待する。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　東　信太朗　）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主 査　教 授	橋本　均
	副 査　教 授	辻川　和丈
	副 査　教 授	中川　晋作
	副 査　教 授	藤尾　慈

論文審査の結果の要旨

「ミトコンドリア内膜融合阻害因子 Mitochondrial Inner-membrane Fusion Inhibitor (MIFI) の生理・病態機能解析」と題する学位論文において東は、当研究室で同定した新規のミトコンドリア動態制御因子 MIFI の内因性の機能や、心臓や膵島における生理・病態学的機能を分子生物学的、組織学的に詳細に解明した。この研究成果は、ミトコンドリアの動態制御機構の解明につながるとともに、ミトコンドリア動態の制御により、組織の機能に対しどのような影響を与えるのかという具体例を提示するものであり、その点において薬理学的にも興味深い研究である。

以下、本学位論文で発表された研究成果とその評価を示す。

細胞内でミトコンドリアは、主に糸状の形態をとり、絶えず融合と分裂を繰り返すことで動的に形態を変化させている。近年、このミトコンドリアの動態制御の分子機構や生理・病態的な役割に関する研究が盛んに進められており、糖尿病や拡張型心筋症など多様な疾患への関与も明らかにされつつある。また、これらミトコンドリアの動態制御は、酸化ストレス等で障害を受けたミトコンドリアの機能補完や廃棄(マイトファジー)など、いわゆるミトコンドリアの品質管理機構にとっても重要な役割を果たす。しかし、これら動態制御やマイトファジーのメカニズムの分子機構については不明な点が多く、各種疾患への関与や創薬の研究領域でも解決すべき重要な研究課題である。神経薬理学分野では、II 型糖尿病時の膵島において発現が低下する、機能が未知の遺伝子を同定し、本因子がミトコンドリア間の融合を阻害することから、MIFI と命名している。そこで東は、遺伝子改変動物や培養細胞を用い、MIFI の内因性の機能や、*in vivo* における生理病態的・機能解明を目指し、以下の４点の結果を得た。

１．内因性の MIFI は、ミトコンドリアにおける酸化ストレスの抑制や膜電位の維持など、その機能維持に重要な役割を担うほか、発現量依存的に、ミトコンドリアの断片化やマイトファジーの促進に関与する。

２．MIFI は II 型糖尿病モデルの膵島や、心筋梗塞モデルならびに心臓圧負荷モデルの心臓など、種々の病態下において発現が減少する。

３．膵β細胞における MIFI 過剰発現は、定常状態では表現型変化を起こさないが、高脂肪食負荷により誘発される酸化ストレスの蓄積を抑制するとともに、膵β細胞の増殖を促進させ、グルコース誘導性のインスリン分泌を亢進させる。

４．心筋における MIFI 過剰発現は、定常状態では大きな表現型変化を起こさないが、圧負荷で誘発される心肥大や心収縮力の低下を増悪させる。

以上の結果は、MIFI が主に病的な組織変化に対し、組織固有の作用を及ぼす可能性を示すものである。II 型糖尿病での膵島に対する保護効果は、他のミトコンドリア動態制御因子には認められないものであり、新たな創薬標的となることが示唆された。また、MIFIがマイトファジーを促進する機能を新たに明らかにしたことは、ミトコンドリア動態制御のメカニズム解明につながる研究であるといえる。

以上の通り、本研究の成果は、博士（薬学）の授与に値するものであると判断する。