



Title	呼吸鎖終末酸化酵素の活性調節機構の発見と創薬展開
Author(s)	長尾, 壮将
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76624
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

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名 (長尾 壮将)	
論文題名	呼吸鎖終末酸化酵素の活性調節機構の発見と創薬展開 (Discovery of novel regulation mechanisms of respiratory terminal oxidase and drug development)
真核生物において、細胞で消費されるエネルギーの大部分はミトコンドリアにおける電子伝達系・酸化リン酸化で生産されている。電子伝達に伴うプロトン濃度勾配の形成と、ポテンシャルエネルギーを用いたATP合成機構は原核生物にも広く保存されている普遍的な機構である。ミトコンドリア病は、遺伝子変異による電子伝達系・酸化リン酸化の機能不全が原因となり、様々な症状が現れる難病である。関与する遺伝子数の多さから、先天性代謝疾患の中で最も患者数が多い遺伝病であるが、現在までに有効な治療法が確立されていない。2015年、所属する研究室で呼吸鎖複合体IV (cytochrome <i>c</i> oxidase; CcO) の活性を上昇させるタンパク質、Higd1aを同定した。Higd1aによるCcOの活性上昇は、正常ラット心筋細胞において電子伝達系全体の活性上昇、およびATP合成量の増加に繋がった。これらの結果をうけて、Higd1aによるCcOの活性上昇が呼吸鎖活性が障害されているミトコンドリア病の治療法となり得るかを検証することを目的に実験を行った。 始めに、ゼブラフィッシュを用いたin vivoにおける効果を検討した。FRETベースのATPバイオセンサーであるMit-ATeamを心臓に発現するゼブラフィッシュを用いて、低酸素条件下における心臓ミトコンドリアATP量、および心臓の拍動の変化を評価した。この結果から、Higd1aの過剰発現による心臓の保護効果を認め、in vivoにおいてCcOの活性上昇が保護的に作用することを示した。次に、病因の異なる3種類の呼吸鎖障害モデル細胞を用いて、障害された電子伝達系に対するHIGD1Aによる効果を検討した。細胞にHIGD1Aを強制発現し、電子伝達系の活性の指標である酸素消費量、ATP合成速度、および低酸素条件下における細胞生存率を評価した。この結果、全ての呼吸鎖障害モデル細胞において、HIGD1Aの強制発現が電子伝達系全体の活性、ATP合成量、および細胞生存率を改善した。これらの結果から、HIGD1AによるCcOの活性上昇が、呼吸鎖障害モデル細胞において保護効果を示すことを証明した。 本研究により、個体レベル、及び呼吸鎖障害モデル細胞において、Higd1aによるCcOの活性上昇が保護的に作用することを示した。今後は、Higd1aの機能を模した低分子化合物の探索と評価を行い、新規ミトコンドリア病治療薬の開発を目指す。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 （長尾 壮将）			
		(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授	高島 成二
	副 査	教授	吉森 保
	副 査	教授	長澤 丘司
	副査	准教授	岡本 浩二

論文審査の結果の要旨

哺乳類の酸化リン酸化終末酵素である Cytochrome c Oxidase (COX) とそのアロステリック阻害剤の共結晶解析により阻害剤の結合部位を明らかにした。そして阻害剤の結合部位の構造が原核生物の terminal oxidase にも共通していることを見出した。原核生物や寄生虫の酸化リン酸化経路は抗菌剤や抗寄生虫薬の標的として近年注目されているが、基質であるキノンの類縁体が主であり、別の分子機構の阻害剤の開発が待たれていた。そこで COX 阻害剤の類縁体を検索すれば、原核生物の終末酵素阻害剤が新たに同定されると考え COX 阻害剤類似化合物のスクリーニングを行った。複数の化合物を同定し、原核生物の terminal oxidase 活性は阻害するが COX の活性は阻害しない化合物を得て、抗菌活性も証明した。構造解析から得られた情報をもとに First in Class の治療薬開発につなげた成果は博士号取得にふさわしいと考えられる。