

平成 22 年 5 月 12 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20770155  
 研究課題名（和文） ミトコンドリア分裂に機能するGTPase、Drp1の細胞と個体における生理機能  
 研究課題名（英文） Physiological roles of mitochondrial fission factor Drp1 in mammal.

研究代表者  
 石原 直忠（ISHIHARA NAOTADA）  
 東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師  
 研究者番号：10325516

## 研究成果の概要（和文）：

ミトコンドリアは動的なオルガネラであり、細胞内で活発に融合と分裂を繰り返している。今回、ミトコンドリア分裂因子Drp1を欠損したマウス及び細胞を構築しその生理機能解析を行った。Drp1を欠損した培養細胞は細胞増殖速度もミトコンドリア活性も野生型とほぼ差が認められなかった。ところがDrp1全身欠損マウスは胎生致死に、また神経特異的欠損マウスは神経細胞死が誘導されることがわかった。これらの結果から、ミトコンドリアの分裂は初期発生及び神経機能に必須であることが明らかになった。

## 研究成果の概要（英文）：

Mitochondrial morphology is dynamically controlled by a balance between fusion and fission. Here we show that, even cultured cells lacking the mitochondrial fission GTPase Drp1 are normal, Drp1-KO mice have developmental abnormalities, die after embryonic day 12.5. Neural cell-specific Drp1-KO mice die shortly after birth as a result of brain hypoplasia with apoptosis.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

## 研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：ミトコンドリア、膜融合、膜分裂、膜ダイナミクス、オルガネラ

## 1. 研究開始当初の背景

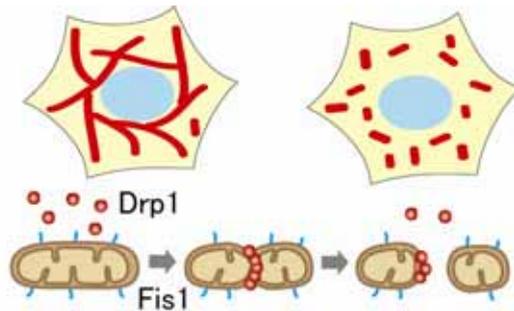
ミトコンドリアは酸素呼吸のみならずアポトーシスなど細胞制御に重要な機能を持つ、生と死を司るオルガネラである。動的な

オルガネラであるミトコンドリアは、細胞内で活発な融合と分裂を繰り返しつつその構造を動的に維持している。酸素呼吸細菌を起源とするミトコンドリアは、自身の

DNA(mtDNA)を持っており、増殖・分裂し娘細胞に分配されていくと考えられている。

ミトコンドリアの融合が、呼吸活性維持及び神経分化・機能維持に必要であることがヒト遺伝病及び融合因子欠損マウスの解析から知られてきている。

一方、ミトコンドリア分裂の高次生理機能の理解は大きく遅れていた。ミトコンドリアの分裂に機能するダイナミン様蛋白質 Drp1 は細胞質からミトコンドリア分裂点に局在化し、分裂を促進すると考えられている(下図参照)。



## 2. 研究の目的

ミトコンドリア融合因子を欠損した酵母細胞・哺乳動物細胞・さらにマウスでは、細胞内酸素呼吸及びミトコンドリアDNAが失活することが明らかになっている。一方、ミトコンドリアの分裂は、培養細胞においてアポトーシスを促進することが明らかになっているが、それ以外には酵母や培養細胞のミトコンドリア分裂阻害条件では、その生存や増殖などに目立った表現型が観察されていなかった。

## 3. 研究の方法

我々は本研究計画では、ミトコンドリアの分裂に機能する因子である、ダイナミン様タンパク質(Drp1)を欠損したマウス及び欠損細胞を構築し、哺乳動物におけるミトコンドリア分裂の生理的意義の解明を目指して研究を行った。

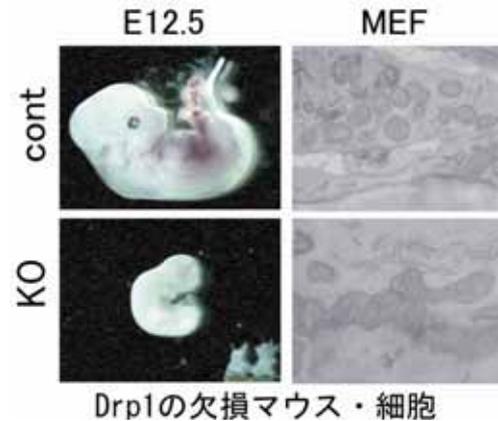
マウスDrp1遺伝子を単離し、エクソン2を挟むようにloxP配列を導入した。これらの組換え遺伝子を持つマウスES細胞を基にして、常法により遺伝子改変マウスを構築した。さらに組織特異的にCreリコンビナーゼを発現するマウスとの交配させ、組織特異的Drp1欠損マウスを構築した。

## 4. 研究成果

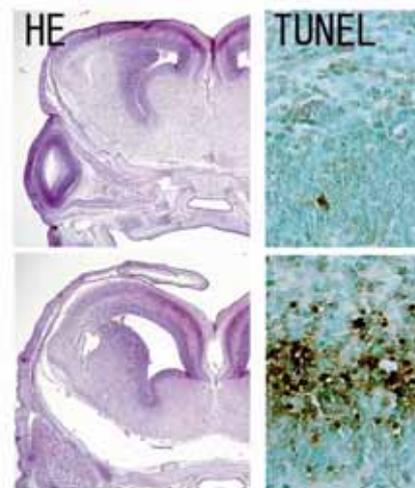
Drp1 を欠損したマウス胎児線維芽細胞は細胞増殖や細胞分裂は正常であった。またミ

トコンドリア酸素呼吸活性、ミトコンドリアDNAの量も正常型とほとんど差が見られなかった。

次に、様々な Drp1 を欠損したマウス系列を構築・解析した。まず Drp1 を全身で欠損するマウスを構築・解析したところ、これらのマウス胎児期は胎生致死となることがわかった。

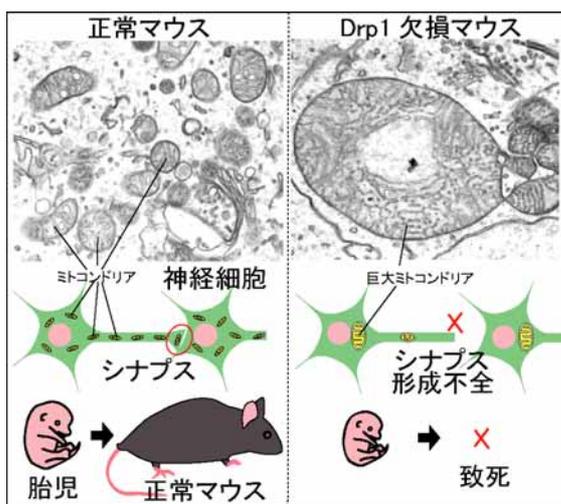


次に、nestin-Cre を用いて、神経特異的に Drp1 を欠損したマウスを構築したところ、生直後に致死となり、また神経細胞死が誘導された。Drp1 を欠損した神経細胞を初代培養系により解析を行ったところ、ミトコンドリアの分裂が抑制されると神経突起内へのミトコンドリアの進入が起こらず、その結果シナプス形成不全となることがわかった。このお時、Drp1 を欠損した神経細胞ではカルシウム依存的な神経細胞死が誘導されていることも確認された。



Drp1欠損神経の細胞死  
Drp1欠損神経は細胞死を引き起こす

これらの結果から、ミトコンドリアの分裂は、哺乳動物の初期発生、特に神経の形成及び機能維持に必須であることが明らかになった。



まとめ図：ミトコンドリア分裂の生理機能

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計9件)

1. 石原直忠、「基礎の基礎」+新しいミトコンドリアを理解するための12のKeyword、査読無、細胞工学 29: 418-422 (2010)
2. 石原直忠、ミトコンドリアの融合・分裂と哺乳動物の発生・分化、査読無、細胞工学 29: 443-447 (2010)
3. 石原直忠、ミトコンドリアダイナミクス - その生理的意義とメカニズム -、査読無、医学のあゆみ 232: 659-664 (2010)
4. 石原直忠、ミトコンドリアの膜構造制御とその生理機能、査読無、生化学 82: 39-42 (2010)
5. N. Ishihara, M. Nomura, A. Jofuku, H. Kato, S. O. Suzuki, K. Masuda, H. Otera, Y. Nakanishi, I. Nonaka, Y. Goto, N. Taguchi, H. Morinaga, M. Maeda, R. Takayanagi, S. Yokota, and K. Mihara. Mitochondrial fission factor Drp1 is essential for embryonic development and synapse formation in mice. 査読有、*Nature Cell Biol.* 11:958-966 (2009)
6. K. Yasukawa, H. Oshiumi, M. Takeda, N. Ishihara, Y. Yanagi, T. Seya, S-i. Kawabata and T. Koshiba. Mitofusin 2 acts as an inhibitor of mitochondrial antiviral signaling. 査読有、*Science Signaling*. 2:ra47 (2009)
7. N. Ishihara and N. Mizushima. A receptor for eating mitochondria. 査読無、*Developmental Cell* 17: 1-2 (2009)
8. 石原直忠、ミトコンドリアの融合と分裂による生命機能制御、査読無、実験医学 26:

2053-2059 (2008)

9. S. Tamai, H. Iida, S. Yokota, T. Sayano, S. Kiguchiya, N. Ishihara, J. Hayashi, K. Mihara, and T. Oka. Characterization of a mitochondrial protein LETM1 that maintains the mitochondrial tubular shapes and interacts with an AAA-ATPase BCS1L. 査読有、*J. Cell Sci.* 121:2588-2600 (2008)

[学会発表](12件)

1. 石原直忠、野村政壽、城福章裕、鈴木諭、大寺秀典、水島昇、三原勝芳、ミトコンドリア分裂因子 Drp1 の細胞と個体における生理機能第9回日本ミトコンドリア学会年会 東京 2009年12月17日-19日
2. 石原直忠、野村政壽、城福章裕、鈴木諭、大寺秀典、水島昇、三原勝芳、ミトコンドリア分裂のマウス個体発生における生理機能(ワークショップ) 第32回日本分子生物学会大会 横浜 2009年12月9日-12日
3. 石原直忠、融合と分裂によるミトコンドリアの形態制御の分子機構と生理機能(生化学会奨励賞受賞講演) 第82回日本生化学会大会 神戸 2009年10月21日-24日
4. Naotada Ishihara, Eiko Oita, Anoop Kumar Velikkakathgopi, and Noboru Mizushima, Biochemical characterization of autophagosome intermediates in mammalian cells, The 5th International Symposium on Autophagy: Molecular Mechanism, Cellular and Physiological Functions and Diseases, Otsu, Japan September 24-28, 2009
5. 石原直忠、尾上健太、水島昇、三原勝芳、ミトコンドリアの融合と分裂に機能するGTPase複合体(ワークショップ) 第9回日本蛋白質科学会年会 熊本 2009年5月20日
6. 石原直忠、融合と分裂によるミトコンドリア形態制御とその生理機能(シンポジウム) 第114回日本解剖学会・全国学術集会 岡山 2009年3月28日-30日
7. N. Ishihara, K. Onoue, A. Jofuku, H. Takano, N. Mizushima, K. Mihara, Fis1 acts as mitochondrial receptor for novel protein that regulates mitochondrial morphology, Keystone Symposium, Mitochondrial Dynamics and Physiology TELUS Whistler Conference Centre, Whistler, British Columbia, Canada, March 22-27, 2009
8. 石原直忠、Overview of mitochondrial behavior in cells, 第8回ミトコンドリア学会年会 東京 2008年12月18-20日
9. 尾上健太、城福章裕、前田真希、高野博嘉、水島昇、三原勝芳、石原直忠、哺乳動物ミト

コンドリア分裂因子の分子機構と生理機能、  
第 8 回ミトコンドリア学会年会 東京 200  
8 年 12 月 18 - 20 日

10. 尾上 健太, 城福 章裕, 高野 博嘉, 水島  
昇, 三原 勝芳, 石原 直忠, Fis1 は新規ミト  
コンドリア形態制御因子のレセプターとし  
て機能する (口頭発表), BMB2008 神戸  
2008 年 12 月 9-12 日

11. 尾板英子, 石原直忠, 水島昇, 哺乳動物  
Atg2 ホモログのオートファジーにおける機  
能とその分子構造の解析, BMB2008 神戸  
2008 年 12 月 9-12 日

12. 尾上 健太, 城福 章裕, 高野 博嘉, 水島  
昇, 三原 勝芳, 石原 直忠, Fis1 結合タンパ  
ク質の解析, 第 60 回日本細胞生物学会大会  
横浜 2008 年 6 月 29 日-7 月 1 日

〔その他〕

ホームページ:

[http://www.lsi.kurume-u.ac.jp/protein\\_b  
iochemistry/index.html](http://www.lsi.kurume-u.ac.jp/protein_biochemistry/index.html)

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

石原 直忠 (ISHIHARA NAOTADA)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究  
科・講師

研究者番号 : 10325516

### (2)研究分担者

なし

### (3)連携研究者

なし