

令和 6 年 5 月 10 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06889

研究課題名（和文）軸索内に停止型ミトコンドリアを一様に分布させる機構の解明

研究課題名（英文）Regulatory mechanism for the uniform distribution of stationary mitochondria in axons

研究代表者

小西 慶幸（Konishi, Yoshiyuki）

福井大学・学術研究院工学系部門・教授

研究者番号：00382838

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：脳内の信号が正常に伝達されるためには、神経細胞の軸索の形態が維持されることが必須である。軸索内に散在する停止型ミトコンドリアは、局所的に必要なATPを供給することで軸索形態の維持に重要な役割を担うと考えられる。このため、停止型ミトコンドリアの分布を調節するシステムが存在すると予想されるが、その実態は不明であった。本研究では、シナプスや髄鞘などの構造を持たない軸索内において、停止型ミトコンドリアがランダムに分布するのではなく、ミトコンドリアが産生するATPを介して相互に運動を制御することで均等に分布させる機構が存在することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果により、軸索形態を維持する上で必要な新しい細胞内システムが明らかとなった。この新規の細胞内システムは、軸索内の効率的なエネルギー供給を可能にし、軸索の形態維持に非常に重要な役割を担うと考えられる。このような細胞内システムの破綻は、軸索機能の異常を伴う様々な神経疾患の進行に関わる可能性があり、本研究で得られた知見は、これまでにない新たな病態モデルの構築や診断法の確立につながる可能性が期待される。

研究成果の概要（英文）：To ensure proper transmission of signals in the brain, the morphology of neuronal axons needs to be maintained. Within these axons, stationary mitochondria play a crucial role in sustaining axon morphology by locally supplying necessary ATP. Thus, it was hypothesized that there is a system regulating the distribution of stationary mitochondria. This study revealed that in axons devoid of structures like synapses or myelin sheaths, stationary mitochondria are not randomly distributed but rather evenly spread through a mechanism where they regulate each other's movement via ATP produced, thereby ensuring uniform distribution.

研究分野：神経科学

キーワード：軸索 ミトコンドリア ATP

1. 研究開始当初の背景

軸索は神経細胞が信号を伝達する標的を決定づけるため、その形態が生涯にわたり維持されることが、脳の正常な機能を保つ上で重要である。一方、神経回路の形成過程や、成体における記憶・学習の過程において、軸索の形態が部分的に再構築されることで回路構造が変化する。神経細胞はこのような複雑な調節を実現するための細胞内システムを備えていると考えられるが、その理解は進んでいない。ミトコンドリアの軸索輸送の異常は、ATP 欠乏や異常ミトコンドリアの蓄積を介して様々な疾患の進行に関わると考えられる。これまでキネシンやダイニンなどのモーター分子を含め、輸送に関わる因子が報告されてきた (Hirokawa et al., Neuron 2010)。一方、アンカー因子 Syntaphilin を介して微小管へ係留された停止型ミトコンドリアが軸索内に散在し (Kang et al., Cell 2008)、軸索形態の維持に関わることが明らかにされた (Courchet et al., Cell 2013)。ミトコンドリアは軸索の分岐点やシナプス、ランビエ絞輪などに高頻度で存在することが知られていたが、このような構造に依存せず停止型ミトコンドリアが軸索内に散在し、局所的に必要な ATP を供給すると考えられる。軸索内にはこれら停止型ミトコンドリアの分布を調節し、効率的な ATP 供給を実現するシステムが存在すると予想される。しかしその実態は解明されていない (図 1A)。

研究代表者はこれまで軸索の形成・維持機構について研究を行い、細胞内シグナルや軸索輸送の観点から新規の細胞内メカニズムを解明してきた。本研究に関するこれまでの研究で、停止型ミトコンドリアが一定頻度で移動型に転換しながら、軸索内で一様性分布の傾向を維持することを明らかにした。一様性分布は異なる種類の神経細胞でも観察され、また生体内でも観察されたことから、軸索に普遍的な未知のシステムが存在すると考えられる。しかし、どのような機構により停止型ミトコンドリアの空間分布の一様性が維持されるのかは未だ不明である。軸索の形態を維持する機構の理解において非常に重要な課題であり、本研究よりこの点を解明することを目指した。

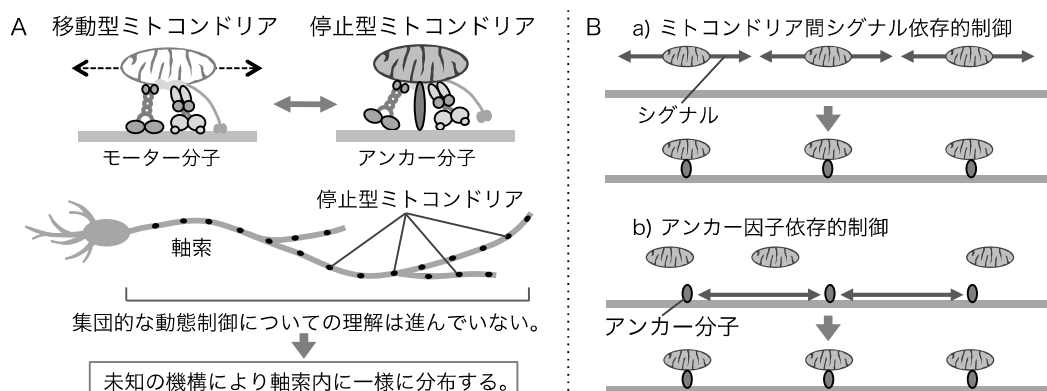


図 1 本研究の概要 . A: 研究の背景 . 移動型と停止型のミトコンドリアのうち、停止型ミトコンドリアは軸索内で一様に分布する . B: 分布制御機構のモデル . (a) ミトコンドリア間に作用するシグナルによる制御モデル, (b) アンカー分子による位置決定モデル .

2. 研究の目的

髄鞘や分岐、シナプスなどの軸索内構造に依存せずに、停止型ミトコンドリアの一様性分布を制御する細胞内システムを明らかにすることを目的とした。作業仮説として、a)ミトコンドリア間のシグナルにより、間隔が均等になるよう維持されるモデルと、b)アンカー因子などがあらかじめ一様に存在することで停止位置が決定されるモデルを想定した(図1B)。b)の機構の場合、ミトコンドリアの停止位置は変化しないと考えられる。しかし、これまでの解析から、個々のミトコンドリアの停止位置は変化するものの、全体的な分布の一様性が維持されることが示された。このためa)のミトコンドリア間の相互作用により分布を制御する機構が存在すると仮定し、その証明、及び機構の解明を到達目標とした。

3. 研究の方法

生後4から6日齢のマウスの小脳から小脳顆粒神経細胞の初代培養を調整し、実験に用いた。ミトコンドリア間の相互作用が分布調節に関わることを立証するため、ミトコンドリアに局在する光増感タンパク質(Mito-KillerRed)を用いて、光分子不活性化(CALI)により軸索内の特定部位のミトコンドリアを光照射依存的なROSの発生により不活性化し、周囲のミトコンドリアの動態を解析した。またミトコンドリア間に介在するシグナルとして、ATPおよびカルシウムイオンを仮定し、これらの蛍光センサーであるPercevalHR、GCaMP6を用いた計測を行った。さらにミトコンドリアの一様性分布を制御する細胞内システムについて数理モデルを作成し、シミュレーション実験を行った。

4. 研究成果

ミトコンドリア間の相互作用が機能している場合は、CALIにより照射部位のミトコンドリアが不活性化することで周辺から他のミトコンドリアが入り込むと予想していたが、CALIにより照射部周辺のミトコンドリアの運動性も低下することが示された。PercevalHR、GCaMP6を神経細胞内に発現させ、軸索内のATP/ADP及びカルシウムイオンについて計測を行った。また、PercevalHRがpH依存性を示すため、pHRedによりpHについても計測を行った。得られたシグナルについてミトコンドリアからの距離との相関を解析した。この実験により、ミトコンドリアの距離に依存してATPの濃度勾配が存在することを確認した。マイクロ流体デバイスを用いた局所的なオリゴマイシン投与によりミトコンドリアの運動は阻害された。また、前述のKillerRedによる局所的ミトコンドリア不活性化の実験では周辺のミトコンドリアの運動が阻害されたが、クレアチンリン酸によりATPを供給することで運動阻害からのレスキューが起こることが観察された。これらの結果から、機能的なミトコンドリア同士が近接する場合は、局所的なATP濃度の上昇を介して互いの運動性が高まる機構の存在が推察された。これらの結果をもとに数理モデルを作成し、シミュレーションを行った。ミトコンドリアの密度が高い部位では、放出されるATPによりミトコンドリアの運動性が高まり、ミトコンドリアの距離が保たれ、一様分布が確立できることが示された。

ATP濃度に依存したミトコンドリアの運動性の制御機構については、ATPの下流における局所的なシグナルの変化や、ATPによるモーター分子の直接的な制御が想定された。そのため、ATPに関連した因子としてAMP/ATP比の上昇により活性化するAMP活性化プロテインキナーゼ(AMPK)

の阻害剤、及び ATP との直接的相互作用により活性化する ATP 受容体(P2 プリン受容体)の阻害剤を投与した神経細胞においてミトコンドリアの運動性を解析したが、有意な変化は検出されなかった。これらの結果から、ATP を介した細胞内のシグナル因子の局所的な活性の変化ではなく、ATP 濃度の上昇によりモーター因子の直接的な制御によりミトコンドリアの運動性が変化する機構を想定した。しかし、ATP 濃度の小さい変化がミトコンドリアの運動性を変化させるのに十分であるのかという問題がある。停止型ミトコンドリアが微小管から解離する際には、複数のモーター因子が ATP と結合し、協調的に駆動される必要があると考えられるが、数理モデルにおいては、このような条件にミトコンドリアがより均等に分布することが示され、モデルの妥当性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Masashi K. Kajita, Yoshiyuki Konishi, Tetsuhiro S. Hatakeyama	4. 巻 6
2. 論文標題 Active thermodynamic force driven mitochondrial alignment	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 PHYSICAL REVIEW RESEARCH	6. 最初と最後の頁 L022024
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1103/PhysRevResearch.6.L022024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hirai M, Suzuki K, Kassai Y, Konishi Y	4. 巻 -
2. 論文標題 3-nitrotyrosine shortens axons of a non-dopaminergic neuron by inhibiting mitochondrial motility	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2024.05.09.593299	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Imanaka Chiaki, Shimada Satoshi, Ito Shino, Kamada Marina, Iguchi Tokuichi, Konishi Yoshiyuki	4. 巻 1799
2. 論文標題 A model for generating differences in microtubules between axonal branches depending on the distance from terminals.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Brain research	6. 最初と最後の頁 148166
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.brainres.2022.148166	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsumoto N, Hori I, Kajita M, Murase T, Nakamura W, Tsuji T, Miyake S, Inatani M, Konishi Y.	4. 巻 119
2. 論文標題 Intermitochondrial signaling regulates the uniform distribution of stationary mitochondria in axons.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mol Cell Neurosci	6. 最初と最後の頁 103704
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.mcn.2022.103704	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saga Y, Hatakenaka Y, Matsumoto M, Yoshioka Y, Matsumura S, Zaima N, Konishi Y.	4. 巻 31
2. 論文標題 Neuroprotective effects of aromatic turmerone on activity deprivation-induced apoptosis in cerebellar granule neurons.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 NeuroReport	6. 最初と最後の頁 1302-1307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/WNR.0000000000001551	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsumoto N, Hori I, Murase T, Tsuji T, Miyake S, Inatani M, Konishi Y.	4. 巻 -
2. 論文標題 Intermitochondrial signaling regulates the uniform distribution of stationary mitochondria in axons.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2020.07.31.230250	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計4件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 小西慶幸、堀生実、松本望、梶田真司、村瀬朋弥、中村航、辻隆宏、三宅誠司、稲谷大
2. 発表標題 軸索内のミトコンドリアの分布・動態制御およびシナプス形成との関連
3. 学会等名 第66回日本神経化学学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福本大貴、小西慶幸
2. 発表標題 SAGによるShh経路活性化を介した顆粒細胞前駆細胞の培養とその応用
3. 学会等名 第66回日本神経化学学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小西 慶幸
2. 発表標題 パライメージングによる神経細胞の形態調節機構の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部 第189回例会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Y. Konishi I. Hori, H. Kita and M. Kajita
2. 発表標題 Intracellular systems regulating the dynamics and distributions of axonal mitochondria and presynaptic vesicles
3. 学会等名 14th International Symposium on Nanomedicine（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

福井大学生命システム科学研究室 https://sites.google.com/view/l1ss-uf 福井大学研究者総覧 http://t-profile.ad.u-fukui.ac.jp/profile/ja.da3bdb82a9d06347.html
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------