

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16137

研究課題名(和文) インスリン分泌促進と 細胞死の境界を決めるミトコンドリアCa<sup>2+</sup>制御因子の探索

研究課題名(英文) Investigation of the regulatory factor in determining the threshold for promoting insulin secretion or cell death

研究代表者

太向 勇 (TAIKO, Isamu)

日本大学・医学部・助手

研究者番号：20836556

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：膵臓の細胞から分泌されるインスリンは血糖値の調整に不可欠である。本研究では、糖の代謝を担うミトコンドリアの機能のインスリン分泌における制御機構について研究した。従来は血糖値の上昇に伴いカルシウムイオンがミトコンドリア内部に流入し、ミトコンドリアの活性が上がると考えられていた。しかしながら、それほどカルシウムイオンはミトコンドリアの中に流入しておらず、また、強制的に流入させても活性は上昇しないどころか、細胞の損傷を引き起こすことを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵臓の細胞が血糖値の上昇を感知する際にはミトコンドリアが活性化することが知られており、その制御メカニズムの解明は重要な課題であった。本研究ではカルシウムイオンのミトコンドリアへの流入が従来考えられていた以上に厳密に制御されていないことを明らかにした。本研究により得られた知見はインスリン分泌不全ひいては糖尿病の新たな治療法や治療薬の開発につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Insulin secretion from pancreatic  $\beta$ -cell is indispensable for regulation of plasma glucose level. In this study, I investigated the mechanism of the regulatory mechanism of the mitochondria, which are engaged in glucose metabolism. Previously, it is believed that mitochondria are activated by Ca<sup>2+</sup> influx through elevation of plasma glucose level. however, I found that Ca<sup>2+</sup> influx was tightly regulated and that overloading of Ca<sup>2+</sup> into the mitochondria induced  $\beta$ -cell death.

研究分野：薬理学

キーワード：インスリン分泌 カルシウムイオン ミトコンドリア 代謝

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

膵β細胞から分泌されるインスリンは血糖値を下げる唯一のホルモンであり、生体の恒常性維持に必要不可欠である。インスリンの分泌の異常は糖尿病を始めとした、様々な疾患の原因になる。血糖値の上昇に伴い、膵β細胞内のミトコンドリアでATPの産生が亢進すると、細胞内にカルシウムイオンが流入することで、インスリンが分泌される。その際に、ミトコンドリア内腔にカルシウムイオンが流入することで代謝能が上昇すると考えられているが、メカニズムは不明なままである。

### 2. 研究の目的

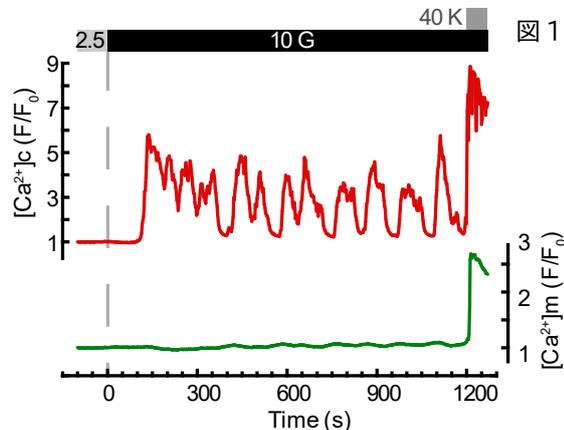
ミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入は代謝能を促進する一方で、過度な流入はアポトーシスを誘導し得ることも知られている。このことから、代謝能の促進ひいてはインスリン分泌の促進と細胞死を分けるミトコンドリア内腔へのカルシウムイオン流入量の境界が存在することが予想される。本研究ではこの境界を決める因子を探索し、ミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入を人為的に制御することで、インスリン分泌との関係を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

これまでの知見からミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入に関連している遺伝子は多数知られている。それらの遺伝子を網羅的なノックダウンスクリーニングにより、ミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入を変化させる遺伝子を同定することを試みた。このスクリーンではマウスβ細胞株 MIN6 にミトコンドリア内腔のカルシウムイオンセンサーの CEPIAmt を発現することでカルシウムイオンを可視化した。また、効率的な遺伝子のノックダウンを行うために、申請者の独自技術である POLYSH 法を用いた。

### 4. 研究成果

(1) MIN6 細胞にミトコンドリアのカルシウムイオンのインジケータである CEPIAmt を発現させてカルシウムイオンを可視化して動態を詳細に観察した。その結果、グルコース濃度にかかわらず、膵β細胞のミトコンドリア内腔へのカルシウムイオン流入は僅かであった (図 1)。従来は高濃度グルコース下においては膵β細胞のミトコンドリアの内腔へはカルシウムイオンが流入しており、これによってミトコンドリアのグルコース代謝能がさらに亢進すると考えられていた。本研究成果はこれまでの説とは矛盾する。しかしながら、先行研究ではカルシウムイオンを可視化するインジケータのミトコンドリアへの特異性が低いため、ミトコンドリア以外のシグナルを検出していた結果であると考えられる。また、単離したミトコンドリアにおける実験であるため生細胞での実際の反応とは乖離した結果であると考えられる。本研究で用いたインジケータはミトコンドリアへの特異性が高く、生細胞での結果であるため信頼性は高い。また、培養細胞株のみならず、単離した膵島でも同様の結果を得ている。本研究成果により、ミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入動態の新たな知見が示された。

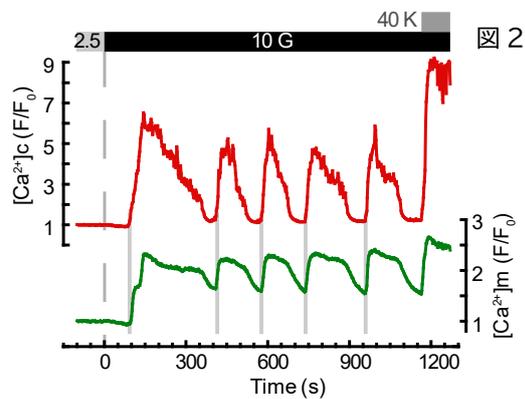


(2) ノックダウンスクリーニングにより発現を抑制することでミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入が上昇する遺伝子を複数発見した (図 2)。また、これらの遺伝子とは逆に過剰発現によりカルシウムイオンの流入が上昇する遺伝子も見出した。これらの遺伝子のノックダウンと過剰発現により、ミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入を増やしても高濃度グルコースに応答した細胞質のカルシウムイオン動態に変化はなく、ATPの産生やインスリン

分泌も上昇することはなく、減少する傾向にあった。ミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入量をさらに増やすと、細胞質のカルシウムイオン動態に異常をきたし、細胞死も誘発された。これらの結果から、膵β細胞におけるミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入は厳密に制御されており、この制御メカニズムが崩壊するとインスリン分泌の低下やβ細胞死を誘発することが示された。

これまで人為的にミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入を変化させた例は無く、本研究成果によって、その変化がインスリン分泌や、β細胞の機能に及ぼす影響が初めて評価された。

本研究成果により、ミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入とインスリン分泌との関係性に関する新たな知見が明らかになった。加えて、ミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入を制御する因子を発見した本研究成果は人為的なカルシウムイオン流入の制御手法を提供し、更なる研究の伸展に寄与することができる。また、ミトコンドリア内腔へのカルシウムイオンの流入を抑えるというこれまでにない発想の糖尿病の治療薬の開発にもつながることが期待される。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 太向勇
2. 発表標題 膵 細胞におけるMICU1によるミトコンドリアカルシウムシグナルの制御
3. 学会等名 第95回薬理学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------