HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	mitoNEET蛋白はミトコンドリアの鉄恒常性を調節している［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	降旗, 高明
Description	配架番号：2231
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12127号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61935
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Takaaki_Furihata_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　降旗　高明

	主査	教授　岩永　敏彦
審査担当者	副査	教授　大場　雄介
	副査	教授　畠山　鎮次
	副査	教授　筒井　裕之

学 位 論 文 題 名

mitoNEET 蛋白はミトコンドリアの鉄恒常性を調節している
（mitoNEET regulates mitochondrial iron homeostasis）

申請者は，心筋のミトコンドリアにおける鉄代謝に着目し，加齢マウスならびに新規に作製した心筋特異的 mitoNEET 欠損マウス（mNT KO）を用いた検討を行った．①mitoNEET の発現は 3 ヵ月齢と比較して 12 ヵ月齢の B6 マウスにおいて有意に減少していたこと，②単離ミトコンドリアにおけるミトコンドリア鉄が 12 ヵ月齢において増加していたこと，③腎臓においても同様に，mitoNEET の発現は 12 ヵ月齢において減少していたこと，④対照群と比較して mNT KO 群でミトコンドリア鉄が増加していたこと，⑤ミトコンドリア鉄，細胞質レベルの既存の鉄代謝に関連する蛋白質発現に変化がなかったこと，⑥ミトコンドリアの活性酸素種（ROS）産生が mNT KO 群で増加していたこと，⑦脱共役剤存在下での電子伝達系における最大の呼吸能と予備能を示す reverse capacity が 12 ヵ月齢の mNT KO 群で減少していたこと，⑧12 ヵ月齢の mNT KO 群で左室機能障害を認めたこと，⑨mitoNEET は 50～150kDa で多くの複合体を形成していたこと，⑩質量分析により相互作用の候補とした transferrin receptor（TfR）と adenine nucleotide translocator（ANT）が免疫沈降法によって mitoNEET と相互作用を有していたこと，⑪ANT が構成要素のミトコンドリア膜透過性遷移孔（mPTP）を CsA 投与によって抑制したところミトコンドリア鉄が減少していたことを明らかにした．

mitoNEET は加齢という生理的な現象で発現が低下し，また心臓以外での臓器でも同様の

変化があったことから，ミトコンドリアという細胞小器官におけるより普遍的な現象を捉えていると考えられた. 新規に作製した心筋特異的 mitoNEET 欠損マウスにより, mitoNEET の欠損はミトコンドリア鉄の増加をもたらすことを直接的に示した．鉄増加による ROS 産生増加が，加齢に伴いミトコンドリア機能障害，細胞障害、最終的に臓器障害を引き起こしていることを示した．既存のミトコンドリア鉄を調整する機構に関係する蛋白発現に変化がなかったため，mitoNEET を介した新たなミトコンドリアの鉄恒常性を調節する仕組みがあることが示唆された．さらに，ブルーネイティヴゲル電気泳動法，質量分析，免疫沈降法を用いて, mitoNEET 蛋白が TfR と ANT と直接的に相互作用をしていることを示した．TfR によって運ばれた鉄が，mitoNEET と ANT の相互作用の結果として，鉄がミトコンドリアへと運ばれているのかもしれない．mitoNEET の欠損は，mitoNEET を介した TfR から ANT への鉄の流れを妨げている可能性が考えらえた.

以上の研究結果について，主査および副査より，①全身 mitoNEET KO マウスの表現型，②加齢による mitoNEET 発現低下の機序，③mitoNEET の分子的な作用機序，④mitoNEET 発現を調節する上流の因子，⑤TfR-mitoNEET-ANT 複合体の存在形態，⑥複合体に関与しうる他のタンパク質の存在の可能性，⑦mitoNEET の鉄制御の方法，⑧鉄とミトコンドリア機能障害の関連性，⑨加齢 mitoNEET KO マウスでの病理組織学的な評価，⑩mitoNEET の細胞内局在などの質問を受けた．申請者は，それぞれの質問に対して自己の実験データや文献的考察に基づいて，概ね適切にまた真摯に返答した.

審査員一同は，これらの成果を高く評価し，大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ，申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した.