

研究題目 独自に開発した新阻害剤で解き明かすミトコンドリア VDAC の機能

研究組織

研究代表者：三芳秀人（京都大学農学研究科）

共同研究者：篠原康雄（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：村井正俊（京都大学農学研究科）

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

ミトコンドリア外膜に局在する電位依存性アニオンチャンネル（VDAC1）は、外膜を介した物質の透過を制御する重要な膜輸送体である。VDAC1 に特異的に作用する強力な阻害剤が知られていないことが、VDAC1 研究のボトルネックになっていることは否めない。ペンテンジオール(PTD)類は、三芳の研究室で独自に開発した VDAC1 の特異的阻害剤である。本研究では、PTD 類の作用機構研究を通して、ミトコンドリア膜透過性亢進（PTP）における VDAC1 の役割の解明を目指す。

[1-2] 研究の方法・経過

出芽酵母から単離したミトコンドリアに対して、カルシウムイオノフォアの存在下、Ca²⁺（50 μM）を順次、連続して添加することによって PTP を誘導した。ここでの PTP 誘導の定義は、「添加した Ca²⁺をミトコンドリアマトリクスに保持する能力」とし、ミトコンドリア外の Ca²⁺濃度を経時的に測定することによって評価した。Ca²⁺濃度は指示薬である calcium green を用いて測定した。この PTP 誘導に対して、PTD 類がどのような影響を与えるかを種々の濃度域で調べた。さらに、PTP 誘導の指標として、Ca²⁺を一時に過剰添加した際に認められるミトコンドリアの膨潤を採用した。ミトコンドリアの膨潤は、定法に従って 340 nm における吸収変化を測定することによって評価した。

VDAC1 を欠損した出芽酵母変異株（ $\Delta por1$ ）を作成し（篠原担当）、この変異株から単離したミトコンドリアを用いて同様の実験を行った。野生株と変異株で得られた結果を比較検討し、PTP 誘導における VDAC1 の役割、および PTD

類の効果を検討した。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

ADP の取り込みを十分に阻害する濃度の PTD 類を予め添加したミトコンドリアに対して、Ca²⁺負荷による PTP 誘導を調べたところ、PTD 類は何ら影響を与えなかった。この結果は、VDAC1 の機能（基質輸送）と PTP 誘導の間に因果関係がないことを示している。これは、従来から考えられているように、VDAC1 が PTP 誘導に関与するにしても、“構造的なプラットフォーム”になっているだけである可能性を示唆しており興味深い。

$\Delta por1$ 株から単離した VDAC1 を欠損したミトコンドリアにおいても、弱いながら Ca²⁺負荷による PTP 誘導が認められた。この結果は、VDAC1 以外の外膜輸送体が Ca²⁺輸送に関与している可能性を示している。（注：このこと自体は以前からわかっていたが、VDAC1 の機能を代替する輸送体が何であるかは不明である。） $\Delta por1$ 株ミトコンドリアにおける PTP 誘導に対しても、PTD 類は何ら影響を与えなかった。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

これまで VDAC1 の特異的阻害剤が利用できなかったため、VDAC1 自体の機能と PTP 誘導における役割（亢進孔の形成など）とを分離することは困難であった。本研究の成果は、PTP 誘導に VDAC1 の機能の有無は関係ないことを強く示唆するものであり、ミトコンドリア PTP 研究に与える波及効果は大きいものがあると期待できる。

今回用いた PTD 類は可逆的に VDAC1 に結合するタイプの阻害剤であったが、今後、共有結合を形成するタイプの PTD 類を用いた研究を推進する予定であり、合成を鋭意進めているところである。

【3】 主な発表論文等

[3-1]論文発表

なし

[3-2]学会発表

なし

[3-3]成果資料等

なし

【4】 今後の課題等

本研究では Ca^{2+} を過剰負荷することによって誘導されるミトコンドリア PTP について検討したが、別の誘導刺激（例えば活性酸素への暴露）で誘導される PTP に対して、どのような効果があるかも検討すべき課題であろう。