

# 論文内容要旨

論文題目

へム生合成系初発酵素 5-アミノレブリン酸合成酵素 1 (ALAS1) 遺伝子破壊  
マウス膵β細胞でのミトコンドリア障害によるインスリン分泌異常

所属コース：創薬・システム医科学 コース

所属講座： 創薬科学 講座

氏名： 武田 和也

## 【内容要旨】 (1,200 字以内)

ALAS1 遺伝子は、へム生合成系の律速段階である 5-アミノレブリン酸(ALA)産生を触媒する ALA 合成酵素(ALAS)の組織非特異型イソ酵素をコードする。ALAS1 遺伝子破壊ヘテロ接合体マウス (A1+/-) は、20 週齢以上で加齢依存的に耐糖能異常・インスリン抵抗性(IR)を示すが、通常飼育条件で血糖値が正常に保たれる前糖尿病状態であることが先行研究で示されている。2 型糖尿病では最初に IR が惹起され、インスリン(Ins)分泌の代償的增加により前糖尿病状態を維持するが、糖負荷試験での A1+/-血清 Ins レベルは野生型と同等であり、Ins 合成・分泌異常が疑われた。本研究で、私は A1+/-の膵臓・分離膵島を解析し、Ins 分泌への ALA 合成不全の影響を明らかにすることを旨とした。

A1+/-分離膵島の ALAS1 mRNA・へムレベルは低下しており、A1+/-で Ins 分泌組織が ALA/へム欠乏であることが示唆された。A1+/-分離膵島に対する、生理的な食後高血糖に相当する 16.7mM グルコース(Glc)による Glc 刺激 Ins 分泌 (GSIS) 試験では Ins 分泌が低下していたが、Glc 代謝による ATP 上昇を介さない KCl 刺激 Ins 分泌試験では上昇していた。ALA 脱水酵素を阻害するへム生合成阻害剤 succinyl acetone を処理した野生型マウス分離膵島においても 16.7mM GSIS の低下が観察され、この異常はへム欠乏が原因と推定される。透過電子顕微鏡(TEM)観察から A1+/-膵β細胞のミトコンドリア (Mt) クリステの形態異常、A1+/-分離膵島の酸素消費速度(OCR)および Mt ゲノムレベルの低下が認められたが、ALA 投与 A1+/-では、分離膵島の 16.7mM GSIS・OCR・Mt ゲノムレベル、膵β細胞 Mt クリステ形態異常のいずれも正常レベルまで回復を示した。へムタンパク質を含む Mt 電子伝達系複合体機能にへムは必須であり、これらの結果から、A1+/-膵β細胞では ALA/へム欠乏による Mt 障害が惹起され GSIS 不全が生じたと考えられる。A1+/-では、組織学的解析から膵臓断面を占める膵島比率の増大、TEM 観察から膵β細胞の分泌顆粒数密度の増大、A1+/-分離膵島の Ins mRNA レベル上昇が認められ、A1+/-膵島・膵β細胞での Ins 分泌の代償的增加を促す反応が観察された。病的な高血糖条件に相当する 25mM Glc による GSIS 試験では、A1+/-分離膵島は Ins 分泌が上昇し、先行研究実験条件の 3 倍用量の糖負荷試験では A1+/-の血清 Ins レベルは野生型より上昇していた。これより、A1+/-は高血糖条件では Ins 分泌を増大させる能力を保持していることが示唆された。

本研究により、膵β細胞での ALA/へム欠乏が Mt 障害を惹起して GSIS 異常をもたらす新たな病態メカニズムが示され、ALA 投与は膵β細胞の Mt 障害を改善し、Ins 分泌を回復させる可能性が示された。

## 学位論文審査結果報告書

申請者氏名：武田 和也

論文題目：ヘム合成系初発酵素 5-アミノレブリン酸合成酵素 1 (ALAS1) 遺伝子破壊  
マウス膵β細胞でのミトコンドリア障害によるインスリン分泌異常

審査委員：主審査委員 藤井 順逸

副審査委員 鈴木 民夫

副審査委員 諏佐 真治



審査終了日：2022年7月29日

## 【 論文審査結果要旨 】

ポルフィリン環に鉄イオンの配位したヘムは、ヘモグロビンによる酸素の運搬に必要とされる他に、ミトコンドリア電子伝達複合体をはじめとする電子の授受を担うタンパク質・酵素の補因子として働く。ヘムの合成過程は、7段階からなるポルフィリン環の合成反応と、鉄イオンを挿入する最後の過程からなる。その第一段階である 5-アミノレブリン酸 (ALA) の合成反応はミトコンドリアに局在する ALA 合成酵素 (ALAS) が担い、ヘム合成を律速する過程である。ALAS には、全身の細胞に発現する ALAS1 と、赤血球系細胞に特異的に発現する ALAS2 がある。全身性に ALAS1 遺伝子を欠くホモ欠損マウスは致死であるため、これまでの研究は主にヘテロ欠損マウスを用いて行われ、加齢により耐糖能異常とインスリン抵抗性を示すことが報告されている。本研究では、ALAS1 ヘテロ欠損によって惹起される前糖尿病症状発症の分子機構の解明を目的として、膵β細胞の機能に着目して検討した。

その結果、野生型マウスから単離した膵島に比べてヘテロ欠損マウスでは、以下のような異常を認めた。1. 膵島の ALAS1 mRNA 発現量は、ヘテロ欠損マウスではほぼ半分程度まで低下していた。2. 生理的濃度のグルコース刺激で分泌されるインスリン量は低下していたが、KCl 刺激による ATP 非依存的なインスリン分泌量はむしろ増加していた。高濃度のグルコースでは野生型マウスの膵島と同程度のインスリン分泌能を示したことから、インスリン産生と分泌過程はほぼ正常と考えられる。3. 形態学的解析から、膵臓に占める膵島の割合の増加・膵β細胞内の分泌顆粒密度の増加・ミトコンドリアクリステの異常を認めた。4. 膵島のミトコンドリア DNA 含有量は減少し、細胞の呼吸による酸素消費能も低下しており、ミトコンドリア機能障害が確認された。ALA を投与したヘテロ欠損マウスの膵島ではこうした異常の多くが改善したため、ALA 合成能の低下がその原因と考えられる。ALA 合成量の減少によりヘムの産生が低下し、その結果、電子伝達系などのヘムを必要とする分子に機能不全が起こりミトコンドリア機能障害を生じた可能性が高いが、因果関係を示す直接的な証拠を提示することでより高度な研究となることが期待される。

本研究は、ALAS1 の発現低下による ALA 合成量の減少が膵β細胞のミトコンドリアに障害をもたらし、それが加齢マウスの前糖尿病症状の一因となっている可能性を示した点が新規であり、博士(医科学)の学位に値すると判断した。