©2024 筑波大学生物学類

ミトコンドリア病モデルマウスを用いた生体内におけるオートファジーの重要性の検証

佐渡友　光一（筑波大学 生物学類）　　指導教員：中田　和人（筑波大学 生命環境系）

【背景・目的】

ミトコンドリアは細胞小器官の一つであり、内膜に存在する呼吸酵素複合体による酸化的リン酸化を介して、生体内で必要とされる ATP の大部分を産生することが知られている。哺乳類において、ミトコンドリアには独自のゲノムであるミトコンドリア DNA (mtDNA) が 1 細胞当たり数百から数千コピー存在している。哺乳類の mtDNA には、呼吸酵素複合体を構成するサブユニットのうち、13 種類の構造遺伝子とそれらの翻訳に必要な 2 種類の rRNA 遺伝子と 22 種類の tRNA 遺伝子がコードされている。この mtDNA に病原性の突然変異が一定の割合で蓄積するとミトコンドリアの呼吸機能が低下し、ミトコンドリア病と称される多様な疾患群が引き起こされる。ミトコンドリア病を引き起こす病原性の変異のひとつに、mtDNA の全長の 3 分の 1 を欠失する大規模欠失突然変異がある。ヒトにおいて、大規模欠失突然変異型 mtDNA (ΔmtDNA) の蓄積は CPEO (Chronic progressive external ophthalmoplegia) や KSS (Kearns-Sayre syndrome) と呼ばれるミトコンドリア病を引き起こすことが知られている。

所属研究室では、ヒトΔmtDNA とほぼ同じ位置が欠失した ΔmtDNA を全身の細胞に様々な割合で蓄積するミトコンドリア病モデルマウス (mito-miceΔ) の樹立に成功している。mito-miceΔでは、各組織・各臓器でΔmtDNA が 70～80%以上蓄積するとミトコンドリア呼吸機能の低下 (ATP 産生不全) が誘導され、低体重、高乳酸血症、貧血、腎不全、心伝導障害といったミトコンドリア病様の病状を呈する。また、mito-miceΔでは同一個体であってもΔmtDNA の含有率 (Δ率) が異なり、臓器特異的な病態を示すことが判明している。mito-miceΔにおいて、腎臓や心臓ではΔ率が 85%以上を示し重篤な腎不全や心伝導障害を示す個体であっても、肝臓ではΔ率が 60%を超えず目立った病態を示さない。このように、臓器間でΔ率の蓄積の差異が病態の臓器特異性を生み出す一因となっていることが考えられる。しかし、現状臓器間の ΔmtDNA の蓄積の差異を生み出す具体的な機構は明らかになっていない。

近年、機能不全のミトコンドリアがオートファジーによって選択的に排除されるミトコンドリアオートファジー (マイトファジー) が注目されている。マイトファジーは、ミトコンドリアの品質管理に寄与し、細胞内の恒常性を維持するうえで重要であることが示唆されている。このことから、mito-miceΔにおける臓器間のΔ率の蓄積やその最大値を制御する機構として、オートファジーやマイトファジーが考えられる。

そこで本研究では、ΔmtDNA を様々な割合で蓄積する mito-miceΔを用いて臓器ごとのΔmtDNA とオートファジー活性の相関関係を検証することで、臓器間におけるΔmtDNA の蓄積の差異にオートファジー及びマイトファジーの活性が寄与する可能性を検証した。

【材料】

5-7 か月齢の mito-miceΔから摘出した高Δ率を許容し腎不全を発症する腎臓、高Δ率を許容し心伝導障害を発症する心臓、高Δ率を許容せず目立った病態を発症しない肝臓を用いた。

【方法】

摘出した各臓器のΔ率を定量することで、Δ率が 0% (wt) 、0~25% (low) 、25~50% (middle) 、50~75% (high) 、75~100% (super high) の 5 群に分類した。さらに、各群におけるオートファジー関連タンパク質 (LC3、p62) 、及びマイトファジー関連タンパク質 (BNIP3、Nix、PINK1、Parkin)の発現量をウエスタンブロッティングにより定量し比較解析した。

【結果・考察】

詳細な結果と考察については発表会にて報告する。