

糖尿病の病態形成におけるミトコンドリアゲノム変異の関与

高橋宗一郎 (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>

ミトコンドリアは生命活動に必要なエネルギーである ATP の大部分を合成する細胞小器官である。ミトコンドリアは外膜と内膜の二重の生体膜によって完全に閉ざされており、内膜には ATP 産生を行なうための呼吸酵素複合体 I~V が存在する。また、この内膜の内側 (マトリクス) には核とは異なる独自のゲノムであるミトコンドリア DNA (mtDNA) が細胞あたり数百~数千コピー含まれている。哺乳類の mtDNA には、呼吸酵素複合体を構成する構造遺伝子と、それらの翻訳に必要な rRNA および tRNA がコードされている。そのため、病原性突然変異が生じた mtDNA が蓄積すると、ミトコンドリア呼吸機能が低下し、ミトコンドリア病と総称される多様な疾患が惹起されることが知られている。

最近では、最も身近な生活習慣病である糖尿病の発症にも、変異型 mtDNA 分子やミトコンドリア呼吸機能異常が関与している可能性が示唆されるに至っている。しかし、病原性突然変異型 mtDNA 分子種を導入したマウス群や、ミトコンドリア機能低下を誘導したマウス群では、糖尿病 (高血糖) ではなく、低血糖を呈することが報告されている。

ミトコンドリアは酸化的リン酸化の際に、副産物として活性酸素種 (ROS) を産生することが知られている。近年では、過剰に産生された ROS が糖尿病病態におけるインスリン抵抗性の亢進や、糖尿病合併症の発症などに関与している可能性が広く報告されている。このことを考慮すると変異型 mtDNA 分子種の差異、特に、それに伴う ROS 産生の差異が糖尿病の発症/病態形成に重要な役割を有していることが想定できる。

これまでに所属研究室は変異型 mtDNA 導入マウス (Mito-mice) 群を作製してきた。Mito-mouseND6 は呼吸酵素複合体 I のサブユニットである ND6 遺伝子に突然変異を有しており、ROS を漏出させる病原性を有している。一方、mito-mouseCOI は呼吸酵素複合体 IV のサブユニットである COI 遺伝子に突然変異を有しており、ROS 漏出の病原性は有していない。どちらのマウスも変異型 mtDNA によるミトコンドリア呼吸機能低下を共通して示すが、mito-mouseND6 でのみ老化に伴った ROS 過剰産生による B 細胞リンパ腫と高血糖が見られる。Mito-mice の核は B6J 系統であり、この核背景の下では ROS 漏出型 mtDNA の病原性は高血糖の誘導に留まったものの、予め糖尿病を発症する核背景では、病態形成の促進や重症度に影響を及ぼす可能性がある。

そこで、本研究では変異型 mtDNA 分子種の差異、特に ROS の過剰産生の有無が糖尿病の病態形成に関与するか否かを検証することを目的とし、変異型 mtDNA を 2 型糖尿病モデルマウス系統に導入することで、糖尿病を発症する核ゲノムと変異型 mtDNA を共存させたマウスを作製し、解析を行なうこととした。

<方法>

変異型 mtDNA を 2 型糖尿病モデルマウス系統に導入したマウスの作製には、以下の①~③の 3 系統のマウスを用いた。

①Mito-miceND6

呼吸酵素複合体 I の ND6 遺伝子の 13,997 塩基目のグアニンがアデニンに置換された点突然変異を有した mtDNA を有する。

②Mito-miceCOI

呼吸酵素複合体 IV の COI 遺伝子の 6,589 番目の塩基がチミンからシトシンに置換された点突然変異を有した mtDNA を有する。

③db/db マウス (BKS.Cg+ *Lepr^{db/+}* *Lepr^{db/Jcl}**)

核ゲノムのレプチン受容体遺伝子に変異を有した 2 型糖尿病モデルマウスである。

Mito-miceND6 および mito-miceCOI の雌マウス (mtDNA は母性遺伝する) と db/+ の雄マウス (db/db は不妊) を戻し交配することで作製した。それらを db/db mtND6、db/db COI、また野生型 mtDNA を有するマウスを db/db mtWT と表記する。

<結果>

作製した db/db mtND6、db/db COI、db/db mtWT を用い、糖尿病に関する病態解析として、体重や血糖値など血液成分の測定を行なっている。

<今後の予定>

変異型 mtDNA 分子種の病原性を確認するため、ROS の産生量および呼吸酵素複合体の活性を測定する予定である。