

## ミトコンドリア病モデルマウスの病態発症機構におけるミトコンドリア分裂の役割

本間 耀 (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、酸化的リン酸化によって生体内に必要な ATP の大部分を産生している。しかし、ミトコンドリアの担う役割はそれだけにとどまらず、赤血球における酸素運搬に必須であるヘム合成や、アポトーシス誘導、脂肪酸代謝など、細胞内において様々な役割を担っている。また、ミトコンドリアは核と異なる独自のゲノムである環状二本鎖のミトコンドリア DNA (mtDNA) を 1 細胞あたり数百~数千コピー有しており、哺乳類の mtDNA にはミトコンドリア内で呼吸酵素複合体を構成する 13 種のタンパク質の構造遺伝子と、それらの翻訳に必要な 2 種の rRNA、22 種の tRNA がコードされている。

mtDNA への病原性突然変異の蓄積はミトコンドリア呼吸機能低下を引き起こし、ミトコンドリア病と総称される疾患群の原因となる。一方でミトコンドリアは融合・分裂を繰り返し、内容を交換することによって相補し合い、一定量の病原性突然変異型 mtDNA が存在しても、それによる病態発症を抑制するというユニークな特性を有している。事実、所属研究室で樹立された、大規模欠失突然変異型 mtDNA ( $\Delta$ mtDNA) と野生型 mtDNA を共に有する病態モデルマウス (mito-mice $\Delta$ ) は、 $\Delta$ mtDNA の含有率 (% $\Delta$ ) が 70-80%程度まで蓄積しないと、顕著な病態を呈さないことがわかっている。さらに、病態の発現には組織特異性があり、腎臓や心筋には重篤な影響が現れる一方で、肝臓や血液では軽度な貧血がある以外に目立った病態が認められない。このマウスでは、% $\Delta$ 依存的にミトコンドリアの分裂に関わる因子の発現量が増加していることが示されており、 $\Delta$ mtDNA による病態発現を抑制する機構に、ミトコンドリアの分裂が重要な役割を担っているのではないかと考えられた。この仮説を検証する目的で、 $\Delta$ mtDNA による病態が発現しにくい肝臓と血球系組織特異的にミトコンドリアの分裂因子 Drp1 をノックアウトしたマウスが既に樹立されている。

冒頭でも述べた通り、ミトコンドリアはヘムの合成において重要な役割を担っており、ミトコンドリアの機能が低下すると、ヘムに正常に配位できなかった遊離の鉄イオンがミトコンドリア内に蓄積し、鉄染色によって視認できるようになる。Mito-mice $\Delta$  の血球系で Drp1 をノックアウトすることにより、赤血球におけるヘモグロビン形成に異常をきたし、これまで $\Delta$ mtDNA の蓄積単独では認められなかった新たな病態が血球系において発現する可能性がある。本研究では、血球系で Drp1 をノックアウトした mito-mice $\Delta$  の病態解析を通じて、病原性突然変異型 mtDNA の蓄積による病態発症機構におけるミトコンドリア分裂の生物学的意義を検証することを目的として、実験を行った。

## 方法

$\Delta$ mtDNA と野生型 mtDNA の両方を有し、また Cre-loxP 系により Mx1 プロモーター制御のもと薬剤投与を行うことで後天的に肝臓・血球系組織特異的にミトコンドリア分裂因子 Drp1 のノ

ックアウトを誘導できるマウス (Mx1-Cre/Drp1<sup>fl/fl</sup>/mito-mice $\Delta$ ) のうち比較的% $\Delta$ の低い 3-4 か月齢の雄個体を実験に用いた。このマウスを以下 4 群に分け、血球系組織における病態の比較解析を行った。具体的には末梢血塗抹標本の鉄染色やヘマトクリット測定による貧血症状の解析を行い病態の有無や悪性度の検証を行った。

①Drp1 WT/ $\Delta$ Low

薬剤 (PolyI:C) を投与するものの Cre リコンビナーゼを有さないために Drp1 がノックアウトされず、かつ% $\Delta$ が低い mito-mice $\Delta$

②Drp1 WT/ $\Delta$ Middle

薬剤を投与するものの Cre リコンビナーゼを有さないために Drp1 がノックアウトされず、かつ% $\Delta$ が中程度である mito-mice $\Delta$

③Drp1 KO/ $\Delta$ Low

薬剤投与により肝臓・血球系組織特異的に Drp1 をノックアウトし、かつ% $\Delta$ が低い mito-mice $\Delta$

④Drp1 KO/ $\Delta$ Middle

薬剤投与により肝臓・血球系組織特異的に Drp1 をノックアウトし、かつ% $\Delta$ が中程度である mito-mice $\Delta$

## 結果

3-4 か月齢における各群のマウスの末梢血塗抹標本を鉄染色した結果から、Drp1KO $\Delta$ Middle の群において他群と比較して担鉄赤血球の割合に有意な増加が見られた。

## 考察・展望

Drp1 KO/ $\Delta$ Middle の群において担鉄赤血球の割合が他の群と比較し有意に増加したという結果から、この群のマウスではミトコンドリアにおける鉄代謝の異常が起きていることが示唆される。また、Drp1 KO/ $\Delta$ Middle の群において% $\Delta$ が 70%に満たないにも関わらず病態発症が確認されたことから、ミトコンドリア分裂がミトコンドリア病態発症機構において抑制的に関与していることが示唆される。

% $\Delta$ は加齢に伴い上昇すると考えられていることや、所属研究室の先行研究により示された $\Delta$ mtDNA の蓄積に伴うミトコンドリア分裂の亢進の可能性から、月齢の異なる各群のマウスにおいても同様に病態解析を行い比較することで、より詳細な知見が得られることが期待される。

今後、同様の解析に加え FACS による末梢血、骨髄、脾臓における血球系細胞の lineage 解析、骨髄塗抹標本の鉄染色及びメイ・ギムザ染色を、より加齢させた各群のマウスにおいて行い、病態解析を行う予定である。