

突然変異型 mtDNA が骨格筋タンパク質の分解・合成に及ぼす影響の解析

石崎光理 (筑波大学 生物学類)

指導教員：石川香 (筑波大学 生命環境系)

背景・目的

骨格筋を構成する筋繊維ではタンパク質の分解・合成が絶えず繰り返されており、これらを制御しているタンパク質分解経路及び合成経路のバランスによって筋繊維径が規定される。骨格筋タンパク質分解経路としては主にユビキチンプロテアソーム系及びオートファジーが知られている。一方、骨格筋タンパク質合成経路としては主にインスリンシグナル伝達経路が知られている。また、がんや飢餓、寝たきりといった状況下では、骨格筋タンパク質分解経路の促進によって骨格筋繊維の萎縮が観察される。一方、運動時には、骨格筋タンパク質合成経路の促進によって骨格筋繊維の肥大が認められる。

細胞小器官の一つであるミトコンドリアは、核とは異なる独自の DNA (ミトコンドリア DNA : mtDNA) を有しており、酸化的リン酸化によって生命活動に必要なエネルギーである ATP の大部分を産生している。mtDNA 分子は、環状二本鎖の構造をしており、細胞あたりに数百~数千コピー含有されている。哺乳類の mtDNA にはミトコンドリア内の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。そのため、病原性突然変異の生じた mtDNA がある一定以上の割合で蓄積すると、ミトコンドリア呼吸機能低下が引き起こされ、その結果ミトコンドリア病と総称される多様な病態が誘発されることが報告されている。

事実、所属研究室で樹立された大規模欠失突然変異型 mtDNA (Δ mtDNA) を野生型 mtDNA と共に含有するマウス (mito-mice Δ) では、ミトコンドリア呼吸機能低下に起因する心伝導障害や腎不全など、全身性の多様な病態が誘導される。また、近年 Δ mtDNA が 80%以上の割合で蓄積した mito-mice Δ において、大腿四頭筋で骨格筋繊維の萎縮が引き起こされることを報告した。前述のように筋繊維径はタンパク質の分解・合成によって規定されるが、mito-mice Δ の大腿四頭筋で観察された骨格筋繊維の萎縮の機構は未だ明らかにされていない。そこで本研究では、mito-mice Δ における大腿四頭筋のタンパク質分解・合成経路の挙動を解析することで、ミトコンドリア呼吸機能不全によって誘導される筋萎縮の分子機構を解明することを目的とした。

方法

Δ mtDNA を 80%以上有し病態を発症する mito-mice Δ 及び比較群として野生型マウスを使用した。両群の大腿四頭筋から抽出した RNA 及びタンパク質を用いて、qRT-PCR 法及び Western blotting 法により、タンパク質合成・分解に関わる遺伝子及びタンパク質の発現量を比較した。

結果

Δ mtDNA を高率に有する mito-mice Δ の大腿四頭筋において、骨格筋構成タンパク質を分解する時に特異的にはたらくことが

判っているユビキチンプロテアソーム E3 リガーゼ遺伝子及び、筋肥大抑制因子として知られるマイオスタチン遺伝子の発現量が有意に増加していることが確認された。また、AMP/ATP 比の増加に依存してタンパク質分解シグナルを促進し、タンパク質合成シグナルを抑制するリン酸化 AMPK の増加が確認された。一方、オートファジー関連遺伝子の発現量において増加傾向は確認されたが、有意な差は認められなかった。

考察・展望

本研究において、 Δ mtDNA が一定以上の割合で蓄積した mito-mice Δ における大腿四頭筋の骨格筋萎縮は、ユビキチンプロテアソーム系及びマイオスタチンによってタンパク質分解が亢進し、タンパク質合成が抑制されることで引き起こされていることが示唆された。さらに、リン酸化 AMPK の増加が明らかになったことから、 Δ mtDNA の蓄積がミトコンドリアの呼吸機能低下を引き起こし、AMPK の活性化を介してユビキチンプロテアソーム E3 リガーゼ遺伝子及びマイオスタチン遺伝子の発現量を増加させていることが示唆された。また、AMPK の活性化は、オートファジーを誘導することで知られている。オートファジー関連遺伝子については、現時点では発現量に有意差は認められていないが、mito-mice Δ において増加傾向が確認されているため、今後さらに詳細な検証を行う予定である。