

ミトコンドリア DNA にランダムな突然変異を有するマウスの病態形成に及ぼすミトコンドリア内タンパク質分解の影響

山田 亮仁 (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

細胞小器官の一種であるミトコンドリアは、外膜および内膜の二重膜からなり、内膜に存在する呼吸酵素複合体 I ~ V による酸化的リン酸化反応によって生命活動に必要な ATP の大部分を産生している。また、核 DNA とは異なる独自のミトコンドリア DNA (mtDNA) を細胞あたり数百~数千コピー有している。哺乳類の mtDNA には複合体 II を除くその他の複合体を構成する一部の構造遺伝子と、その翻訳に必要な rRNA および tRNA がコードされている。つまり、複合体 II は核 DNA によってコードされたサブユニットのみで構成されている一方で、複合体 I、III、IV、V は核 DNA と mtDNA の二重支配を受けている。したがって、病原性突然変異を有する mtDNA 分子の蓄積はミトコンドリア呼吸機能低下を誘導する。

哺乳類の mtDNA の唯一のポリメラーゼである DNA ポリメラーゼ γ (PolG) には複製機能と校正機能が備わっている。先行研究において、この校正機能のみを欠損したマウス (mtDNA mutator mice) においては、mtDNA の複製を繰り返す度に後天的にランダムな突然変異が生じ、結果として、加齢に伴って mtDNA に多様な突然変異が蓄積していく。興味深いことに、mtDNA mutator mice では ATP 産生の低下を特徴とする呼吸欠損が誘導されることが報告されている。しかしながら、この呼吸機能欠損を誘導する詳細な分子機構は明らかにされていないばかりでなく、後述する所属研究室における先行研究との相違点が存在する。

所属研究室では、ミトコンドリアには融合と分裂を介して mtDNA や遺伝子産物を交換することで、その機能を正常に保つはたらき、ならびに、逆に全てのミトコンドリアの機能を破綻させるはたらきの (ミトコンドリア間相互作用) があることを証明している。このミトコンドリア間相互作用により、mtDNA に同一の病原性突然変異が優位に蓄積しない限りは、ミトコンドリア呼吸機能低下は引き起こされない。また、所属研究室において樹立された野生型 mtDNA と大規模欠失突然変異型 mtDNA (Δ mtDNA) を共に含有する病態モデルマウスにおいては、ミトコンドリア間相互作用により、 Δ mtDNA が 70~80% 以上蓄積してはじめてミトコンドリア呼吸機能低下が誘導されることが明らかとなっている。このことからミトコンドリア呼吸機能低下の誘導には閾値効果が存在すると考えられる。

ミトコンドリア間相互作用を考慮すると、mtDNA mutator mice においては、たとえ mtDNA にランダムな突然変異が蓄積したとしても同一の病原性突然変異を有していない異なる mtDNA 分子から遺伝子産物が供給されるため、ミトコンドリア呼吸機能は正常に保たれることが予想される。また、閾値効果を考慮すると、ミトコンドリア呼吸機能低下を誘導するのに十分な程度に同一の病原性突然変異型 mtDNA 分子が蓄積しない限り、ミトコンドリア呼吸機能は維持 (正常化) されると考えられる。それにもかかわらず、mtDNA mutator mice では mtDNA への

ランダムな突然変異の蓄積によって呼吸欠損が誘導されるのである。

現在、mtDNA mutator mice において呼吸欠損が誘導される原因としては、複合体の形成が異常となり、その結果として複合体の形成と分解のターンオーバーが早まるという仮説が提唱されている。そこで本研究では、呼吸酵素複合体およびそれを構成するサブユニットに着目し、mtDNA mutator mice の臓器を用いて mtDNA へのランダムな突然変異が呼吸欠損を誘導する分子機構を解明することを目的とした。

材料

○mtDNA mutator mice (10 ヶ月齢) における凍結組織および、対照群として野生型の PolG を発現する同月齢のマウスの凍結組織

方法・結果

臓器から抽出した総タンパク質を用いたウェスタンブロッティング解析によって、肝臓における Sdha (複合体 II を構成するサブユニット、核 DNA コード) および Cox4 (複合体 IV を構成するサブユニット、核 DNA コード) の発現量を調べた。その結果、WT と比較して、mtDNA mutator mice の Sdha の発現量は同等であったが、Cox4 の発現量は減少していた。

その他の詳細な結果は発表会にて報告する予定である。

考察

ウェスタンブロッティング解析の結果から、Sdha および Cox4 はどちらも核 DNA にコードされているにもかかわらず、mtDNA mutator mice の肝臓では発現量において異なる挙動を示すことが確認された。注目すべきは、Sdha を含む複合体 II は核 DNA にコードされたサブユニットのみで構成されているが、Cox4 を含む複合体 IV は核 DNA にコードされたサブユニットと mtDNA にコードされたサブユニットが組み合わされて構成されるという点である。

このことから、mtDNA へのランダムな突然変異の蓄積によって mtDNA にコードされたサブユニットが不完全な状態で複合体に組み込まれ、複合体の安定性を低下させることで分解速度が早まり、核 DNA にコードされたサブユニットも同時に減少しているのではないかと考えている。この呼吸酵素複合体の分解促進によって、呼吸機能の低下が引き起こされているのではないかと仮説を立て、現在、この仮説を検証するためにさらなる実験を行っている。