

不活動がミトコンドリア機能不全動物の骨格筋に及ぼす影響

花北 秀人 (筑波大学 生物学類)

指導教員：武政 徹 (筑波大学 体育系)

<背景・目的>

骨格筋は、ヒトの体重の女性で30%以上、男性では38%以上を占めると言われており、日常の動作に欠かせない組織である。骨格筋の特徴として、種々の刺激にตอบสนองして形態的または機能的に変化する優れた可塑性を示すことが挙げられる(Frontera, et al. 2015)。例えば、レジスタンストレーニングは筋肥大を誘導し、持久性トレーニングは酸化的代謝能力を向上させる。反対に、不活動や無重力状態への暴露によって機械刺激を受けられなくなると筋萎縮が生じることも知られている。

超高齢社会を迎えた本邦では、運動不足などによるサルコペニアと呼ばれる加齢性骨格筋減弱症が問題となっている。骨格筋は加齢に伴い量や機能が低下していく。その原因の1つとして骨格筋におけるミトコンドリアの機能低下が関与している事が明らかになりつつある(Marzetti, et al. 2013)。ミトコンドリアは、細胞内でエネルギーとして使われるATPを作り出す工場の役割を担っている。骨格筋では多くのエネルギーが消費されるため、ミトコンドリア機能を維持することは、骨格筋の機能を保つ上で必要不可欠である。また、ヒトに二週間のギプス固定を行ったところ、筋萎縮とともにミトコンドリア呼吸鎖機能が低下することが報告されている(Gram, et al. 2014)。

現在までにミトコンドリアにおいて見つかった唯一のポリメラーゼであるDNAポリメラーゼγ(PolG)には、mtDNAの複製機能と校正機能が備わっている。先行研究において、PolGの校正機能のみを欠損したマウス(mtDNA mutator mice)では、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、野生型と比較して急激にmtDNAに多様な突然変異が蓄積していく。この変異蓄積により、呼吸機能欠損が誘導され、その結果、体重減少、白髪化、骨格筋量の減少などの老化現象が観察される事が報告されている(Safdar, et al. 2011)。これらは主にPolG(mut/mut)において見られる現象であり、PolG(+mut)では、変異は蓄積されるものの顕著な表現型は見られない。

本研究では、通常だと表現型が現れないPolG(+mut)に身体不活動モデルである除神経を施すことにより、変異がより蓄積し、表現型として現れるかどうかを検討することを目的とした。

<材料・方法>

1) 実験動物

mtDNA mutator miceのヘテロ(+mut)マウスを両親として生まれた10~12週齢のF₁オスを対象とし、ジェノタイプングによりWT群、ヘテロ(+mut)群(各群n=7)の2群に分けた。

2) 身体不活動モデル

麻酔下のマウスの右後肢を切開し、坐骨神経を5mm以

上切除した。左後肢には偽手術を施し、コントロールとした。

3) サンプリング

手術から2週間後に頸椎脱臼により安楽死させ、腓腹筋、前脛骨筋及び長趾伸筋を採取した。

4) 解析項目

- ・筋湿重量
- ・酵素活性 (CS、COX)
- ・ミトコンドリア関連の遺伝子発現およびタンパク質量の計測
- ・透過電子顕微鏡 (TEM : Transmission Electron Microscope) により筋内のミトコンドリアの観察

<結果>

まず、ヘテロマウスの掛け合わせにより得られた個体をジェノタイプングによって遺伝子型を確認した(図A)。一番上のバンドが1本だけであれば野生型(+/+)、下の2本のバンドが出れば変異型(mut/mut)、3本のバンドが全て出ればヘテロ型(+mut)と判断した。

除神経手術を施し、2週間後サンプリングを行ったところ、WT群、ヘテロ群において、コントロールである左後肢に比べ、どの筋でも筋萎縮が起きていた。しかし、両群を比較したところ筋萎縮の変化において顕著な差は認められなかった。

他の解析項目については、現在解析中のため詳細は発表会にて報告する。

<図>



Marker (+/+) (+/+) (+/mut) (+/mut) (mut/mut)
(A) ジェノタイプングの電気泳動結果の例