

## 大規模欠失突然変異型 mtDNA を導入したマウス骨格筋の萎縮における炎症性反応の関与の有無

小林 彩子 (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】

ミトコンドリアは外膜と内膜の二重の膜からなる細胞小器官であり、内膜は呼吸酵素複合体 I ~ V による酸化リン酸化反応によって生命活動に必要な ATP 産生の大部分を担っている。また、ミトコンドリア内膜の内側のマトリクスには核 DNA とは異なる独自の DNA であるミトコンドリア DNA (mtDNA) が細胞当たり数百~数千コピー含有されている。哺乳類の mtDNA には、呼吸酵素複合体の構造遺伝子のほか、これらの翻訳に必要な *tRNA* 遺伝子と *mRNA* 遺伝子がコードされている。

このような mtDNA に病原性突然変異が生じ、変異型 mtDNA が優位に蓄積することで、ミトコンドリア病と呼ばれる全身性の代謝疾患が発症することが知られている。所属研究室では *mito-mice Δ* と呼ばれるミトコンドリア病モデルマウスの樹立に成功している。*mito-mice Δ* の各組織・各細胞には正常な mtDNA (野生型 mtDNA) と大規模欠失突然変異型 mtDNA ( $\Delta$  mtDNA) が含有されており、各組織・各細胞に含有される  $\Delta$  mtDNA が 70~80% 以上の割合で蓄積すると、呼吸酵素複合体の形成不全による ATP 産生不全が誘導され、腎不全や低体重といったミトコンドリア病を発症する。 $\Delta$  mtDNA を 80% 以上の割合で有している *mito-mice Δ* の骨格筋において呼吸機能不全による筋萎縮が観察されている、しかし、この筋萎縮が誘導される分子機構については詳細に解明されていない。

骨格筋の繊維径はタンパク質合成経路とタンパク質分解経路のバランスによって制御されていることが知られている。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とオートファジー系が、骨格筋タンパク質合成経路としてはインスリンシグナル伝達経路が、それぞれ関与することが知られている。所属研究室の先行研究において、*mito-mice Δ* の大腿四頭筋ではユビキチンプロテアソーム E3 リガーゼ遺伝子及びオートファジーのマーカータンパク質として知られている LC3II タンパク質の発現量の増加が報告されている。一方、この 2 つの経路を誘導する分解経路のマスターレギュレーターである FoxO3 は不活性化していることから、呼吸機能不全によってひきおこされる筋萎縮は、これまでに知られている骨格筋萎縮とは異なる経路によって誘導されることが示唆されていた。一方、FoxO3 を介さずにタンパク質分解系を促進する経路として、NF- $\kappa$ B が関わる炎症性反応とステロイド系抗炎症薬の副作用として観察されるグルココルチコイド誘導性の経路も知られている。そこで本研究では、*mito-mice Δ* で観察される筋萎縮において、炎症性反応とグルココルチコイド誘導性の経路が重要な役割を果たしているか、否かを検証した。

## 【材料】

$\Delta$  mtDNA が 80% 以上蓄積した *mito-mice Δ* (10 か月齢) の大腿四頭筋と血清、ならびに、B6 マウス (10 か月齢) の大腿四頭筋と血清を解析材料とした。

## 【方法】

各マウスの大腿四頭筋から抽出した総タンパク質抽出液を用いて、炎症性反応およびグルココルチコイド誘導性の経路に関与するタンパク質の発現量をウェスタンブロッティングにより比較解析した。さらに、免疫蛍光染色を駆使して、大腿四頭筋を構成する各筋繊維における発現変化も比較解析した。また、全身性の炎症性変化、ならびに、グルココルチコイド誘導性の経路の関与を検討するために、血清生化学解析を行った。

## 【結果】

血清生化学解析において、炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$  や IL-6 の量が B6 マウスと比較して *mito-mice Δ* において優位に上昇していた。この結果は、*mito-mice Δ* では全身性の炎症反応が誘導されている可能性を示唆している。

一方、げっ歯類において主要なグルココルチコイドであるコルチコステロンの血清濃度は、B6 マウスと比較して *mito-mice Δ* において優位に減少していた。この結果は、*mito-mice Δ* で観察される筋萎縮においてグルココルチコイド誘導性の経路が関与している可能性は低いことを示唆している。

その他の結果については発表会にて報告する予定である。