

# 病原性ミトコンドリア DNA の蓄積による褐色脂肪組織の可塑性とグリコーゲン代謝の関連

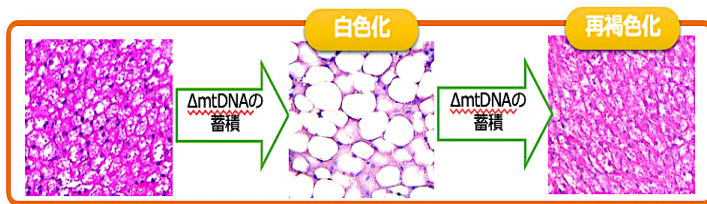
稲山 藍花 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 中田 和人 (筑波大学 生命環境系)

## 【背景・目的】

ミトコンドリアは多くの生体機能に関与する細胞小器官である。ミトコンドリアの代表的な機能としては電子伝達系を介したATP産生が知られている。このミトコンドリアのATP産生にはATP合成酵素が用いられる。一方、ミトコンドリアは熱産生という重要な機能も担っている。このミトコンドリアの熱産生では、電子伝達系の経路を用いるものの、ATP合成酵素の代わりにUCP1というタンパク質が用いられ、結果的に、ATPではなく熱が産生される。この熱産生の機能は、全ての細胞に備わっているわけではなく、褐色脂肪組織 (BAT) のみをもつ特異的な機能であることが知られている。

脂肪組織は褐色脂肪組織 (BAT) と白色脂肪組織 (WAT) に大別される。一般的に脂肪と呼ばれる皮下脂肪や内臓脂肪は WAT であり、脂肪蓄積を主な役割としている。一方、BAT は脂肪分解による熱産生を担っており、ミトコンドリアが豊富であることが特徴である。興味深いことに、両者は生体環境に応じて互いの特徴を呈すること (可塑性) が知られている。例えば、WAT は寒冷刺激により褐色化 (BAT 化) し、逆に BAT は肥満や老化により白色化 (WAT 化) する生体適応現象が報告されている。

さらに所属研究室の先行研究において、ミトコンドリア DNA (mtDNA) への突然変異の蓄積が BAT の可塑性を生み出す可能性を示唆する結果が得られた。この先行研究では、大規模欠失突然変異型 mtDNA ( $\Delta$ mtDNA) を全身に様々な割合で有するミトコンドリア病モデルマウス (Mito-mice $\Delta$ ) が用いられている。 $\Delta$ mtDNA は野生型 mtDNA よりもゲノムサイズが小さいため複製上の利点を有し、加齢に伴ってその割合 ( $\Delta$ 率) が上昇するという特徴がある。 $\Delta$ 率が上昇するとミトコンドリアの呼吸機能が低下し、全身に様々な悪影響を及ぼす。この先行研究では BAT の  $\Delta$ 率が 50%前後まで上昇すると白色化し、さらに 70%以上まで蓄積することで「再褐色化」するという現象が報告された。



再褐色化した BAT は、組織学的には野生型の BAT と類似している。しかし、再褐色化した BAT を有する個体では体温が低下して熱産生機能に異常があると想定されることに加え、BAT における質量や呼吸機能の低下、ミトコンドリアのクリステの崩壊など、野生型の BAT と再褐色化した BAT には機能的・生化学的に異なる点が多く観察された。これにより突然変異型 mtDNA の蓄積が BAT の可塑性を生み出す要因の 1 つであることが示唆されたと同時に、野生型 BAT とは質的に異なる再褐色 BAT の存在が示された。しかしこのような可塑性を生み出すメカニズムに関しては未だ解明されていない。

BAT の可塑性について研究を進めるにあたり、私はグリコーゲン代謝に着目した。グリコーゲンは、重要なエネルギー源であるグルコースの貯蔵形態で、主な貯蔵器官として肝臓と筋肉があげられる。BAT はグリコーゲンの貯蔵器官としてはほとんど注目されていないが、プロテオーム解析 (後述) によりグリコーゲン代謝に関連する遺伝子の多くが発現しており、本来、肝臓特異的に発現する肝臓型グリコーゲン遺伝子の異所的発現も確認された。

そこで本研究では変異型ミトコンドリア DNA の蓄積を要因とする BAT の可塑性とグリコーゲン代謝の関連を明らかにすることを目的として研究を行った。

## 【材料】

5ヶ月齢前後の Mito-mice $\Delta$ 、ならびに、5ヶ月齢前後の野生型マウス (C57BL/6J マウス) から抽出した BAT を用いた。

## 【方法】

### ①プロテオーム解析

抽出した BAT の  $\Delta$ 率を定量し、 $\Delta$ 率 0% ( $\Delta$ 0)、 $\Delta$ 率 50%前後 ( $\Delta$ low)、 $\Delta$ 率 70%以上 ( $\Delta$ high) の 3 群に分類し、各群の BAT におけるタンパク質の発現と増減を解析した。

### ②PAS 染色

抽出した BAT におけるグリコーゲンの蓄積を観察するために、多糖類の染色方法として知られる PAS 染色を行った。PAS 染色に用いる切片は、抽出した BAT をホルマリン固定し、その後、パラフィン包埋し、作製した。顕微鏡観察した結果 (PAS 陽性染色) を ImageJ にて定量化し、比較解析した。

## 【結果】

プロテオーム解析の結果より、 $\Delta$ 率の変化に伴ってグリコーゲン関連遺伝子群の発現量に変動する傾向にあることがわかった。また PAS 染色の結果から、 $\Delta$ low 群の BAT ではグリコーゲンの蓄積が減少し、 $\Delta$ high 群のそれらにおいてグリコーゲンの蓄積が再び上昇する傾向が観察された。

## 【考察と展望】

本研究では、変異型 mtDNA の蓄積による BAT の可塑性においてグリコーゲン蓄積の変化を見出すことができた。今後は、BAT の可塑性におけるグリコーゲン代謝関連遺伝子の変化の生物学的な意義 (原因なのか、結果なのか) について探求したい。