

持久性運動がミトコンドリア病モデルマウスの骨格筋に及ぼす影響

花田 翔 (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内膜と外膜からなる二重膜構造をしており、内膜上に存在する呼吸酵素複合体による酸化リン酸化反応によって、生命活動において必要不可欠な ATP の大部分を合成している。ミトコンドリアは核 DNA とは異なる環状二本鎖構造の独自のミトコンドリア DNA (mtDNA) を有しており、ミトコンドリア内膜上の呼吸酵素複合体を構成する構造遺伝子、rRNA、tRNA がコードされている。

通常、mtDNA は 1 細胞あたり数百~数千コピー存在しているが、病原性突然変異が生じた mtDNA が高い割合で蓄積した場合、ミトコンドリア呼吸機能の低下に伴って主として ATP 要求性の高い神経や筋組織において多様な病態が引き起こされる。こうしたミトコンドリアの機能不全によって発症する全身性の代謝疾患を、ミトコンドリア病と呼んでいる。

現在、ミトコンドリア病は指定難病に分類されており、有効な治療法が十分に確立されていない。このような中、ミトコンドリアに異常のない健常者において持久性の運動はミトコンドリア機能を向上し、糖尿病や神経変性疾患といった疾患のリスクを低減するという研究報告がある。こうした報告を根拠として、ミトコンドリア病における運動療法の有効性が提案されている。

mito-mice Δ は大規模欠失突然変異型 mtDNA (Δ mtDNA) を野生型の mtDNA と共に含有するミトコンドリア病モデルマウスであり、ミトコンドリア呼吸機能低下に起因して低体重や骨格筋萎縮、高乳酸血症、腎障害といった全身性の多様な病態が誘導される。そこで本研究では、ミトコンドリア病に対する有効な治療法を探索するため、mito-mice Δ を用いて持久性の運動トレーニングによる影響を調べることにした。

本研究は、令和 4 年度筑波大学動物実験委員会によって承認を得て実施したものである。

【材料・方法】

本研究では、野生型 B6 マウス 6 匹 (WT 群)、変異率 10% 前後の mito-mice Δ 6 匹 (LOW 群)、変異率 60% 前後の mito-mice Δ 6 匹 (HIGH 群) を用いた。mito-mice Δ の群分けの際は、4 週齢時点の尾において定量した Δ mtDNA 含有率を基準とした。これら 3 群において、それぞれ半数の 3 匹に対して水泳による運動トレーニングを実施した。以下、運動トレーニング実施群を「運動群」、運動トレーニング非実施群を「対照群」とする。

運動群に対して、1 時間/日 \times 5 日/週 \times 4 週間の頻度で水泳による運動トレーニングを実施した。mito-mice Δ について、変異率の高い個体は平均して生後 6 ヶ月以降、重篤なミトコンドリア病の症状を発症してしまうため、生後 6 ヶ月より早い時期に実験を終了させる必要がある。そのため、運動トレーニングは 4 ヶ月齢時点から開始した。

運動トレーニング期間終了後、運動群と対照群のマウス全個体に対して、頸椎脱臼により安楽死させたのち、ヒラメ筋、足底筋など複数の下肢の骨格筋を摘出した。採取した骨格筋サンプルに

対し、湿重量の測定、mRNA 発現量の定量、 Δ mtDNA 含有率の定量を実施した。mRNA の発現量に関しては、ミトコンドリア生合成・呼吸機能の主要制御因子とされる PGC-1 α 、mtDNA の転写を促進するミトコンドリア転写因子 A (Tfam)、TCA 回路において律速酵素として機能するクエン酸合成酵素 (Cs) などについて解析を実施した。

【結果】

骨格筋湿重量について、WT-運動群のヒラメ筋において増加傾向が確認された一方で、LOW-運動群のヒラメ筋においては有意な減少が確認された。HIGH-運動群のヒラメ筋においても減少傾向が確認された。

また、PGC-1 α 、Tfam、Cs などミトコンドリア生合成やミトコンドリア呼吸機能に関与する遺伝子の発現については、 Δ mtDNA 含有率に関わらず運動群のヒラメ筋において発現量が増加傾向にあった。

【考察・展望】

一般的に運動トレーニングはミトコンドリア呼吸機能を向上させることが知られている。しかし、大規模欠失突然変異型 mtDNA (Δ mtDNA) を含有する mito-mice Δ では、運動トレーニングによってミトコンドリア生合成に関与する遺伝子の発現に増加傾向が確認された一方で、骨格筋湿重量の減少が確認された。つまり、ミトコンドリア呼吸機能に異常を有するマウスにおいて、ATP 要求量に対して ATP 産生量が十分でないために骨格筋タンパク質の分解が起こった可能性がある。これによって運動トレーニングによるミトコンドリア生合成促進効果が相殺されたうえ、さらにはミトコンドリア病の症状を悪化させてしまった可能性が考えられる。

しかしながら、現段階では mito-mice Δ における運動負荷が骨格筋湿重量を減少させる傾向は確認されているものの、有意差は認められていない。つまり、ミトコンドリア病患者における運動療法の有効性については未だ疑問が残っている状況である。ミトコンドリア病モデルマウスにおいて持久性運動による代謝調節の分子の手がかりを理解することは、代謝性疾患とミトコンドリアの関連性を解明していく上で重要である。そのため、実験個体数を増やして有意性の検証を進めていく必要がある。また、運動強度や期間を見直していくとともに、継続的な血中乳酸値の測定やミトコンドリア生合成に関与する遺伝子のさらに詳細な解析を実施し、分子基盤の解明を進めていきたいと考えている。