

2022年8月24日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学

国立大学法人東北大学

新規ミトコンドリア病モデルマウスの作製に成功 ～基礎研究と創薬研究への応用に期待～

ミトコンドリアは、細胞内のエネルギー工場として知られる細胞小器官です。生物の遺伝情報であるDNAのほとんどは細胞内の核に存在していますが、ミトコンドリアにも独自のゲノムであるミトコンドリアDNAが存在しています。このミトコンドリアDNAに突然変異が生じると、ミトコンドリア病と呼ばれる代謝性疾患の原因となることや、さらに最近では、糖尿病、がん、老化などの原因になる可能性が示唆されています。ミトコンドリア病の症例が報告されてから50年以上の年月が経ちますが、ミトコンドリアDNAに病原性変異を有するモデル動物の作出例はごくわずかしかありません。そのため、ミトコンドリア病やミトコンドリアDNAの突然変異が関与するとされるさまざまな疾患の発症機構の解明はもとより、治療法の探索や創薬開発は進んでいないのが現状です。

本研究では、ミトコンドリアDNAの中のtRNA^{Leu(UUR)}遺伝子領域に病原性点突然変異を有するモデルマウスを、世界に先駆けて樹立することに成功しました。このモデルマウスでは、ミトコンドリア病の症例と類似した病態だけでなく、ミトコンドリアDNAの変異で生じるとされる糖尿病や肝機能障害が再現されていました。このようなモデルマウスは、ミトコンドリアDNA変異に関する研究に資する貴重な動物資源であり、将来的には、ミトコンドリア病や多様なミトコンドリア関連疾患の治療法の探索や治療薬開発に役立つことが期待されます。

研究代表者

筑波大学 生命環境系

中田 和人 教授

東北大学加齢医学研究所 モドミクス医学分野

谷 春菜 研究員（研究当時：筑波大学）

研究の背景

ミトコンドリアは、生体エネルギー産生を担う細胞小器官であり、細胞核にある DNA (核 DNA) とは異なる独自のゲノムであるミトコンドリア DNA (mtDNA) (注 1) を持っています。この mtDNA にはエネルギー産生に必要な遺伝子群がコードされています。mtDNA になんらかの突然変異が生じ、それらが生体内に蓄積すると、エネルギー産生不全によって、さまざまな疾患がもたらされます。これらを総称してミトコンドリア病 (注 2) と言います。また、mtDNA の突然変異は、糖尿病、神経変性疾患、不妊症、がん、さらには、老化の原因にもなると考えられています。このような疾患群の詳細な発症機構を解明し、有効な治療法を開発するためには、突然変異型 mtDNA を導入したモデル動物の作出と活用が必須です。しかしながら、核 DNA の遺伝子改変技術は mtDNA に対しては適用できないため、これまで、変異型 mtDNA を持つミトコンドリア病モデル動物の作出例はごくわずかしかなかった。このことは、これらの疾患群に対する理解の遅れにつながり、創薬や治療戦略の探索においても大きな障壁となっています。

研究内容と成果

本研究グループは、mtDNA にコードされた tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子に病原性突然変異を持つモデルマウスを、世界で初めて樹立することに成功しました。ミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子は、ミトコンドリア病患者や糖尿病患者において病原性の突然変異が生じやすいことから、ミトコンドリア関連疾患のホットスポットと言われています。

まず、薬剤処理により mtDNA にランダムな突然変異を誘導したマウス培養細胞株を出発材料として、それらのクローニングを繰り返すことで、tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子領域に点突然変異(注 3)を有する mtDNA を高い割合で含有する細胞を単離しました。こうして得た細胞の細胞質をマウス ES 細胞 (注 4) に移植して、tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子領域に点突然変異を有する mtDNA を導入したマウス ES 細胞を樹立し、キメラマウス (注 5) を作製しました。このキメラマウスの交配による生殖系列移行 (注 6) を利用して、最終的に、全身の細胞に tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子領域に点突然変異を有する mtDNA を導入したモデルマウスを樹立させました。このモデルマウスが有する tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子の A2748G 点突然変異(注 7)は、ヒト A3302G 点突然変異(注 8)と相同であり、この変異を有する家系では、ミトコンドリア病や糖尿病の発症が報告されています。

こうして得たモデルマウスは、体内に野生型 mtDNA と変異型 mtDNA が混在しており (ヘテロプラスミー)、その割合はさまざまな組織間においておおよそ同程度で、加齢依存的な変化も確認されませんでした。変異型 mtDNA を高い割合で有するモデルマウス (10 ヶ月齢) を解析したところ、血糖値および乳酸値の上昇、インスリン抵抗性といった代謝異常の特徴が確認され、肝肥大や血中の肝機能不全マーカーの上昇などから肝機能障害を併発していることが分かりました。また、ミトコンドリアの機能については、ミトコンドリアの形態異常やミトコンドリアの内膜に存在する呼吸酵素複合体 (注 9) のうち特に複合体 I の著しい活性低下がみられました。マウス肝臓を用いた分子病理学的解析により、変異型 mtDNA を高い割合で有する組織においては、ミトコンドリア内の RNA プロセッシング (注 10) が阻害され、複合体 I を構成するタンパク質である MT-ND1 の発現量の低下が引き起こされていました。以上のことから、このモデルマウスでは、ミトコンドリア呼吸酵素複合体 I の活性低下に起因するミトコンドリア機能不全を介して、肝機能不全を伴う代謝異常が誘導されていると考えられます (参考図)。これらの知見は、tRNA^{Leu(UUR)} 変異によって誘導されるミトコンドリア機能障害とミトコンドリア関連疾患の発症機序を理解するための分子基盤を提供するものです。

今後の展開

本研究グループは、今回樹立したモデルマウスを加齢させ、長期的な病態の追跡を行っています。ミトコンドリア病は体内でエネルギー消費量の多い筋肉や中枢神経系に症状が出やすいことから、大規模な行動解析等を含む病理学的解析により、老化に伴って病態の悪化が見られるか、あるいは新規の病態が出現するかなどを確かめています。

このモデルマウスは、ミトコンドリア関連疾患の基礎研究や創薬研究のための新たな生体モデルであり、今後、mtDNA のホットスポット変異に関わる基礎研究および臨床研究に大きな前進をもたらすことが期待されます。

参考図

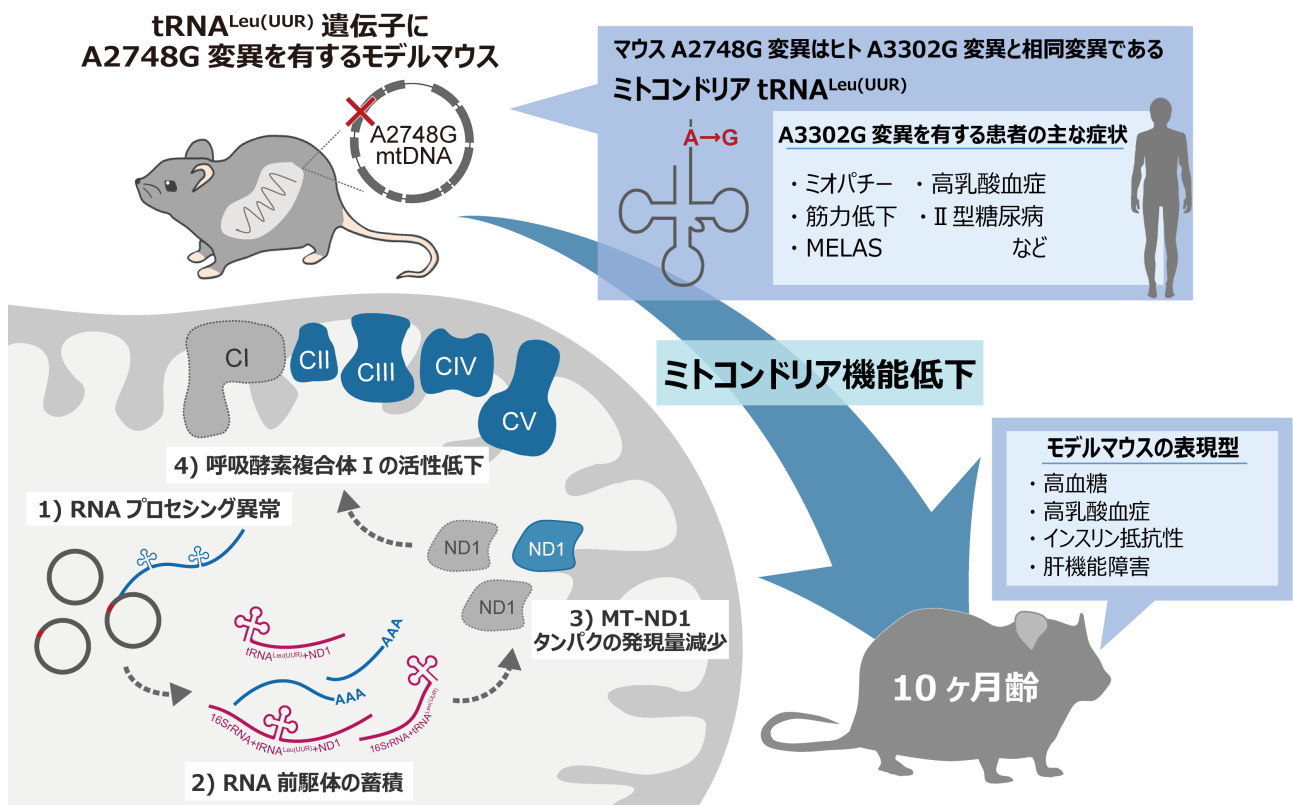


図 本研究の概略図

mtDNA の tRNA^{Leu(UUR)} 領域に A2748G 変異を有するモデルマウスを作成した。A2748G 変異はヒト A3302G 変異と相同であり、ヒト患者ではミオパチー（筋疾患）や高乳酸血症などが主な臨床症状である。A2748G 変異は 1) RNA プロセッシングを阻害することで、2) ミトコンドリア内に未成熟な RNA 前駆体を蓄積させ、3) MT-ND1 遺伝子の発現量が低下し、4) 呼吸酵素複合体 I の顕著な活性低下を引き起こす。こうした分子機序により誘導されるミトコンドリア機能不全を介し、10ヶ月齢のモデルマウスでは、高血糖、高乳酸血症、インスリン抵抗性、肝機能障害を伴う代謝疾患を呈する。

用語解説

注1) ミトコンドリア DNA (mtDNA)

ミトコンドリアが保有する独自のゲノム。およそ 16kbp の環状二本鎖構造を持ち、1 細胞内に数百～数万コピー含まれている。生体内でのエネルギー産生（ミトコンドリアでの ATP 産生）に必要な 13 種類の構造遺伝子とそれらの翻訳に関わる 22 種類の tRNA 遺伝子および 2 種類の rRNA 遺伝子がコードされている。

注2) ミトコンドリア病

ミトコンドリアの機能低下を特徴とする全身性の症状を呈する代謝疾患の総称。発症頻度は数千人から数万人に1人程度と言われ、我が国では指定難病として認定されている。核 DNA にコードされたミトコンドリア関連遺伝子に生じる突然変異によって発症する場合と、mtDNA に生じる突然変異によって発症する場合がある。

注3) 点突然変異

DNA や RNA の塩基であるグアニン (G)、アデニン (A)、チミン (T)、シトシン (C) のうち1つの塩基が別の塩基に置き換わってしまう突然変異のこと。

注4) ES 細胞

動物の初期発生段階である胚盤胞の一部の細胞塊から作られる幹細胞のこと。自ら細胞分裂する自己増殖能とさまざまな種類の細胞に分化する能力 (多能性) を持っている。

注5) キメラマウス

マウス初期胚に ES 細胞や iPS 細胞などの幹細胞をマウス初期胚に移植することで人工的に作製されるマウスのこと。

注6) 生殖系列移行

ES 細胞などの幹細胞がキメラマウスの体内で生殖細胞に分化し、ES 細胞由来の遺伝子がキメラマウスの交配を介して子に遺伝すること。遺伝子改変マウスを作製するためによく使われる手法である。

注7) A2748G 点突然変異

マウス mtDNA の塩基番号 2748 位の塩基がアデニン (A) からグアニン (G) に置換されている (変異している)。

注8) A3302G 点突然変異

ヒト mtDNA の塩基番号 3302 位の塩基がアデニン (A) からグアニン (G) に置換されている (変異している)。

注9) 呼吸酵素複合体

ミトコンドリア内膜に存在しており、酸化還元反応を利用して生体エネルギー産生に関与している。呼吸酵素複合体のうち I, III, IV, V は核 DNA 由来のタンパク質とミトコンドリア DNA 由来のタンパク質の両方により構成されている。

注10) RNA プロセッシング

DNA より転写された RNA 前駆体を切断したり、修飾したりすること。適切な機能を発揮できる成熟型の RNA になるために必要な過程である。

研究資金

本研究は、日本医療研究開発機構が助成する革新的先端研究開発支援事業 (AMED-CREST) (研究費番号: JP22gm1110006) および日本学術振興会が助成する特別研究員奨励費 (研究費番号: 18J20289, 21J00143)、科学研究費基盤 B (研究費番号: 16H04678, 19H03141, 21H02659, 22H02536)、科学研究費基盤 C (研究費番号: 18K06203)、科学研究費若手 B (研究費番号: 16K18535)、新学術領域研究 (研究費番号: 21H00225)、学術変革領域研究(A) (研究費番号: 21H05265) および科学技術振興機構 (JST) が助成する JST 創発的研究支援事業 (研究費番号: JPMJFR204M, JPMJFR205Y)、JST 戦略的創造研究推進事 (ERATO) (研究費番号: JPMJER2002) の支援により実施されました。

掲載論文

【題名】 Aberrant RNA processing contributes to the pathogenesis of mitochondrial diseases in *trans*-mitochondrial mouse model carrying mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} with a pathogenic A2748G mutation.

(新たに樹立したミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)}に A2748G 変異を有するモデルマウスでは RNA プロセシングの異常を介してミトコンドリア関連疾患を発症する)

【著者名】 谷春菜^{1,2}, 石川香^{1,3}, 玉城大敬¹, 小笠原絵美⁴, 安川武宏^{5,6}, 松田盛^{2,5}, 清水章文⁷, 康東天^{5,8}, 林純一⁹, 魏范研², 中田和人^{1,3}

1, 筑波大学大学院 生命環境科学研究科

2, 東北大学 加齢医学研究所 モドミクス医学分野

3, 筑波大学 生命環境系

4, 大阪大学 理学研究科

5, 九州大学 大学院医学研究院

6, 順天堂大学 医学部 病理・腫瘍学講座

7, 福岡大学 医学部 微生物・免疫学講座

8, 香椎丘リハビリテーション病院

9, 筑波大学 生存ダイナミクス研究センター

【掲載誌】 Nucleic Acids Research

【掲載日】 2022 年 8 月 24 日

【DOI】 10.1093/nar/gkac699

問い合わせ先

【研究に関すること】

中田 和人 (なかだ かずと)

筑波大学 生命環境系 教授

URL: https://www.biol.tsukuba.ac.jp/nakada_ishikawa/

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp

東北大学 加齢医学研究所 広報情報室

E-mail: ida-pr-office@grp.tohoku.ac.jp