

<研究課題> 要介護リスクを高める骨粗鬆症に対するミトコンドリア呼吸鎖を標的とした診断・治療・予防法の開発

代表研究者 埼玉医科大学ゲノム医学研究センター遺伝子情報制御部門 講師 池田 和博
共同研究者 東京大学大学院医学系研究科抗加齢医学講座 特任教授 井上 聡

【まとめ】

エストロゲン応答遺伝子である **COX7RP** は、ミトコンドリア呼吸鎖酵素群のスーパー複合体形成を促進することによって呼吸活性と ATP 産生を上昇させ、一方、生体においては種々の代謝制御に関与することが想定された。**COX7RP** は骨関連細胞でも発現していることから、**COX7RP** 遺伝子改変マウスは、ミトコンドリアの骨における生体作用を解明するためのモデル動物として有用であり、エストロゲンの新しい作用機序の解明に繋がると考えられた。

1. 研究の目的

骨粗鬆症を呈する高齢者は、筋力低下も伴って転倒・転落による骨折を起こしやすく、要介護や寝たきりのリスクが上昇し、肥満、糖尿病や高血圧などの生活習慣病の疾患リスクも高まる事が知られている。このことから、超高齢社会を迎えた本邦において、骨粗鬆症の予防・改善は健康寿命の延長に不可欠である。本研究は近年注目の集まりつつあるミトコンドリア呼吸鎖を標的として、骨粗鬆症における作用メカニズムを分子・細胞・動物レベルでの研究により明らかにする。本研究により、骨粗鬆症に対する新しい分子標的治療ならびに創薬開発が可能となり、高齢者福祉、医学へ貢献することが期待できる。

2. 研究方法と経過

我々はエストロゲンの作用メカニズムに関する応答遺伝子を解析するなかで、ミトコンドリア呼吸鎖の一員である複合体 IV (シトクロム c オキシダーゼ) のサブユニット (**COX7a**) と相同性を有する遺伝子を単離し、**COX7a-related protein (COX7RP)** と名付けた。**COX7RP** の生体内における作用メカニズムを明らかにするため、遺伝子改変マウス (ノックアウトマウスならびにトランスジェニックマウス) を作製して解析を行った。

胚性線維芽細胞を用いた解析では、

COX7RP ノックアウトマウスでシトクロム c オキシダーゼの活性が有意に低下していることが認められた。一方で、**COX7RP** を過剰発現させるとシトクロム c オキシダーゼ活性が上昇することから、**COX7RP** はシトクロム c オキシダーゼ活性を制御していることが判明した。また、ATP 合成量を解析したところ、ノックアウトマウスでは野生型マウスに比べて減少し、**COX7RP** を過剰発現させると上昇することが認められ、**COX7RP** はミトコンドリア呼吸を制御して、その後のエネルギー産生にも重要な役割を担っていることが示された。

次に、これら遺伝子改変マウスの骨格筋を用いて表現型解析を行った。その結果、ノックアウトマウスの大腿四頭筋においてシトクロム c オキシダーゼ活性の有意な低下が認められた。大腿四頭筋、腓腹筋、心筋における生化学的な検討でもシトクロム c オキシダーゼ活性がノックアウトマウスで低下していることが示された。さらに、これらの遺伝子改変マウスをトレッドミル装置を用いて強制的に運動させたところ、ノックアウトマウスは運動持続能が低下し、逆に、トランスジェニックマウスでは運動持続能が延長していたことから、**COX7RP** は筋肉の持続運動に必要なエネルギー産生に関与する可能性が示された。**COX7RP** の細胞内分子作用メカニズムを解明するため、2次元電気泳動法を用いてミトコンドリア呼吸鎖の解析を行ったところ、ノックアウトマウスの骨格筋においてスーパー複合体が減少していた。従って、**COX7RP** は、ミトコンドリア呼吸鎖のスーパー複合体形成促進因子として機能することを解明した。

3. 研究の成果

骨格筋や褐色脂肪組織の他に、**COX7RP** 遺伝子は骨芽細胞 (HOB) ならびに骨肉腫由来骨芽細胞様細胞 (HOS, MG-63, SaOS2, U2OS) などでも発現していることが明らかにした。従って、**COX7RP** 遺伝子改変マウスは、ミトコンドリアの骨をはじめとする各組織における

生体作用を解明するためのモデル動物として有用であり、エストロゲンの新しい作用機序の解明に繋がると考えられた。

4. 今後の課題

骨代謝におけるミトコンドリアの機能に関しては未解明の部分が多い。骨芽細胞に関しては、分化に伴ってミトコンドリアの生合成と活性が高まり、解糖系から酸化的リン酸化への代謝転換が起こることが知られている。一方、破骨細胞においてはミトコンドリアが豊富に存在することが知られており、大量のエネルギーが必要と想定される骨吸収窩の形成や酸の分泌をはじめとする骨吸収の工程に重要と考えられている。実際、ミトコンドリア生合成の促進に働く転写調節因子である PGC-1 β の発現が破骨細胞の分化において亢進することが知られている。さらに、PGC-1 β 遺伝子欠失マウスは破骨細胞機能の障害を呈すること、PGC-1 β のノックダウンは破骨細胞の分化とミトコン

ドリアの生合成を抑制することが確認されている。COX7RP とこれら因子との骨代謝制御における関係は今後の興味深いテーマである。骨代謝は骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収からなり、その制御にはステロイドホルモンやサイトカインなどが密接に関与している。しかしながら、その制御におけるミトコンドリアの関与については未解明の部分が多い。今後、詳細なメカニズムを明らかにすることにより、骨代謝の新たな制御機構が解明され、骨粗鬆症などの病因解明や新たな治療・予防法の開発に繋がることが期待される。

5. 研究成果の公表方法

さらに追加実験を行い、ミトコンドリアの骨における作用の詳細を明らかにしていく。研究結果はまとめ次第、論文として公表する予定である。

以上