

令和 4 年 6 月 29 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22890

研究課題名(和文)ミトコンドリアのエピゲノム修飾がもたらす加齢現象の解明

研究課題名(英文) Exploring Mitochondrial epigenomic modifications in aging

研究代表者

松田 盛 (Matsuda, Shigeru)

東北大学・加齢医学研究所・助教

研究者番号：00884272

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：ミトコンドリア独自のゲノムであるミトコンドリアDNA(mtDNA)は老化においては、その変異が加齢に伴う個体機能低下と強く相関しており、老化制御に向けてmtDNA変異の分子機構の解明が重要な課題である。超加齢マウス(～24ヶ月齢)のマウス臓器では、mtDNAの転写-複製に関連するタンパク質のうち、超加齢マウスでミトコンドリア転写伸長因子TEFMの増加が観察された。met-tRNAを始めとしたtRNAは肝臓・腎臓・心臓のどの臓器も有意に減少していた。加齢に伴うmtDNA転写翻訳機構の破綻が、十分な修飾tRNA供給を阻害し、加齢によるミトコンドリア機能低下の一因である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ミトコンドリアは独自のゲノムであるミトコンドリアDNA(mtDNA)を有し、呼吸鎖複合体の構造遺伝子およびそれらの翻訳に必要なtRNA遺伝子やrRNA遺伝子をコードする。mtDNA異常は呼吸鎖複合体の遺伝子発現を障害し、様々な疾患の発症につながる。特に老化においては、mtDNAの変異が加齢に伴う個体機能低下と強く相関しており、老化制御に向けてmtDNA変異の分子機構の解明が重要である。本研究では超加齢マウスにおいてミトコンドリア伸長因子であるTEFMが増加し、ミトコンドリアtRNAが減少していることを明らかにし、加齢によるミトコンドリア機能低下の一因が転写翻訳機能低下である可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：Mitochondrial DNA (mtDNA), the unique genome of mitochondria, is a key issue in aging, as its mutation is strongly correlated with age-related decline in individual function, and elucidation of the molecular mechanism of mtDNA mutation is important for the control of aging. Among the mtDNA transcription-replication related proteins, an increase in mitochondrial transcription elongation factor (TEFM) was observed in organs of super-aged mice (24-month-old). Met-tRNA and other tRNAs were significantly decreased in all organs (liver, kidney and heart). It was suggested that age-related disruption of the mtDNA transcription-translation machinery may inhibit the supply of sufficient modified tRNA and contribute to the age-related decline in mitochondrial function.

研究分野：加齢医学

キーワード：老化 加齢 ミトコンドリア エピゲノム

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

哺乳動物の mtDNA はエネルギー代謝に必要な構造遺伝子をコードしており、mtDNA の点変異やコピー数低下が、ミトコンドリア病や神経疾患など多様な疾患の発症につながる。mtDNA 変異が健常人において加齢に伴って蓄積し、個体老化との関連が強く示唆されている。特に、ミトコンドリアで産生される活性酸素 (ROS) による mtDNA 塩基の酸化 (8-hydro-2deoxyguanosine(8-OHdG)など) は、加齢によって増加することが知られており、老化に伴う代謝障害の主要原因の一つと考えられてきた。しかし、ROS のみで老化における代謝変化を説明することが困難であり (Cell Metab 18, 519, 2012; Genetics 177, 2063, 2007) 加齢に伴う代謝機能の変化を引き起こす新たな分子機構の存在が強く示唆されている。メチル化などの核 DNA のエピジェネティクスが老化メカニズムの一つとして知られている。近年、ミトコンドリアに局在するメチル化酵素の発見など、核 DNA に類似するエピジェネティクス機構 (ミトエピゲノム) が mtDNA にも存在していることが提唱されている。ミトエピゲノムの変容は、呼吸鎖複合体の遺伝子発現に大きく影響すると予想され、特に加齢における長期的代謝変化において主導的な役割を有する可能性が高い。しかし、ミトエピゲノムに関する確固たる知見が少なく、老化との関連は不明である。核 DNA エピゲノムによる生命現象制御が円熟期を迎えつつある現在、ミトエピゲノムは次世代エピゲノム研究として注目されている。また、m5dC の他に、m6dA (Nucl Acids Res, 22, 11659, 2018) といった新たなエピゲノム修飾も報告され、ミトエピゲノム研究の重要性がますます高まっていた。

### 2. 研究の目的

ミトエピゲノムの変容がミトコンドリアでの遺伝子発現を調節し、代謝機能の低下といった老化現象につながる可能性が高い。本研究では、加齢に伴うミトエピゲノム変化とミトコンドリア内の転写複製システム並びに代謝への影響を明らかにし、個体老化におけるミトエピゲノムの意義の解明を目的とした。

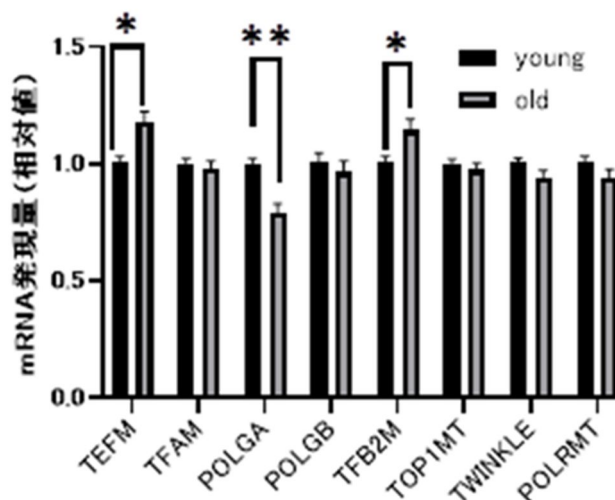
### 3. 研究の方法

超加齢マウス (~24 ヶ月齢) のマウス臓器サンプルを採取し、mtDNA の転写・複製に関連するタンパク質について 6 週齢マウスと mRNA 発現量を比較した。また、ミトコンドリア内 tRNA の量を検討した。発現量に変化のあった遺伝子を欠失した細胞を樹立し、ミトコンドリアタンパク質の発現量を調べた。

### 4. 研究成果

#### (1) ミトコンドリア内転写・複製関連因子の老化による変化

超加齢マウス (old) (n=22) と 6 週齢マウス (young) (n=18) の腎臓より精製した RNA について、mtDNA 転写・複製関連因子である TFAM、POLRMT、TFB2M、TWINKLE、POLG1、POLG2 を RT-qPCR を用いて mRNA 発現量を比較した。その結果、ミトコンドリア転写伸長因子である TEFM、ミトコンドリア転写開始複合体の構成因子である TFB2M が増加し、ミトコンドリア DNA ポリメラーゼの活性サブユニットである POLG が低下していた。これはミトコンドリア DNA 複製が低下し、一方で転写が活性化していることが予想された。

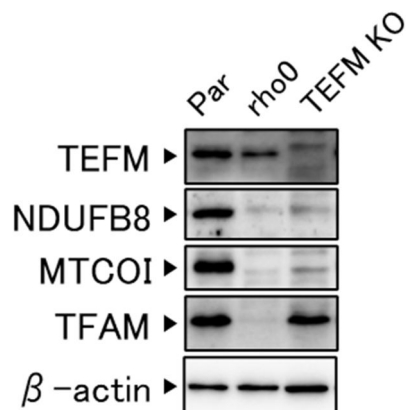


#### (2) ミトコンドリア内転写伸長因子

##### TEFM の機能

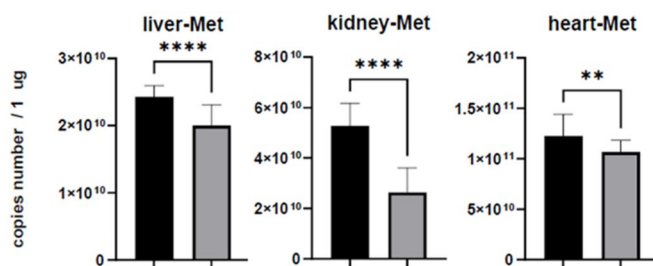
TEFM はミトコンドリア RNA ポリメラーゼ POLRMT と複合体を形成し、RNA の転写伸長に参与していることが知られている。超老化マウスでは POLGA が減少し、TEFM の発現量が増加していたことから、mtDNA コピー数が低下したことを代償するために転写活性を増加させミトコンドリア機能を維持する制御機能の存在が推察された。そこで、TEFM がミトコンドリア内恒常性システ

ムに重要な機能を果たすかを調べるため、TEFM 欠失細胞を樹立し、ミトコンドリア内の転写が必須の呼吸鎖複合体タンパク質をウエスタンブロッティングで解析した。その結果、TEFM を欠失した細胞では mtDNA を欠失した rho0 細胞と同様、呼吸鎖複合体を形成する NDUFB8(核 DNA にコード)、MTCOI (mtDNA にコード) が検出限界以下まで低下しており、呼吸鎖の活性が消失していることが考えられた。一方で核 DNA におけるヒストンタンパク質のように mtDNA を保護する機能を有するタンパク質 TFAM は保存されていた。これは mtDNA が保存されていることを示し、TEFM は呼吸鎖を維持するという点において重要な機能を担っていることが明らかとなった。



### (3)ミトコンドリア内 tRNA の測定

TEFM は翻訳に関与することから、超加齢マウスではミトコンドリア内翻訳システムに何らかの変化が生じていることが予測された。そこで、転写後修飾によって成熟し機能する tRNA のコピー数を測定した。その結果、肝臓のほぼ全ての tRNA で有意に減少し、腎臓・心臓でも半数以上の tRNA について有意な減少が観察された。



興味深いことに、開始 コドン tRNA<sup>met</sup> は肝臓・腎臓・心臓のどの臓器も有意に減少していた。加齢によって、十分な開始コドンの供給が行われなくなることや、その他 tRNA 供給バランスの破綻がミトコンドリアの機能を損なっていることが示唆された。

### (4)総括

本研究では加齢マウスを用いてミトコンドリア機能の低下を招くメカニズムを明らかにするために mtDNA 転写・複製関連因子について解析した。加齢マウスではミトコンドリア転写伸長因子である TEFM が増加していることが明らかとなった。TEFM はミトコンドリア内翻訳に大きく寄与していた。加齢によるミトコンドリア機能の低下はミトコンドリア内翻訳システムの変容に起因することが予測された。事実、加齢マウスでは tRNA<sup>met</sup> をはじめ、各臓器でミトコンドリア内 tRNA が減少しており、ミトコンドリア内の tRNA 供給バランスの変化による翻訳機能の低下が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------