

厚生労働省科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

生体内酸化ストレスによる老年性疾患の発症機構の解明と予防

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 石井 直明

平成19（2007）年3月

目次

I.	総括研究報告	1
	生体内酸化ストレスによる老年性疾患の発症機構の解明と予防	
	石井直明	
II.	分担研究報告	31
	生体内酸化ストレスによる老年性疾患の発症機構の解明と予防	
	丸山直記	
III.	研究石痕の刊行に関する一覧表	36
IV.	研究成果の刊行物・別冊	38

生体内酸化ストレスによる老年性疾患の発症機構の解明と予防

主任研究者 石井 直明 東海大学医学部 教授

研究要旨:ミトコンドリア電子伝達系複合体のサブユニットである SDHC の変異遺伝子を導入し、ミトコンドリアからの活性酸素の発生量や発生時期をテトラサイクリンにより生体外部から任意に制御可能な条件付変異遺伝子組換えマウス (Tet-*mev-1* マウス) を作製した。このマウスは、生体内で活性酸素を産生するパラコートに感受性を示し、臓器・器官によって異なるものの、ミトコンドリアから活性酸素が過剰に産生され、酸化タンパク質の蓄積が認められた。このホモ (Tg/Tg) マウスは胎児期から離乳期にかけて成長の遅れが見られ、多くの組織・器官でアポトーシスが観察された。生後 1 2 週目には正常の大きさの身体に回復した。6 ヶ月齢のヘテロ (Tg/-) マウスにおいては形態病理学的な異常は観察されなかったが、加齢とともに早老的な変化が出現すると予想される。

A. 研究目的

加齢とともに進行する細胞の老化は、器官や臓器の機能低下のみならず、癌や痴呆など多くの深刻な疾患を引き起こし、高齢化社会にとまなうこれらの疾患の増加は重要且つ緊急に解決すべき医療行政の課題になっている。老化や疾患の原因として最も注目されるのが酸化ストレスであり、その主な発生源が細胞小器官ミトコンドリアの電子伝達系であることが知られている。しかし、電子伝達系から酸化ストレスを任意に発生させる手段が存在しないために、外部から過剰な酸化ストレスを負荷するような、正常な生体環境ではありえない条件下で実験がおこなわれている。我々は、線虫、*Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) の突然変異体、*mev-1* が電子伝達系複合体 II

を担っているシトクローム *b* の遺伝子 (*C. elegans* では *cyt-1* マウスやヒトでは SDHC 遺伝子として定義されている) に変異を持ち、ミトコンドリアから活性酸素が過剰に発生することを明らかにした。*mev-1* 突然変異体は大気中でも野生株に比べて短命で、酸素濃度に依存してさらに寿命の短縮がみられた。この変異体はミトコンドリアの形態異常、アポトーシス、老化のマーカーとして知られるリポフスチン (老人斑) や酸化タンパク質の早期蓄積などの早老症の兆候を示すようになった。その後 *C. elegans* の *mev-1* と同等の変異を有するマウス培養細胞を構築した。この変異細胞は過剰なアポトーシスの誘導により死滅していくが (培養 1 ヶ月目の細胞はヌードマウ

ス皮下で直ちに貧食される)、アポトーシスを逃れて生存した一部の細胞は高頻度に形質転換を生じ、ヌードマウス皮下で腫瘍化することが認められた。これは、老化と癌化の過程が、ミトコンドリアから生じる酸化ストレスを起因とした一連の現象として密接に関係していることを示した世界で初めての例である (Cancer Research, 2005)。最近、この変異を導入した遺伝子組換えマウスを作製した。*mev-1* 線虫もマウス培養細胞も、ATP 産生量は野生株と変化はなく、エネルギー代謝は正常に働いていることから、酸化ストレスを生体内部から自然な生体環境に近い状態で負荷することができる有用なモデル動物になると考える。

本研究の目的は、この SDHC 変異遺伝子組換えマウスが生体内酸化ストレスを原因とする老化や老人性疾患のモデル動物として、老化の基礎研究のみならず臨床研究にも応用され、さらに線虫とマウス培養細胞を用いた分子遺伝学的研究から酸化ストレスが老化を引き起こす過程を明らかにすることで、老化および老人性疾患の発症機構の解明から治療や予防（それによる医療費削減）まで幅広い分野に貢献することである。

前年度は、SDHC 変異遺伝子組換えマウスの生化学・生理学・病理学・行動学に基づいた解析をおこない。その結果、この変異マウスは筋力の低下や視力の低下といった老人性の疾患が野生型に比べて早期に認められることを明らかにした。この変異マウスは成熟するまでは野生株と変わらず成長するが、不妊であった。そこで、この変異マウスをさらに改変し、ミトコンドリアからの活性酸素の発生量や発生時期をテトラ

サイクリンにより生体外部から任意に制御可能な条件付変異遺伝子組換えマウス (Tet-*mev-1* マウス) を作製し、本年度は若年期における形態学的・病理学的な解析をおこなった。

B. 研究方法

1. 条件付変異遺伝子組換えマウス

C. elegans の *cyt-1* 遺伝子のマウスホモログである SDHC 遺伝子の DNA 配列を、DDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/E-mail/homology.html>) から取得した。*C. elegans* の *cyt-1* 遺伝子がコードするタンパク質の 71 番目のアミノ酸残基であるグリシンを、それに対応するマウス SDHC 遺伝子がコードするタンパク質中のアミノ酸残基がグルタミン酸に置換した変異 SDHC 遺伝子を作成した。

テトラサイクリンの転写活性/抑制による遺伝子発現の調節原理 [図 1] を利用した条件付変異遺伝子組換えマウスは、従来の方法では、完全な発現抑制をおこなうことができなかったことから、少量の遺伝子発現による影響を避けることができなかった。そこで、本研究では、転写活性よりも抑制効果を強くし、完全な抑制制御が可能な系を新たに開発した (図 2、図 3))。また従来、目的遺伝子、テトラサイクリンの転写活性と抑制のそれぞれの DNA を別々のマウスに組み込み、交配によりこの 3 つの DNA を持つマウスを作製していた。この方法では、それぞれの DNA の発現量が異なるために、遺伝子発現の制御が困難であった。そこで、これらの DNA を結合したベクター DNA を作製した (図 2、図 3)。この DNA をマウスに導入することにより、作製が容易で、

厳密な発現調節が可能な遺伝子組換えマウスの構築ができるようになった〔図3、図4〕。この新しいマウスの作製方法は、「哺乳動物由来の変異SDHC遺伝子を有する遺伝子組み換え動物」として 2005年5月12日に東海大大学より特許出願している（特願2005-139588）。

新規の Tet system-に SDHC 変異遺伝子を組み込んだベクターを、マウスの前核期受精卵の雄性前核へ微量注入した。微量注入の方法は、マイクロインジェクション法の常法に従った。得られた卵細胞を培養した後、偽妊娠雌性マウスの輸卵管に移植し、その後被移植動物を飼育した。

上記の手法により得られた子マウスの尾部より、ゲノム DNA を抽出し PCR 法により Transgene に含まれる変異型 SDHC 遺伝子のスクリーニングを行い、目的とする *mev-1* (SDHC) 条件付 遺 伝 子 組 換 え マ ウ ス (Tet-*mev-1* マウス) を取得した。

2. 変異型遺伝子組換えマウスの解析

*mev-1*マウスは妊娠が確認された直後の母親マウスにテトラサイクリンの誘導体であるドキシサイクリン(Doxycycline)を飲料水に加えて毎日与えた。

(1) パラコート感受性試験

体重 1kg 当たり 75 mg のパラコートを与え、生存数を調べた。

(2) 酸化タンパク質の測定

酸化タンパク質(蛋白質のカルボニル化)は、*C. elegans*を含む多くの生物の臓器で年齢とともに増加する。そのためカルボニル化蛋白質が酸化ストレスのマーカーとし

て常用されており、内因的な活性酸素の産生の大半がミトコンドリアで行われていることから、細胞質と同時にミトコンドリアのカルボニル化蛋白質の量を測定した。

ミトコンドリアと細胞質から由来したミトコンドリア画分と細胞質画分は、酸化された蛋白質のカルボニル 2,4-Dinitrophenyl hydrazine (DNPH) が結合する特性を利用した Levin らの定量法(1990)と同様に、10 mM DNPH で処理をした。さらにカルボニル基と DNPH が結合した領域に特異的な抗体を東邦大学薬学部の後藤佐多良教授より分与していただき、Milliblot-S(Millipore Co.)を用いて、Slot blot 法による Western 解析により定量をおこなった。検出および定量には Coor Saver (ATTO) を使用した。

(3) 活性酸素種スーパーオキシドアニオン (O_2^-) の測定

O_2^- 生成は、従来の MCLA 法よりも感度が高い、化学発光プローブ MPEC (2-メチル-6-p-メトキシフェニルエチニル-イミダゾピラジノン) を用いて測定した。具体的には、筋肉、肝臓組織を溶媒 (210 mM mannitol, 70 mM sucrose, 0.1 mM EDTA and 5 mM Tris-HCl, pH 7.4) に 10% (w/v) 濃度になるよう加え、テフロンホモジナイザーをもちいて粉砕した。これを遠心分離し、細胞質画分とミトコンドリア画分に分離抽出した。このそれぞれの画分を、反応液 (50 mM HEPES-NaOH, pH 7.4, 2 mM EDTA) 中に 40 μ g 分加え、0.7 μ M の MPEC 発光試薬と反応させ、AB-2200 type Luminescencer-PSN (ATTO, Tokyo) をもちいて発光量を測定することで活性酸素量を測定した。測定温度は 37°C に調節した。 O_2^- の速度は秒当た

りの計数として表し、量は $10\mu\text{g/ml}$ のウシ Cu, Zn-スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 存在下のサンプル光学密度を酵素不在下の光学密度から減算することによって算出した。

(4) アポトーシスの観察

各臓器・器官から組織切片を作成し、TUNEL 染色により細胞死の観察と、一部はアポトーシスのマーカーである Caspase 3 の抗体染色をおこなった。

(倫理面への配慮)

マウスの扱いについては、東海大学の動物倫理委員会の規定に従い、肉体的精神的苦痛を与えないよう配慮した。変異マウスの作製・飼育はすべて東海大学・遺伝子工学実験動物研究センターでおこなった。

C. 研究結果

1. 条件付変異遺伝子組換えマウスの作成

14系統の組換えマウスを作成し、変異遺伝子の発現量を調べたところ、野性株に比較して1~2倍の発現量を示した(図5)。

2. パラコート感受性

生後6ヶ月未満のマウスを調べたところ、No.37系統のマウスが感受性を示した(図6)。この系統のマウスと、感受性を示さなかったNo.48系統のマウスと野生株マウスで、生後3ヶ月目の感受性を調べたところ、やはりNo.37が高感受性を示した〔図7〕。本年度はこのNo.37系統マウスを中心に解析をおこなった。

3. SDHCt タンパク質の発現量

間脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、胃、性巣、筋肉における発現量を調べたところ、No.37系統のマウス(Tg/-)ではドキシサイクリンを摂取させたグループで、すべての臓器・器官で発現量の増加が確認された。しかし、No.48系統マウス(Tg/-)では変化は確認されなかった。〔図8〕

4. 酸化タンパク質の蓄積量

生後2~3ヶ月齢のマウスの間脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、胃、小腸、卵巣、筋肉、新生児個体で測定した。蓄積量は臓器・器官で異なり、ドキシサイクリンを摂取させなかった対象でも、肺、脾臓、卵巣で蓄積量が増加していた〔図9〕。

No.37系統マウス(Tg/Tg)では肺と卵巣、筋肉のみで蓄積が観察されたが〔図9、図10〕、No.48ではすべての臓器・器官で差は確認されなかった。〔図9〕。

5. 活性酸素発生量

活性酸素量も臓器・器官で異なり、脳、肝臓、胃で少なく、心臓と小腸で増加していた〔図11〕。

No.37のマウス(Tg/Tg)では、ドキシサイクリンを摂取により、脳、肺、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、卵巣で増加が確認された〔図12〕。

6. 受胎数

No.37系統マウス(Tg/Tg)の母親を交配前からドキシサイクリンを摂取させると、 3.83 ± 3.93 匹の子を作り、妊娠後の摂取では野生株マウスと同じ、 5.33 ± 1.15 匹であった。一方、No.37系統マウス(Tg/Tg)では交配前の摂取では子は産まれず、妊娠後の

摂取であっても 2.13 ± 2.1 匹と減少した。

6. 卵巣の詳細解析

変異 SDDHC 遺伝子を常時発現させたマウスは不妊であり、その原因が卵胞の成熟不全が疑われた。ドキシサイクリンを摂取させた No. 37 系統マウス (Tg/Tg) の卵巣ではミトコンドリアからの活性酸素の発存量、酸化タンパク質の蓄積ともに上昇していた (図 13)。卵胞の成熟不全も観察され、卵胞外細胞ではアポトーシスも観察された (図 14)。また、子宮卵管脛部に多数のアポトーシス、caspase 3 の活性が観察された (図 15)。

6. 成長率

ドキシサイクリンを摂取させた No. 37 系統マウスは、ヘテロマウス (Tg/-) では野生株と同じように成長する。しかし、ホモマウス (Tg/Tg) は成長が遅れ、離乳期で一番顕著であった (図 16)。この遅れは生後 12 週間で野生株と同じ大きさまで回復した (図 17)。

6. 新生児における詳細解析

妊娠確認後に母親にドキシサイクリンを摂取させた No. 37 系統マウスの Tg/Tg 新生児は、体が小さく体重の減少が見られた (図 18)。興味あることに、尾の先端で多数のアポトーシスが観察された (図 18)。

変異 SDHC の発現が上昇し、酸化タンパク質の増加も確認された (図 19)。終脳 (図 20)、脳 (図 21)、肺 (図 22)、皮膚 (図 22)、筋肉・脂肪細胞 (図 23)、肝臓 (図 24)、腎臓 (図 24)、直腸 (図 24)、副鼻腔粘膜 (図 25) で多数のアポトーシス

が観察された。Caspase 3 の活性を肺で調べたところ、上昇していることが確認された (図 20)。

7. 6ヶ月齢マウスの組織病理学的解析

分担研究者の丸山直記とともに、6ヶ月齢マウス (Tg/-) の組織病理学的解析をおこなったが、特に異常を見出すことができなかった。

D. 考察

細胞内で重要な働きをするミトコンドリア電子伝達系複合体の欠損は細胞や個体に致死的効果をもたらすことが多い。現に、複合体 II を担っているシトクローム *b* (SDHC) に変異を持つマウス培養細胞でも、外部から導入した変異遺伝子の発現量が多い細胞は生存できず、本来細胞が持つ正常遺伝子からの発現量よりも変異遺伝子の発現量が同じか少ない細胞のみが生存可能であった。マウス個体の場合も例外ではなく、変異遺伝子を受精卵に導入し、得られた卵細胞を培養した後、偽妊娠雌性マウスの輸卵管に移植し、その後被移植動物を飼育したが、この変異遺伝子が挿入されていたマウスは 1 匹に過ぎなかった。

しかし、この変異 SDHC 遺伝子が導入されたマウスは、活性酸素種スーパーオキシドアニオン (O_2^-) が過剰に産生しており、野生型動物と比較して、成熟期以降に体重の減少を示し、かつ視覚異常、筋肉異常、及び情動行動異常を示すことが確認された。これらの結果は、ミトコンドリア由来の活性酸素が、老化や各種疾患に関与していることを示すものであり、このマウス

が生体内酸化ストレスを原因とする老化や老人性疾患のモデル動物として有用であることを示唆した。

この SDHC 変異遺伝子組換えマウス (*mev-1* マウス) は成熟するまでは野生株と変わらず成長するが、不妊であった。この原因は、酸化ストレスにより、排卵にいたるまでの発生が正常におこなわれずに、卵子までの発生を正常に終了する卵母細胞が減少していることであると予測され、不妊における酸化ストレスの役割の解明に *mev-1* マウスが有用なモデルマウスになることを示している。しかし、本研究には数多くのマウス個体が必要なことから、不妊の問題を解決する必要に迫られた。その解決策として、ミトコンドリアからの活性酸素の発生量や発生時期をテトラサイクリンの転写活性/抑制による遺伝子発現の調節原理を利用した、生体外から任意に制御可能な条件付遺伝子組換えマウス (Tet-loxJTZ17 マウス)、およびこのシステムに *mev-1* 変異遺伝子を挿入した条件付変異遺伝子組換えマウス (Tet-*mev-1* マウス) の作製をおこなった。妊娠を確認後の母親マウスにドキシサイクリン (テトラサイクリンと同じ効果) 水を自由給水させて、その子孫を調べた。

このマウスは、生体内で活性酸素を産生するパラコートに感受性を示し、臓器・器官によって異なるものの、ミトコンドリアから活性酸素が過剰に産生され、酸化タンパク質の蓄積が認められた。このホモ (Tg/Tg) マウスは胎児期から離乳期にかけて成長の遅れが見られ、多くの組織・器官でアポトーシスが観察された。生後 12 週目に

は正常の大きさの身体に回復した。

生まれる子供の数が減少する。興味あることに、妊娠確認後にドキシサイクリンを摂取させた No. 37 マウスでは、初産では生まれてこないことが多く、その後、個体数は少ないものの出産回数が増加する現象が認められた。卵胞の成熟不全も観察され、卵胞外細胞ではアポトーシスも観察された。また、子宮卵管脛部に多数のアポトーシス、caspase 3 の活性が観察された。この結果、受胎数の減少は卵胞成熟の不安定化が、卵管の異常による着床不全が疑われた。

6 ヶ月齢のヘテロ (Tg/-) マウスにおいては形態病理学的な異常は観察されなかったが、加齢とともに早老的な変化が出現すると予想される。

E. 結論

現在では、医学・薬学の発展により、多くの疾患が治療又は予防され、現代社会は長寿社会となっている。こうした状況下において、加齢とともに発症率が増加する癌や心臓血管障害、脳血管障害の三大疾患が日本人の死亡原因の約 6 割を占める。これら疾患の原因となる肥満、糖尿病、高血圧、高脂血症などの生活習慣病や、アルツハイマー病、パーキンソン病などの神経変性疾患には生体内酸化ストレスが深く関与していることが知られている。この生体内酸化ストレスの大部分は、エネルギー代謝の副産物としてミトコンドリアから発生する活性酸素が原因である。活性酸素は、ミトコンドリアに存在し、細胞内のエネルギー生産を担っている電子伝達系から電子が漏出し、近傍の酸素と反応することにより発生している。

これら疾患の解明を目的とした研究には、自然な生体環境に近い状態での生体内酸化ストレスを負荷することが可能なモデル動物が必要不可欠である。しかしながら、現在の所、このようなモデル動物は存在せず、人為的に外部から酸化剤や細胞毒性を有する電子伝達系の阻害剤を投与するか、あるいは抗酸化系酵素を失活させるといった手法が主に使用されている。このようにミトコンドリアから発生する活性酸素の生体への直接の影響を証明する手段は存在せず、これら疾患発症の詳しいメカニズム解明は行われていなかった。

我々は、線虫やマウス培養細胞を用いた研究において、細胞内部から自然な生体環境に近い状態で生体内酸化ストレスを負荷する研究に成功している。これにより、ミトコンドリアから発生した活性酸素が老化や神経変性疾患の原因となる過剰なアポトーシスを誘導すること (Ishii N, Fujii M, Hartman PS, et al. A mutation in succinate dehydrogenase cytochrome *b* causes oxidative stress and aging in nematodes. *Nature* 1998;394:694-7./ Senoo-Matsuda N, Yasuda K, Tsuda M, et al. A defect in the cytochrome *b* large subunit in complex II causes both superoxide anion overproduction and abnormal energy metabolism in *Caenorhabditis elegans*. *J Biol Chem* 2001;276:41553-8./ Senoo-Matsuda N, Hartman PS, Akatsuka A, Yoshimura S, Ishii N. A complex II defect affects mitochondrial structure, leading to *ced-3* and *ced-4*-dependent apoptosis and aging. *J Biol Chem* 2003;278:22031-6.)、さらに、癌発症の要因となる形質転換を高頻度に引き起こすこと

を明らかにしている (Ishii T, Yasuda K, Akatsuka K, et al. A mutation in the SDHC gene of complex II increases oxidative stress, resulting in apoptosis and tumorigenesis. *Cancer Res.* 2005; 65: 203-209)。

哺乳動物由来の変異 SDHC 遺伝子が導入されたマウスは、活性酸素種スーパーオキシドアニオン (O_2^-) が過剰に産生しており、野生型動物と比較して、成熟期以降に体重の減少を示し、かつ視覚異常、筋肉異常、及び情動行動異常を示すことが確認された。これらの結果は、ミトコンドリア由来の活性酸素が、老化や各種疾患に関与していることを示すものである。これにより、このマウスが生体内酸化ストレスを原因とする老化や老人性疾患のモデル動物として、老化の基礎研究のみならず臨床研究にも応用され、老化および老人性疾患の発症機構の解明から治療や予防 (それによる医療費削減) まで幅広い分野で貢献することが期待される。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Yasuda K, Ishii T, Suda H, Akatsuka A, Hartman PS, Goto S, Miyazawa M, Ishii N
Age-related changes of mitochondrial structure and function in *Caenorhabditis elegans*
Mech. Ageing Develop., 127: 763-770, 2006

Ishii N, Ishii T, Hartman PS

The role of the electron transport gene SDHC on lifespan and cancer

Exp. Geront., 41: 952-956, 2006

石井恭正、石井直明

ミトコンドリアから生じる活性酸素が起因
となる老化と老年性疾患

生化学、78: 201-207, 2006

石井直明

総説：人はなぜ老いるのか 一 個体老化・
寿命のメカニズムー

日本消化器病学会誌、103 : 143-148, 2006

石井直明

ミトコンドリアと寿命

医学のあゆみ、217 : 748-751、2006

石井直明

長寿の遺伝子

肝胆脾、53:31-38, 2006

石井直明

フリーラジカルとアンチエイジング

あたらしい眼科、23 (10) : 1245-1250, 2006

2. 学会発表

安田佳代、Hartman PS, 須田斎、正山哲嗣、
赤塚明、石井恭正、石井直明

酸化ストレスと老化におけるミトコンドリア
融合の役割

日本基礎老化学会, 2006

石井恭正、宮沢正樹、小野寺章、安田佳代、
石井直明

ミトコンドリアから過剰な活性酸素を発生
するモデル動物(mev-1 マウス)の作製と解
析

日本基礎老化学会、2006

Yasuda K, Ishii N

Are-related changes of mitochondrial structure
and function in *C. elegans*

The 2nd East Asia *C. elegans* Meeting, 2006

Suda H, Shoyama T, Ozaki T, Ishii N, Yokota S
Fundamental principle of the lifespan in *C.*
elegans.

The 2nd East Asia *C. elegans* Meeting, 2006

Yasuda K, Onodera A, Ishii N

SOD-1 contributes to anti-aging by maintaining
the balance of localization of intracellular ROS
in *Caenorhabditis elegans*.

The 2nd East Asia *C. elegans* Meeting, 2006

[シンポジウム]

石井直明

シンポジウム「生体応答システムと老化・
寿命の分子メカニズム ー基礎老化から抗
老化研究へー」

ミトコンドリアからの酸化ストレスにより
生じる老化と老年性疾患

日本分子生物学会 2006 フォーラム、2006

Ishii T, Ishii N

Analysis of a model animal (*mev-1*) with
superoxide anion overproduction from
mitochondria

The 6th Korea-Japan Gerontologist Joint
Meeting, 2006

石井直明

ミトコンドリアから発生する活性酸素を起

因とする老化

The 10th Molecular Cardiovascular Conference,
2006

石井直明

シンポジウム「ダイナミックな疾患モデル」
ミトコンドリアから発生する活性酸素を起
因とする老年性疾患・生活習慣病モデル動
物

第52回日本病理学会特別総会, 2006

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

報告書 図

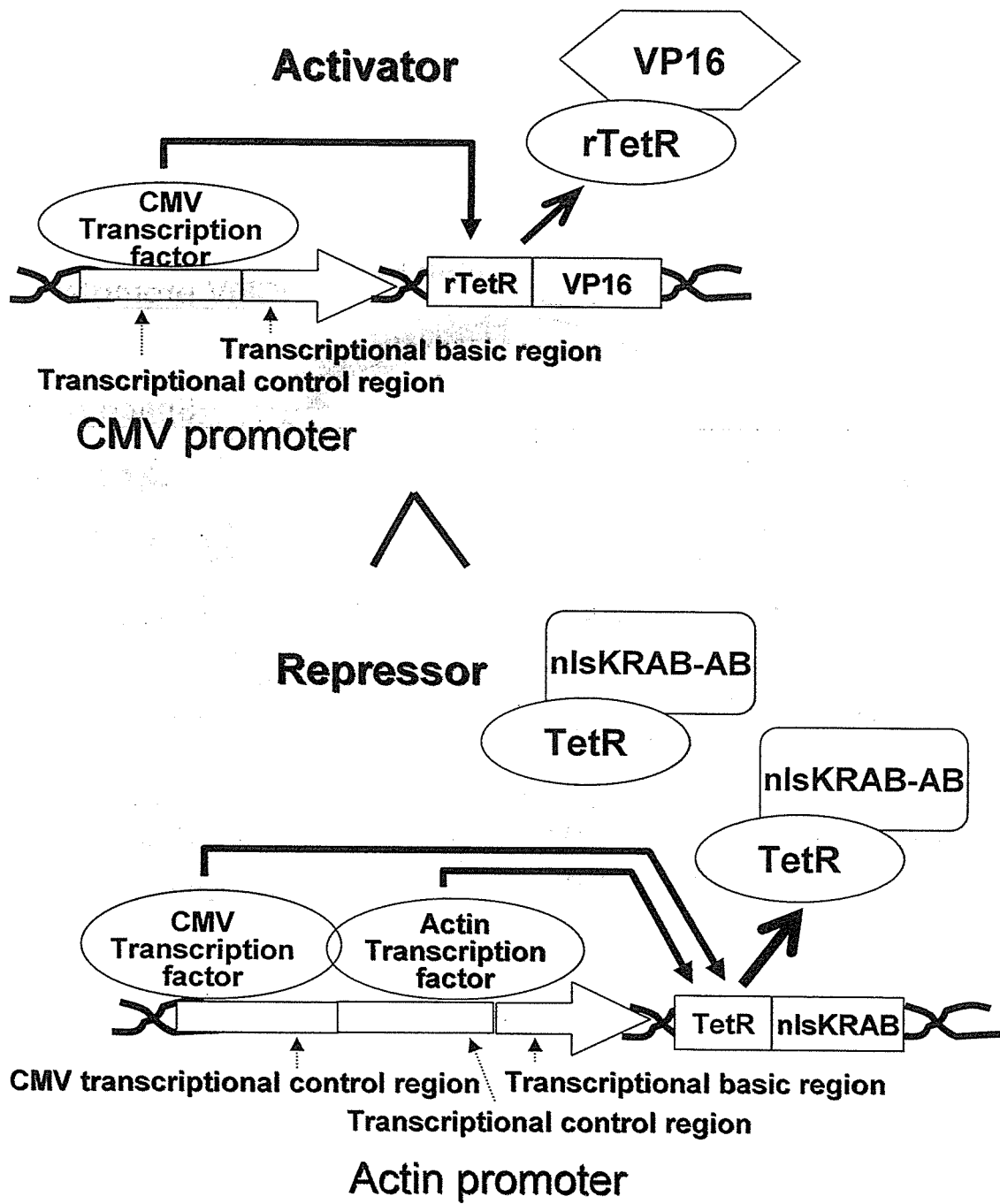


図1 Tet on/off システムの原理

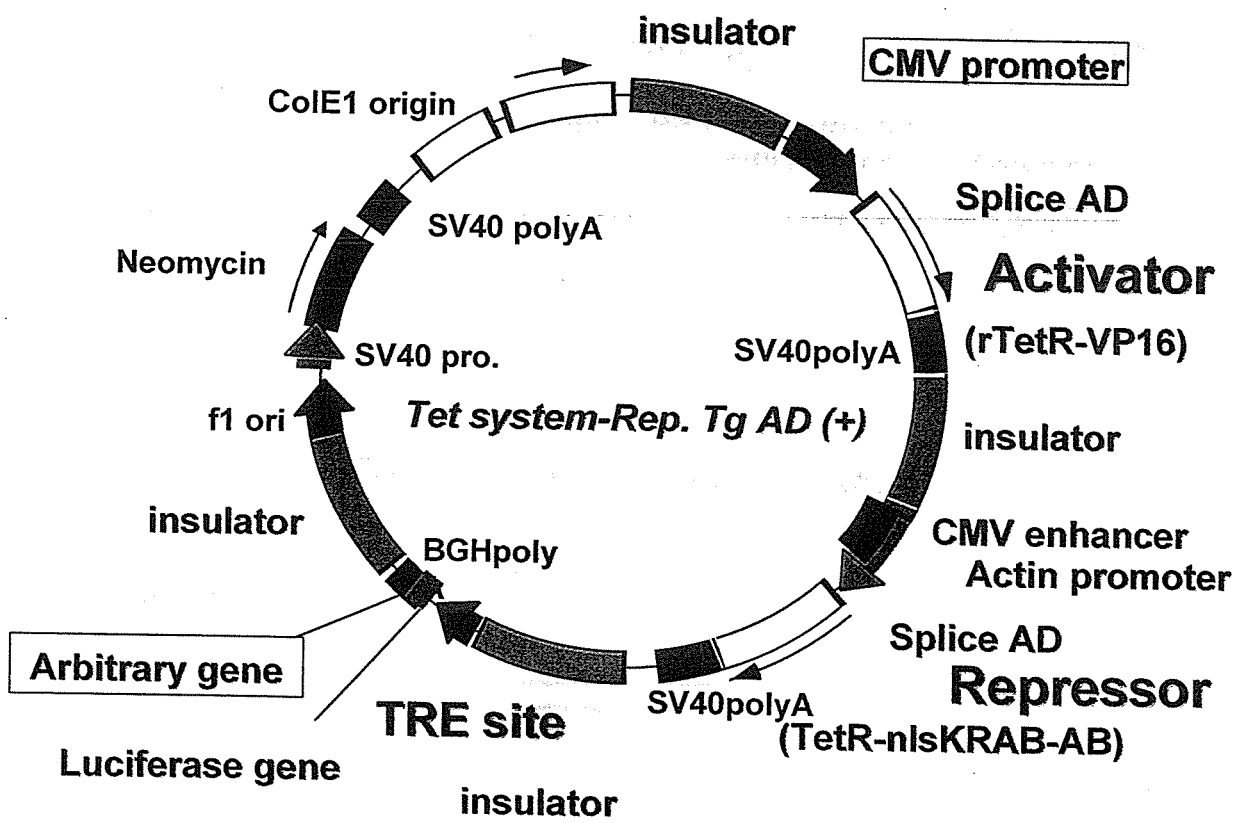


図2 条件付変異遺伝子組換えマウス作製用ベクター

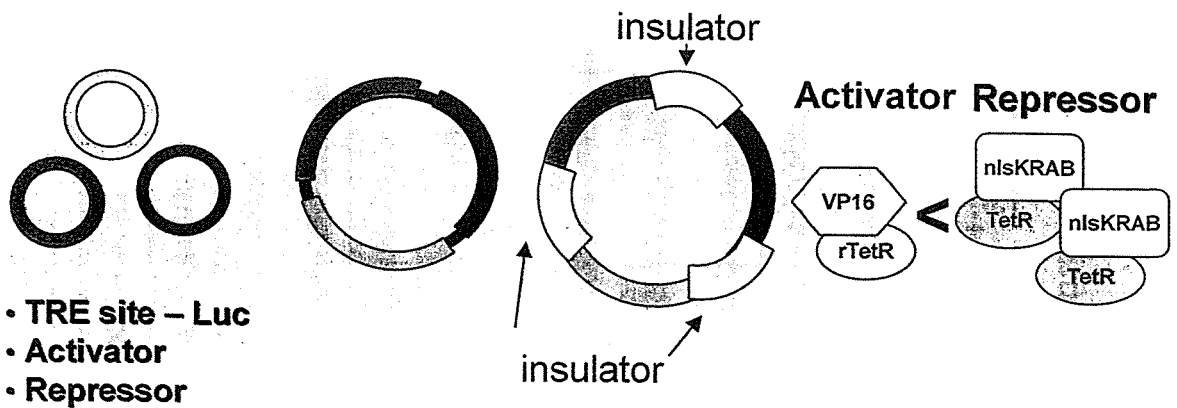
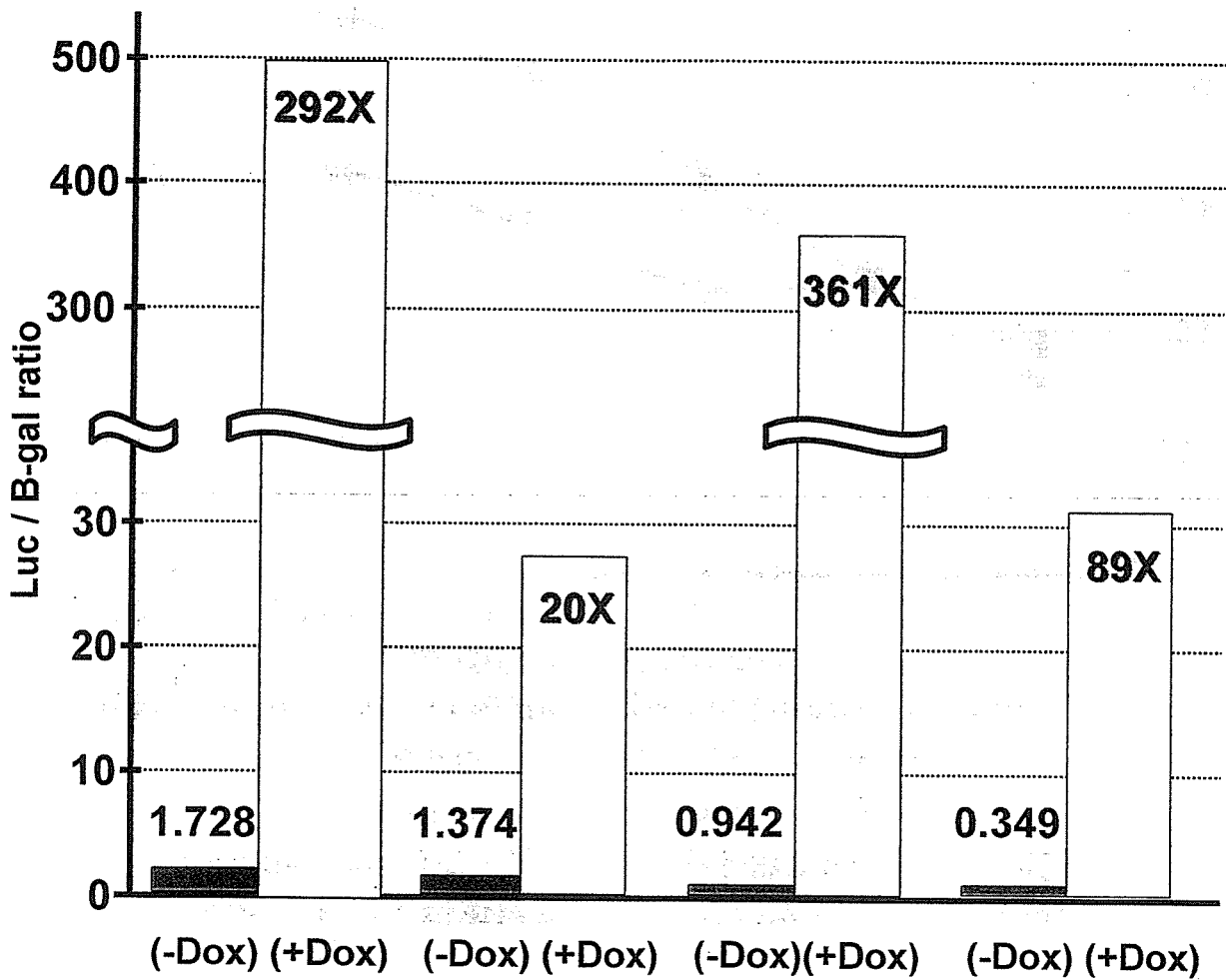


図3 In vitroにおけるテトラサイクリン(Doxyxyclyne) Tet-on/offシステムによるmev-1変異遺伝子の発現レベル

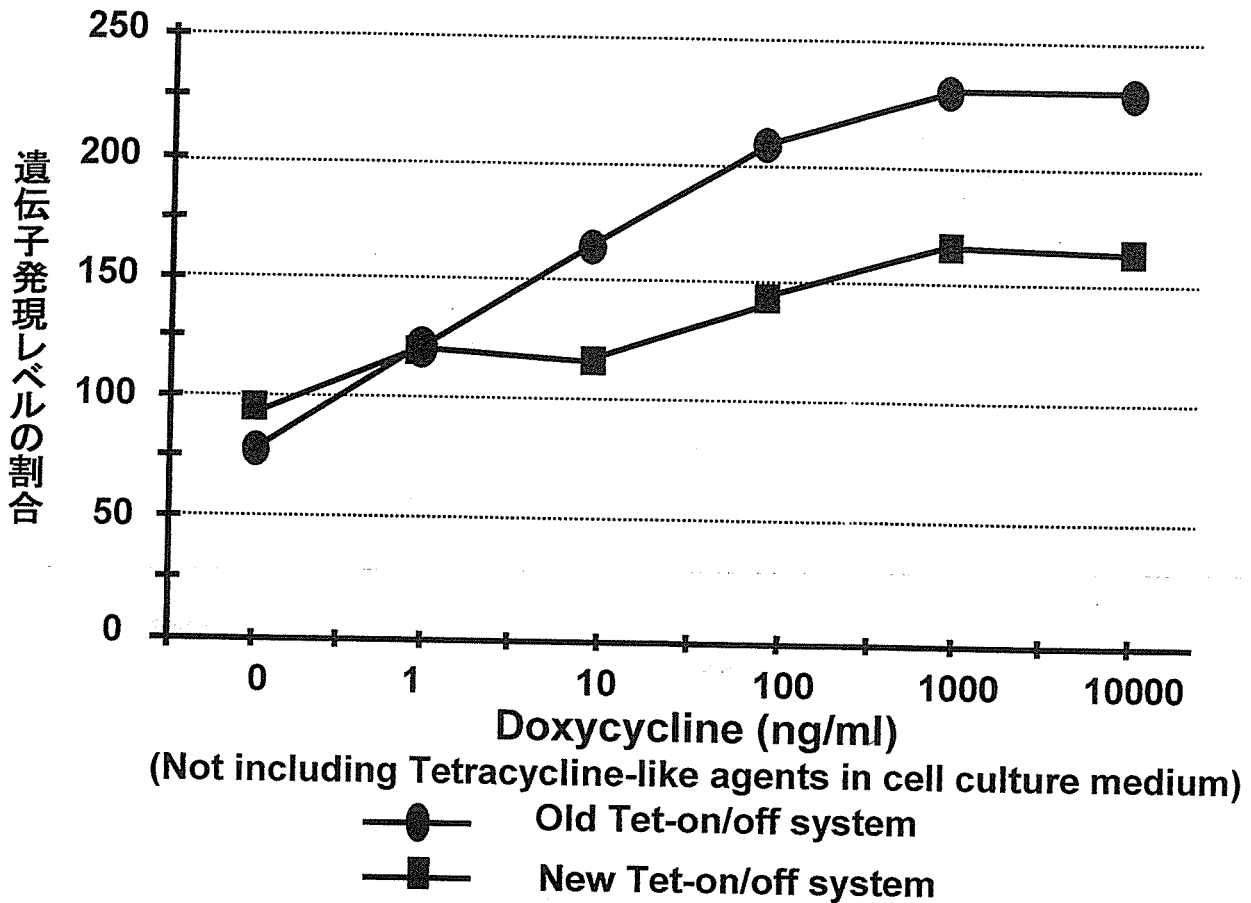


図4 In vitoroにおけるテトラサイクリン(Doxycycline) Tet-on/offシステムによるSDHC変異遺伝子の発現レベル

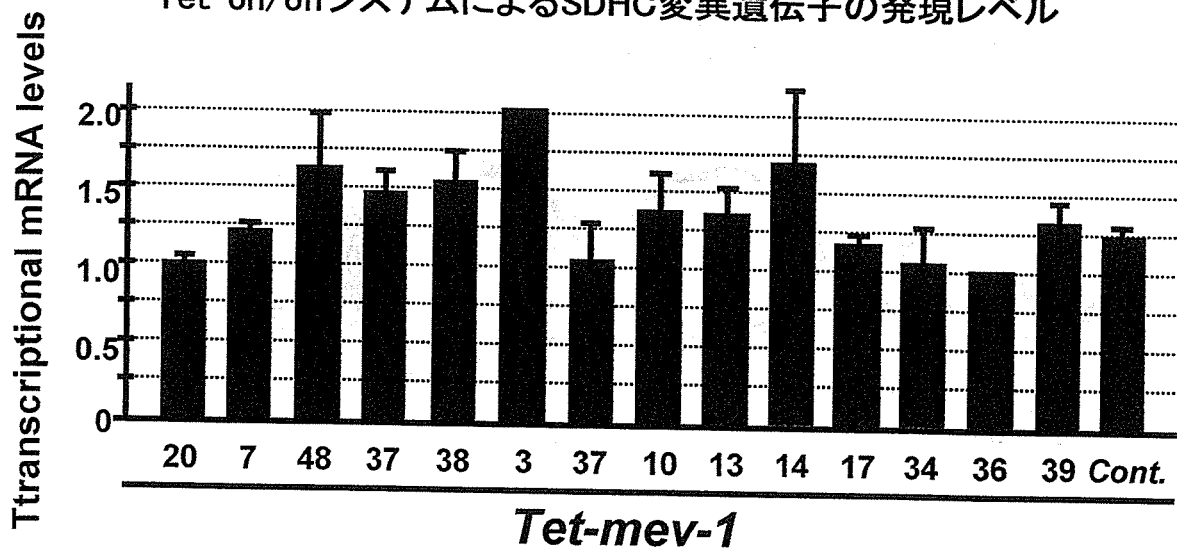
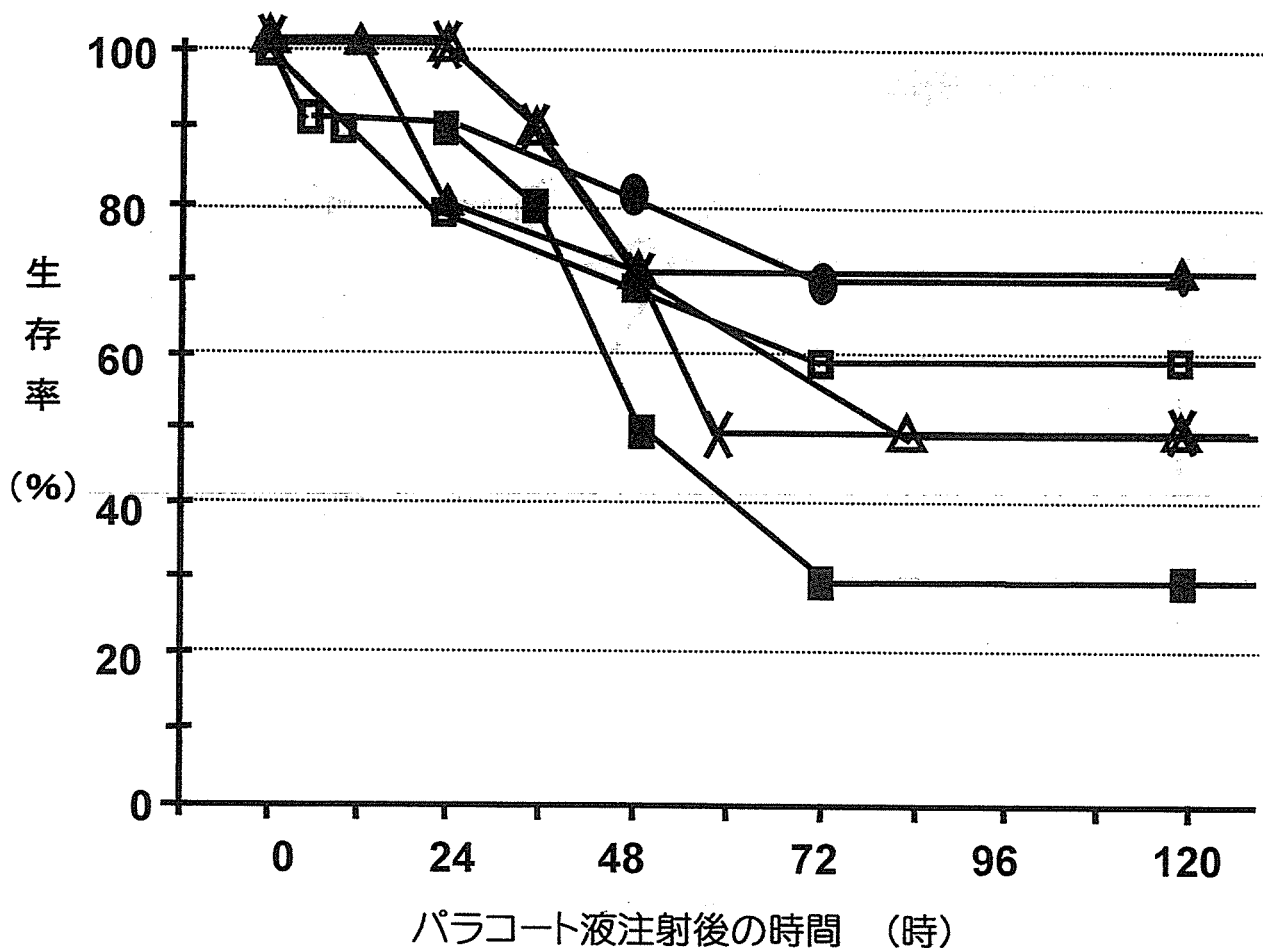


図5 14系列の*Tet-mev-1* *Tg*^{-/-} マウスにおけるDoxycycline による*mev-1*変異遺伝子の発現レベル



(75mg/kg Paraquat, 5mg/ml Doxycycline, n=10)

- ▲— *Tet-mev-1^{Tg/} - 48 (+Dox)*
- *Tet-mev-1^{Tg/} - 20 (+Dox)*
- *Tet-mev-1^{Tg/} - 10 (+Dox)*
- △— *Tet-mev-1^{Tg/} - 14 (+Dox)*
- ×— *Tet-mev-1^{Tg/} - 13 (+Dox)*
- *Tet-mev-1^{Tg/} - 37 (+Dox)*

図6 *Tet-mev-1^{Tg/}* - マウスラインのパラコート感受性

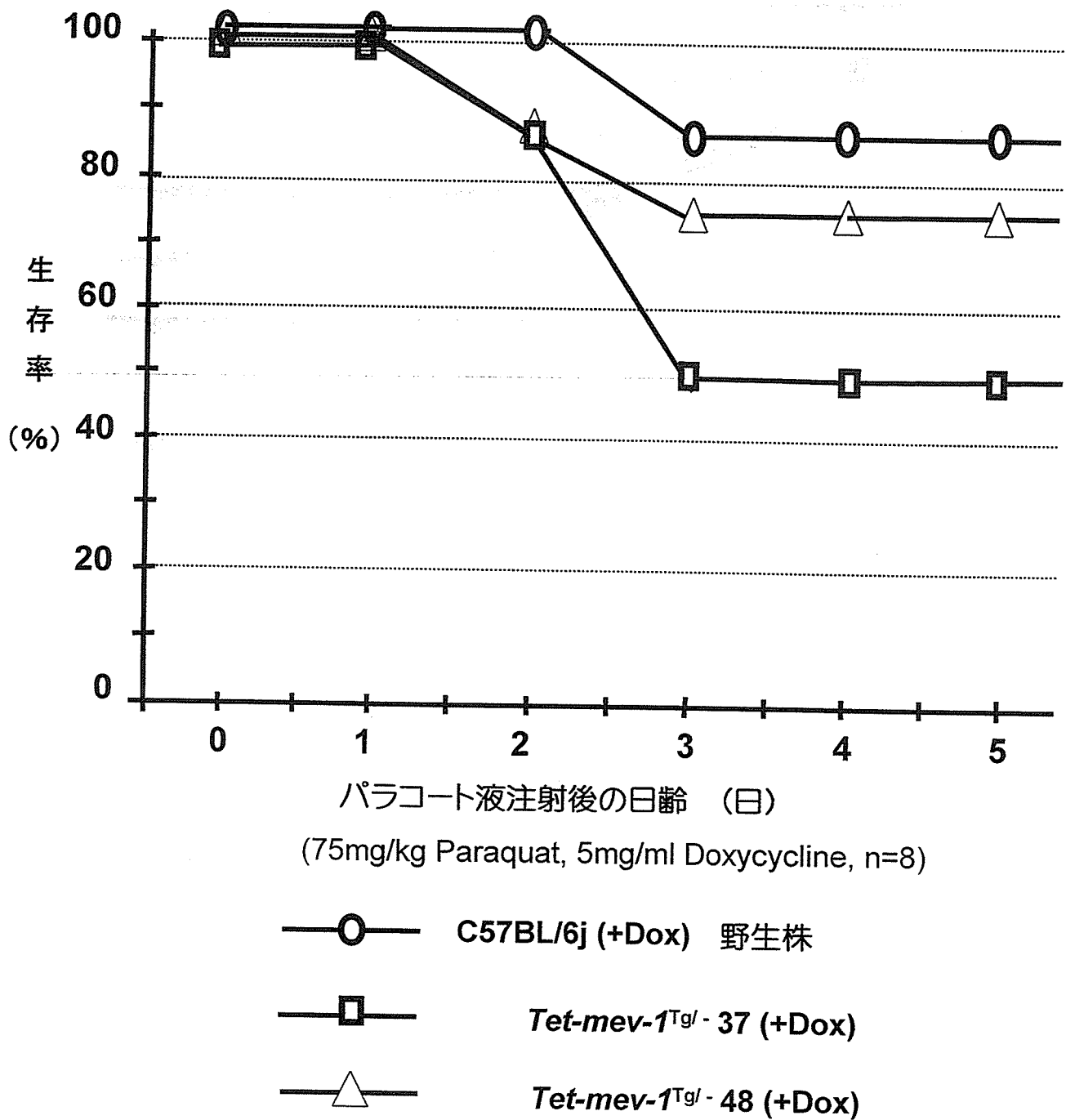
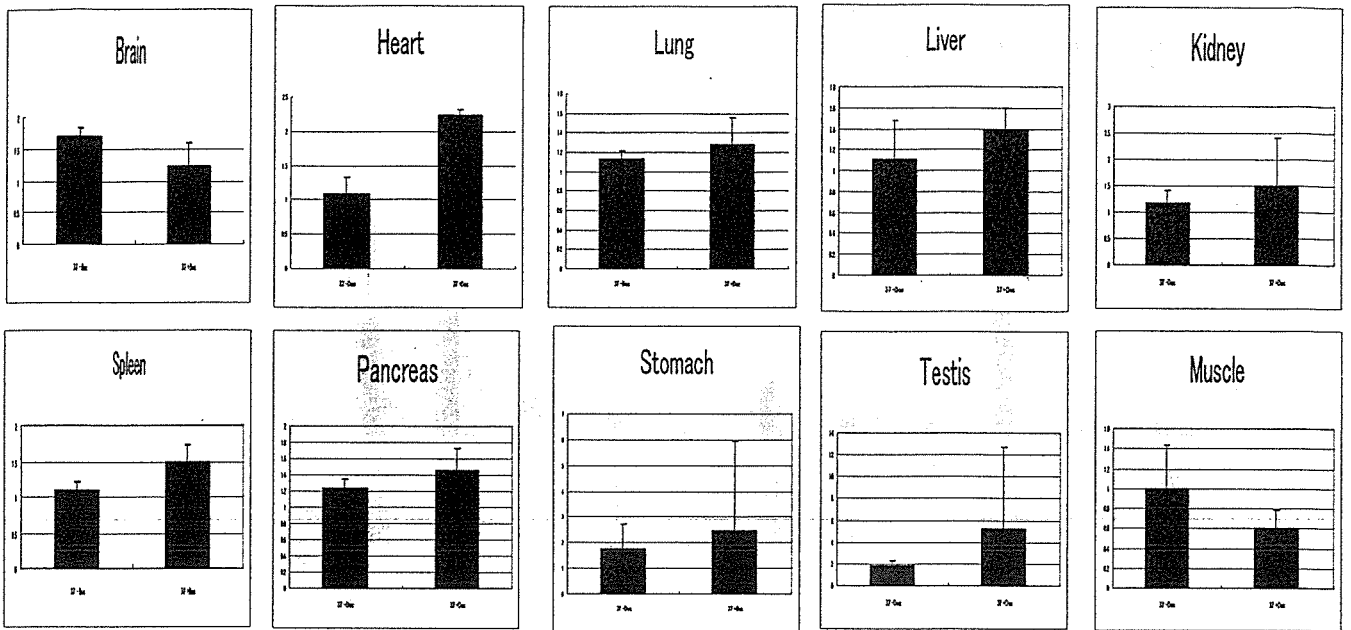


図7 *Tet-mev-1^{Tg/}* - マウスラインのパラコート感受性

Line 37



Line 48

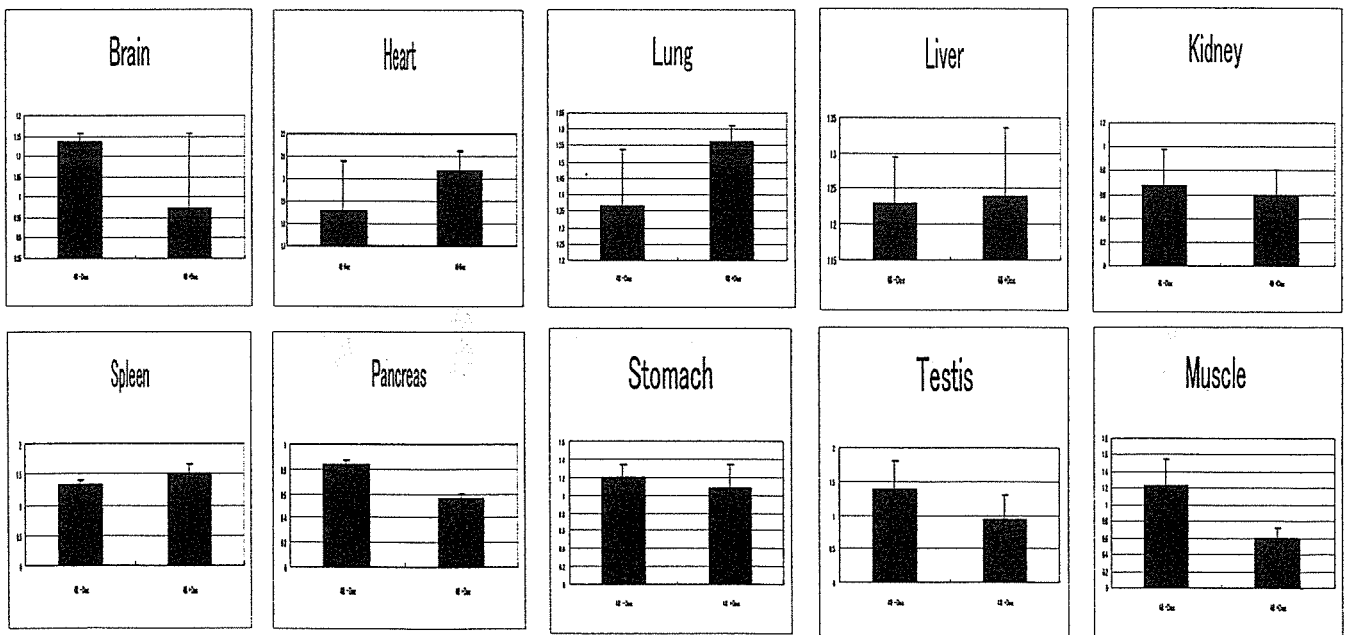
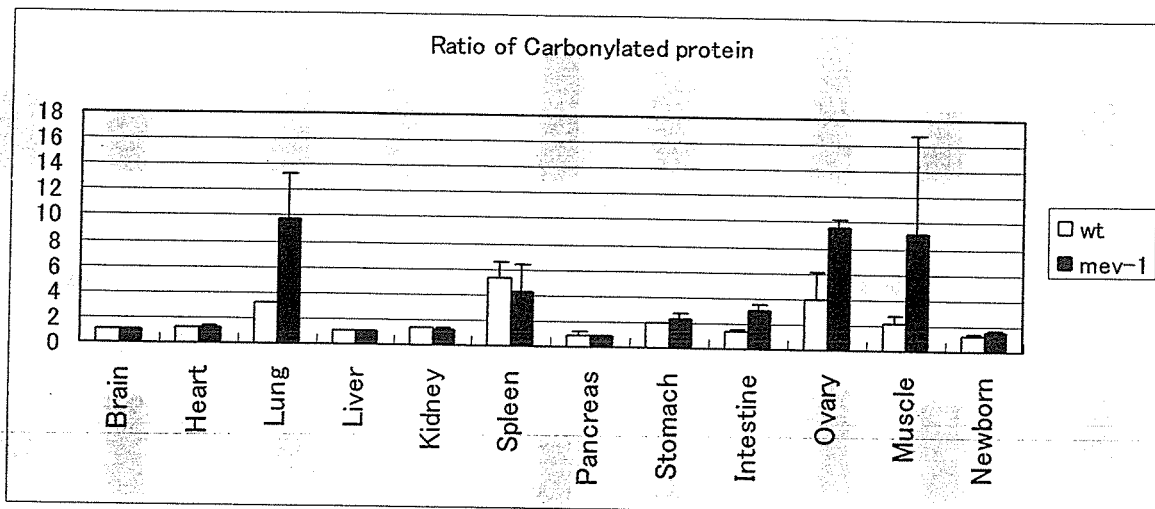


図8 Tet-*mev-1* Tg⁻ マウスにおける SDHCタンパク質のDxycycline発現誘導効果

No. 37 マウス (Tg/Tg)



No. 48 マウス (Tg/Tg)

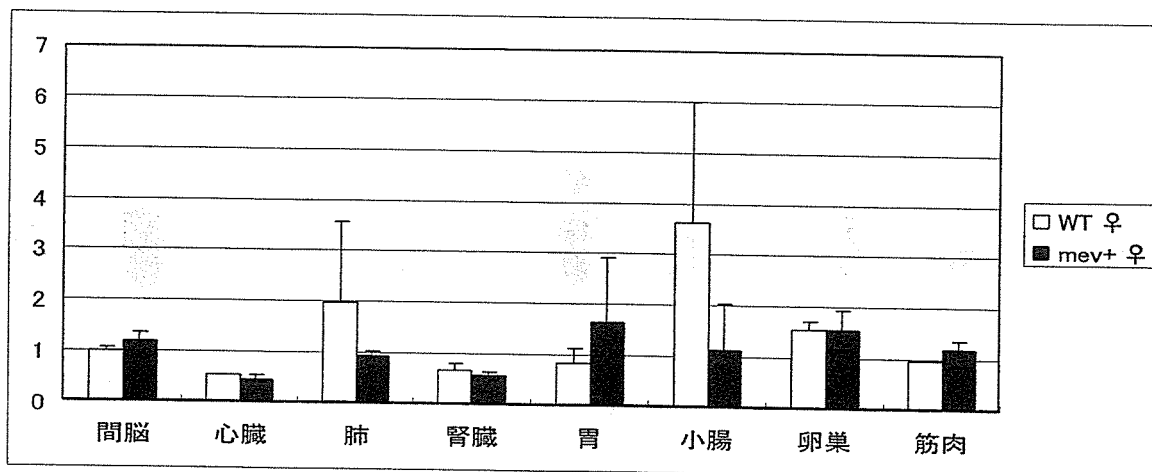


図9 Tet-*mev-1* Tg/ - マウスにおける
酸化タンパク質の蓄積
(生後2~3ヶ月、野生株の脳を1.0として換算)