

ミトコンドリア機能とヘッジホッグシグナルに関する研究

研究分担者 藤井 克則 千葉大学大学院医学研究院小児病態学 講師

研究要旨

ミトコンドリアがエネルギー産生をするためには、外部からの増殖刺激によりシグナル伝達が適切に行われる必要がある。ヘッジホッグシグナリングは高度に保存されたシグナル伝達経路であり、細胞エネルギーを用いて細胞を増殖に導く。ミトコンドリアによるエネルギー産生が潤滑に行われるためのヘッジホッグシグナルが正しく機能することが必要だが、その機序はまだ不明な点が多い。我々は線維芽細胞を用いた実験において、血清飢餓時にリガンドを添加することで最もシグナルが増強されることを見出した。これらは根本的治療のないミトコンドリア病における病態機序を明らかにするとともに治療開発を目指すものである。

A. 研究目的

ミトコンドリアは細胞内におけるエネルギー産生を司る細胞内小器官である。細胞が恒常性を保つためには、外部からの増殖シグナルに応じて適切にエネルギー産生が行われる必要がある。ヘッジホッグシグナリングは細胞増殖において重要なシグナル伝達経路であり、ミトコンドリアによるエネルギー供給を必要とする。本研究ではヒト線維芽細胞を用いてヘッジホッグシグナリングの伝達経路を検証し、ミトコンドリアエネルギー産生能にどのような影響を与えているかを明らかにすることとした。

B. 研究方法

正常ヒト線維芽細胞とヘッジホッグ経路の構成分子であるPTCH1に遺伝子変異をもつ線維芽細胞を用いて血清飢餓の有無およびligandであるヘッジホッグ刺激の有無で、下流のGLI1の発現量の変化をRT-PCRで定量化した。血清飢餓およびヘッジホッグ刺激によって生じるmRNA変化をパスウェイキットで解析し、ヘッジホッグシグナリングと相互作用をもつ分子群を同定した。ミトコンドリア電位変化をこれらヘッジホッグシグナリングに対する刺激で観察し、外的刺激によるエネルギー産生能の変化を解析した。

（倫理面への配慮）

一連の研究計画は千葉大学医学部生命倫理委員会の承認を得て実行した。正常コントロール線維芽細胞はATCCより購入し使用した。本研究では遺伝子導入は行わず、内因性分子の解析のみを行っている。

C. 研究結果

コントロールと比較してヘッジホッグ受容体であるPTCH1変異をもつ線維芽細胞ではその最下流であるGLI1ならびにSmo mRNAが亢進していた。このGli mRNAはヘッジホッグリガンド添加により増加し、加えて血清飢餓状態にすると相乗的に増加した。栄養飢餓状態の細胞において、アセチル化tubulin抗体により細胞表面上のprimary ciliaが確認されたが、これはコントロール線維芽細胞とPTCH1変異細胞で同様に観察され有意差は認めなかった。mRNAを用いたバ

スウェイ解析ではPTCH1変異細胞において有意にGli, FGF4, Zic1, Zic2の発現亢進が認められた。これらは小脳および骨でシグナル亢進に参与していると考えられた。

D. 考察

細胞におけるエネルギー産生が適切に行われるためには、細胞自体の増殖シグナルが正しく核に伝達される必要がある。ヘッジホッグシグナルはそのために必須な経路であり、細胞が血清飢餓状態になり、さらにリガンドが加わった時に相乗的に増大することが示された。これらはエネルギー産生には複数の条件が必要であることを示唆しており、今後ミトコンドリア形態異常を検査することでその意義を確かめてゆきたい。

E. 結論

ヒト細胞におけるミトコンドリアエネルギー産生には細胞増殖シグナルが正しく核に伝達される必要がありヘッジホッグシグナルはその中核に存在する。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

Mizuochi H, Fujii K et al. Hedgehog signaling is enhanced by nutritional deprivation in human fibroblasts of Gorlin syndrome. Hedgehog Meeting (2015.8.5-7, Ann Arbor, US A)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし