

糖尿病の危険因子としてのミトコンドリア遺伝子ヘテロプラズミー変異

●太田成男 ◆麻生定光 ◆金森 崇 ◆大澤郁朗

日本医科大学大学院医学研究科

〈研究の目的と進め方〉

ミトコンドリアDNA(mtDNA)のtRNA遺伝子点変異によって母系遺伝と難聴を伴う糖尿病が発症する。また、糖尿病全体の1%におよぶ患者はこのミトコンドリアDNAの変異をもつことがすでに報告されている。この場合、正常mtDNAと変異mtDNAが混在しており変異mtDNAの比率は少ないことが多い。糖尿病患者と健常人において、ヘテロプラズミー変異の比率の相関関係を定量的に血液細胞を用いて検討するのが本研究の目的である。さらに、mtDNAのヘテロプラズミー体細胞変異が蓄積する機構を検討する。

〈研究開始時の研究計画〉

①変異ミトコンドリアtRNAの役割；ミトコンドリアDNA(mtDNA)に変異が生じた場合、正常mtDNAとの様々な比率で存在する。変異mtDNAのtRNA遺伝子変異が少量の場合に意義づけを明らかにする。そのために、変異tRNAをミトコンドリア脳筋症患者由来のmtDNAをもつ培養細胞から精製し、in vitroで変異tRNAの役割を詳細に検討する。②糖尿病患者におけるmtDNA体細胞変異の蓄積；糖尿病患者の状態、合併症、治療法などを区別して、mtDNA体細胞変異の蓄積を申請者らが開発した方法によって測定する。③核遺伝子との対応；ALDH2などの核遺伝子の遺伝子多型を調べ、mtDNAの体細胞ヘテロプラズミー変異の蓄積程度と対応させる。④ヘテロプラズミー変異の変動；培養細胞に酸化ストレスを与えながら長期に培養し、ヘテロプラズミー変異が増加するかどうかを検討する。これによって、mtDNA体細胞変異の原因と予防策を講じることを可能とする

〈研究期間の成果〉

(1) 糖尿病の原因のミトコンドリアtRNAの点変異によって、アンチコドンの塩基修飾が変化して、mRNAへの親和力が低下し、蛋白合成が正常におこなわれなくなることを明らかにした。この結果は、わずかな量の変異mtDNAでも不完全に蛋白を合成することによって細胞に影響を及ぼす可能性を示した。
(2) mtDNAのヘテロプラズミー変異の検出法を確立した。この方法の確立によって、ヘテロプラズミー変異を定量的に検討することが可能になった。
糖尿病患者の血液細胞において、体細胞変異が健常人よりも4倍多いことを明らかにした。さらに、多変量解析により、糖尿病の罹患期間に依存してmtDNAの塩基番号3243変異が増加することを明らかにした。

〈国内外での成果の位置づけ〉

ミトコンドリアtRNA遺伝子変異によって生じるミトコンドリア機能低下の分子機構は多くの研究室で研究されているが、当研究室がはじめて分子機構を明らかにした。MtDNAのヘテロプラズミー変異と糖尿病の関連については多数の報告があるが、微量なヘテロプラズミー変異の定量についての研究はなく、定量的解析は棟研究がリ

ドしている。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

目標は計画どおり達成できた。

〈今後の課題〉

特定の変異ミトコンドリアDNAに注目してきたが、全ミトコンドリア配列と糖尿病の関連を明かにする必要がある。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1. Suzuki, Y., Atsumi, Y., Matsuoka, K., Nishimaki, K., Ohta, S., Taniyama, M., Muramatsu, T. Mitochondrial tRNA(Leu(UUR)) mutation at position 3243 detected in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 67:92-94. (2005)
2. Suzuki, Y., Taniyama, M., Muramatsu, T., Higuchi, S., Ohta, S., Atsumi, Y., Matsuoka, K. (2004) ALDH2/ADH2 polymorphism associated with vasculopathy and neuropathy in type 2 Diabetes. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 28 :111S-116S.
3. Nomiyama, T., Tanaka, Y., Piao, L., Hattori, M., Uchino, H., Watada, H., Kawamori, R., Ohta, S.(2004) Accumulation of Somatic Mutation in Mitochondrial DNA and Atherosclerosis in Diabetic Patients. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1011:193-204.
4. Suzuki, Y., Nishimaki, K., Taniyama, M., Muramatsu, T., Atsumi, Y., Matsuoka, K., Ohta, S.(2004) Lipoma and ophthalmoplegia in mitochondrial diabetes associated with small heteroplasmy level of 3243 tRNA(Leu(UUR)) mutation. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 63:225-229.
5. Suzuki, Y., Taniyama, M., Muramatsu, T., Ohta, S., Murata, C., Atsumi, Y., Matsuoka, K. (2003) Mitochondrial tRNA(Leu(UUR)) mutation at position 3243 and symptomatic polyneuropathy in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 26:1315-1316.
6. Suzuki, Y., Kuriyama, S., Atsumi, Y., Murata, C., Matsuoka, K., Taniyama, M., Muramatsu, T., Ohta, S.(2003) Maternal inheritance of diabetes is associated with inactive ALDH2 genotype in diabetics with renal failure in Japanese. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 60:143-145.
7. Suzuki, Y., Taniyama, M., Muramatsu, T., Ohta, S., Atsumi, Y., Matsuoka, K. (2003) Diabetic Vasculopathy and Alcohol Tolerance Trait in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 26: 246-247.
8. Suzuki, Y., Taniyama, M., Muramatsu, T., Ohta, S., Atsumi, Y., Matsuoka, K. (2003) Influence of Alcohol Intake and Aldehyde Dehydrogenase 2 Phenotype on Peripheral Neuropathy of Diabetes. *Diabetes Care* 26: 249.

9. Nomiya,T., Tanaka,Y., Hattori,N., Nishimaki,K., Nagasaka,K.,Kawamori, R. and Ohta,S. (2002)Accumulates a Somatic Mutation in Mitochondrial DNA extracted from peripheral blood cells in diabetic patients. *Diabetologia*. 45:1577-1583.
10. Yasukawa, T., Suzuki, T.,Ishi,N.,Ohta,S.,Watanabe,K.L2001) Wobble modification defect in tRNA disturbs codon-anticodon interaction in a mitochondrial disease. *EMBO J*. 20:4794-4802.