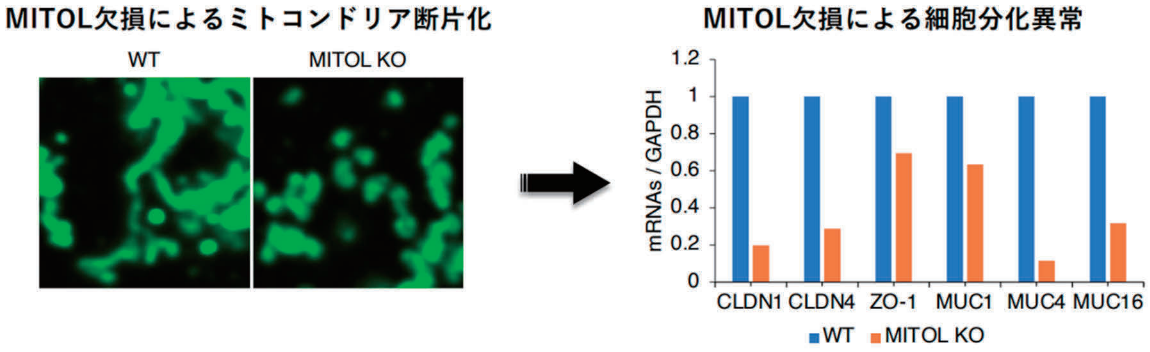
133　発生におけるミトコンドリア膜局在リガーゼの機能解明

長島　駿

【目的】ミトコンドリアは細胞内のエネルギー産生、脂質産生、細胞死の制御などシグナル伝達の場としても機能するオルガネラである。ミトコンドリアは臓器や細胞によって形態が異なり、その役割も異なっている。ミトコンドリア形態はミトコンドリアの機能と密接な関係があり、ミトコンドリア形態制御機構の破綻はミトコンドリア機能だけでなく、細胞分化に影響を与えることが知られている。正常なミトコンドリアの働きが個体発生に重要であることは明らかであるが、その詳細な分子メカニズムは未解明な部分が多い。MITOL はミトコンドリア外膜に 4 回膜貫通型のユビキチンリガーゼであり、ミトコンドリアの形態制御、ミトコンドリアと小胞体の接着機構の制御、細胞死の制御などさまざまな役割を担うことが明らかとされている。*MITOL* を全身で欠損させたマウスが胎生致死であることが報告されているが、発生や細胞の分化における MITOL の役割は未解明な部分が多く残されている。本研究では、発生における MITOL の役割の解明を目指し研究を行った。

【方法】*MITOL* knockout（KO）16HBE14o-細胞を作製した。16HBE14o-細胞を気管支細胞様の細胞へ分化誘導を行い、経上皮電気抵抗（Transepithelial Electric Resistance：TER）の測定、定量的 RT-PCR を行い、細胞の分化状態を比較した。

【結果】ヒト気管支上皮細胞由来の 16HBE14o-細胞は、タイトジャンクションの形成などの正常な気管支細胞への分化能を保持した細胞である。*MTIOL* の欠損が 16HBE14o-細胞の分化能に与える影響を確認するために、細胞をトランスウェル上に播種し、細胞の分化誘導を行った。16HBE14o-細胞は分化誘導が進むとタイトジャンクションを形成し、管腔側と基底膜側との間でイオンの透過が制限されるため TER が生じる。野生型の 16HBE14o-細胞と比較して *MITOL* 欠損細胞では TER の減少、タイトジャンクションに関わる CLDN1、CLDN4、Occludin、ZO-1 の mRNA 量の減少が認められた。気管支上皮細胞は粘液を分泌し、粘液は気管支に入ってきた異物を補足し、異物の排除を助けている。*MITOL* 欠損細胞では MUC1、MUC4、MUC16 の mRNA 量の減少が認められた。*MITOL* の欠損はタイトジャンクションの形成や粘液分泌の低下が認められたことから、気管支上皮細胞への分化に異常を引き起こすことが示唆された。*MITOL* を欠損した 16HBE14o-細胞のミトコンドリアの形態を観察すると、小さな分裂状態のミトコンドリアを持つ細胞の増加が認められた。*MITOL* 欠損細胞ではミトコンドリア外膜上の Drp1 受容体である Mid49 の蓄積が認められたことから、Drp1 がミトコンドリアにリクルートされることによりミトコンドリアの分裂を亢進させることが示唆された。今後、Mid49 蓄積によるミトコンドリアの分裂と気管支上皮細胞の分化の関連を解明、およびヒト人口疑似胚であるガストロイドを用いて、発生における MITOL の役割を解明したい。

MITOL 欠損はミトコンドリア形態異常と細胞分化異常を引き起こす