

The role of cytidine deaminase APOBEC2 expression in myogenic regeneration and mitophagy

大坪, 秀明

<https://hdl.handle.net/2324/1931959>

出版情報：九州大学, 2017, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名	大坪 秀明				
論文名	The role of cytidine deaminase APOBEC2 expression in myogenic regeneration and mitophagy (筋再生とマイトファジーにおけるシチジン脱アミノ化酵素 APOBEC2 発現の役割)				
論文調査委員	主査	九州大学	職名	准教授	氏名 辰巳隆一
	副査	九州大学	職名	教授	氏名 古瀬充宏
	副査	九州大学	職名	教授	氏名 中尾実樹
	副査	九州大学	職名	准教授	氏名 中村真子

論文審査の結果の要旨

良質な動物性タンパク質の供給源である食肉を安定供給する方策として、家畜・家禽一頭あたりでの筋肉量の増大および培養筋細胞を用いた人工食肉の開発が挙げられる。これらを実現するためには、筋細胞(筋線維)の細胞膜と基底膜の間隙に存在する筋幹細胞(衛星細胞)の活性化・増殖・分化・融合を制御している因子の同定と機能の解明が重要である。これまでの研究により、分化初期の衛星細胞ではシチジン脱アミノ化酵素 AID/APOBEC ファミリーの一つである APOBEC2 の発現が大きく上昇し、APOBEC2 をノックアウトすると筋疾患様の表現型を示すことを明らかにしたことから、APOBEC2 は正常な筋形成(筋肥大・再生)に寄与すると予想される。本研究では、この作業仮説を検証することを目的として APOBEC2 欠損マウスを用いた *in vitro*・*in vivo* 実験を行い、衛星細胞の分化および自己複製(セルフリニューアル)に与える影響、およびミトコンドリアの機能およびマイトファジー(エネルギー代謝系のリモデリングに関与するミトコンドリア特異的オートファジー)に与える影響を明らかにした。

まず、APOBEC2 欠損が衛星細胞の分化・自己複製に与える影響を調べた。APOBEC2 欠損により衛星細胞の分化・融合が促進され、幼若な筋線維である筋管の形成が促進されることを見出した。RNAi 法により野生型マウス衛星細胞の APOBEC2 発現を分化誘導時に抑制した場合にも同様の結果が観察されたことから、上記の表現型は分化期での APOBEC2 の機能を反映することが明らかになった。続いて、cardiotoxin 注入による *in vivo* 筋損傷モデルを用いて、野生型および APOBEC2 欠損マウスの筋再生能を比較した。APOBEC2 欠損マウスでは、筋細胞分化マーカーである myogenin の発現が増加すると共に、中心核を特徴とする再生筋線維がより早期に形成されることを観察した。APOBEC2 欠損型マウスの筋線維径は野生型マウスに比べて小さいなどの筋疾患様の表現型を示したことから、APOBEC2 は筋分化を抑制的に制御することにより正常な筋線維形成に寄与していると考えた。このことをさらに追究するため、APOBEC2 欠損が衛星細胞の自己複製能に及ぼす影響を調べた。APOBEC2 欠損マウスから単離した筋線維を培養すると分化期の衛星細胞(Pax7 陰性/MyoD 陽性細胞)の割合が増加する一方、自己複製した衛星細胞(Pax7 陽性/MyoD 陰性細胞)の割合が減少した。この実験結果は、APOBEC2 欠損マウスの筋組織において Pax7 陽性の衛星細胞数が野生型と比べ少ないことと符合した。従って、APOBEC2 欠損により衛星細胞の自己複製が抑制されることが明らかとなり、APOBEC2 は筋細胞分化(増殖した衛星細胞が分化・融合し筋線維となる)と自己複製(休止化して筋幹細胞のプールになる)のバランスを保つことで正常な筋形成に寄与していると結論した。

次に、APOBEC2 欠損がマイトファジー機能に与える影響を調べた。透過型電子顕微鏡による筋組織観察から、APOBEC2 欠損マウスには異常な構造のミトコンドリアが多数存在することを見出した。また、ミトコンドリア生合成に関わる PGC1 α と PPAR δ の発現が減少しており、クエン酸や *cis* アコニット酸などの TCA 回路代謝物にも異常が見られたことから、APOBEC2 欠損筋のミトコンドリアは機能的にも異常をきたしていることがわかった。また、オートファゴソーム形成の指標である LC3 の異常な蓄積も観察され、この蓄積はミトコンドリアマーカーである Tom20 と共局在していた。さらに、マイトファジー関連遺伝子の発現が APOBEC2 欠損により増加していた。以上のことから、APOBEC2 欠損によりミトコンドリアの機能不全が生じると共にマイトファジーが異常亢進することが明らかとなり、APOBEC2 は筋細胞分化に密接に関与するマイトファジーを調節し、以て、正常な筋形成に寄与していると結論した。

以上、本論文から得られた知見は極めて新規性に富み、筋肉・食肉科学の発展に寄与する価値ある業績と認める。よって、本論文は博士(農学)の学位に値すると認める。