

炎症性関節炎におけるミトコンドリアの調節と微細藻類 *Mucidosphaerium* sp. RG92 抽出物の抑制効果

宮田光義^{1) #}, 御筆千絵^{1) #}, 加世田国与士^{1) *}

(平成 30 年 7 月 17 日受付, 平成 30 年 11 月 5 日受理)

Mitochondrial Regulation and Inhibitory Effect of the Extract of a Microalga *Mucidosphaerium* sp. RG92 on the Pathogenic Process in Inflammatory Arthritis

Mitsuyoshi MIYATA^{1) #}, Chie K. MIFUDE^{1) #} and Kuniyoshi KASEDA^{1) *}

Abstract

The excess generation of reactive oxygen species (ROS) triggers and accelerates the pathogenesis of arthritis such as rheumatoid arthritis (RA) and osteoarthritis (OA). The oxidative ROS is induced by inflammatory cytokines via mitochondria in synovium and articular cartilages. We found that interleukin-1 β (IL-1 β), one of the critical mediators of arthritis, impaired the balance of mitochondrial configuration in human fibroblast-like synoviocytes (FLSs): the stimulus factor reduced the cellular population with filamentous mitochondria and increased that with rounded mitochondria. In addition, the cellular level of adenosine triphosphate (ATP) was reduced but instead the ROS level was increased in the IL-1 β -stimulated FLSs. Significant relationship was observed between the mitochondrial morphology and the functions.

The effects of the cytokine on the mitochondrial morphology and functions were cancelled by the extract of a novel strain of *Mucidosphaerium* sp. RG92 (RG92 strain) that was isolated from a hot spring in Beppu, Oita, Japan. The current findings of the mitochondrial roles in the process of arthritis along with the preventative function of the RG92 strain extract shall provide new methodology for the treatment of inflammatory arthritis.

Key words : *Mucidosphaerium* sp. RG92, mitochondria, reactive oxygen species, ATP, arthritis, IL-1 β

¹⁾ 株式会社サラヴィオ化粧品 サラヴィオ中央研究所 〒874-0842 大分県別府市大字鶴見 1356-6. ¹⁾ Saravio Central Institute, Saravio Cosmetics Ltd., 1356-6 Oaza Tsurumi, Beppu, Oita, 874-0842, Japan. *Corresponding author : E-mail kaseda@saravio.jp, TEL : 0977-75-8575, FAX : 0977-75-8112. # These authors contributed equally to this work.

要 旨

活性酸素種 (ROS) の過剰生成は、関節リウマチ (RA) および変形性関節症 (OA) などの関節炎の発症や進行に関与している。これらの疾患において、ROS は炎症因子の刺激により滑膜および軟骨細胞のミトコンドリアから副次的に放出される。私たちは、関節炎における主要な炎症メディエーターであるインターロイキン 1 β (IL-1 β) が、ヒト滑膜線維芽細胞 (FLS) のミトコンドリアの形態変化や機能に与える影響を調べた。その結果、IL-1 β 刺激により線維型のミトコンドリアが支配する滑膜細胞の割合が減少し、丸型のミトコンドリアが支配する滑膜細胞の割合が増加することが判明した。さらに、IL-1 β 処理をした FLS において細胞内のアデノシン三リン酸 (ATP) 量は減少したが、それに伴い ROS 発生量は増加していた。つまり、FLS の炎症刺激時において、ミトコンドリアの形態と機能の間には密接な関係が認められた。これらのミトコンドリアに対する IL-1 β の影響は、別府温泉で発見した新種微細藻類 *Mucidosphaerium* sp. RG92 (以下 RG92 株とする) の抽出物によって抑制された。関節炎の進行過程におけるミトコンドリアの形態と機能の変調に関する新しい知見と RG92 株抽出物による抑制効果は、炎症性関節炎の新しい治療方法の発展につながるものと期待する。

キーワード: *Mucidosphaerium* sp. RG92, ミトコンドリア, 活性酸素種, ATP, 関節炎, IL-1 β

1. はじめに

慢性疾患は遺伝的要因や環境的要因などの様々な影響を受ける。関節軟骨および骨の破壊が観察される関節リウマチ (RA) の初期段階では、インターロイキン 1 β (IL-1 β) および腫瘍壊死因子 α (TNF- α) などの炎症性サイトカインの量が上昇する (McInnes and Schett, 2011 ; Kapoor *et al.*, 2011 ; Brennan *et al.*, 1998)。変形性関節症 (OA) における炎症性サイトカインのレベルは RA のそれよりも低いと言われているが、OA でも炎症が引き起こす疼痛は患者の主要な苦痛である (Liu-Bryan and Terkeltaub, 2015 ; Mathiessen and Conaghan, 2017)。軟骨および滑膜などの関節組織の恒常性のバランスは、サイトカイン等の細胞内刺激や機械的ストレスを含む細胞外刺激によって変調され (Lotz and Caramés, 2011 ; Miyaki and Asahara, 2012)、そのバランスが崩れることにより、滑膜線維芽細胞 (FLS) の過剰増殖でパンスが形成され、軟骨細胞のアポトーシスが誘導されて軟骨破壊が起こる。さらに、タンパク質分解酵素の増加により、コラーゲンやプロテオグリカンなどの細胞外マトリックスが分解され、骨の破壊が加速される (Bartok and Firestein, 2010)。

ミトコンドリアは、細胞内エネルギーであるアデノシン三リン酸 (ATP) を供給するだけでなく、カルシウム勾配を緩衝したり、プログラム細胞死を制御したりする真核細胞に不可欠な細胞小器官である (Picard *et al.*, 2013)。活性酸素種 (ROS) は、主にミトコンドリアにおける酸化的リン酸化の過程で生成されることが知られている。ROS の過剰生成は、慢性疾患の発症におけるセカンドメッセンジャーとして炎症応答を増強するとともに、脂質、タンパク質および核酸などの生体高分子を酸化することで細胞の機能を損なう。細胞の状態や環境ストレスに応答して、ミトコンドリアは分裂タンパク質や融合タンパク質の調節により形態を変化させる。また、ミトコンドリアの機能不全は、様々な炎症性、自己免疫性および加齢性疾患と密接な関係にあることが報告されている (Lotz and Caramés, 2011 ; Hernandez-Aguilera *et al.*, 2013)。

ミトコンドリアの機能不全は、ヒト FLS および軟骨細胞における炎症反応を促進、悪化させる (Valcarcel-Ares *et al.*, 2014 ; Vaamonde-García *et al.*, 2012)。IL-1 β は、ROS を介した核内因子 κ B (NF- κ B) 経路によって IL-8、シクロオキシゲナーゼ-2 およびプロスタグランジン E2 などの炎症性サイトカインメディエーターを誘導する。さらに、炎症性サイトカインは軟骨細胞においてミトコンドリアの量を減少させ、膜電位や細胞内 ATP レベルの低下およびアポトーシスの誘導をもたらすことも報告されている (Dave *et al.*, 2008)。また、関節由来の細胞における炎症反応は抗酸化剤

により緩和されることも知られている (Dvir-Ginzberg *et al.*, 2016 ; Nguyen *et al.*, 2017). 従って, 抗酸化剤や抗炎症剤により, 関節組織の炎症応答を制御できる可能性がある.

ミトコンドリア遺伝子の変異が, 滑膜組織の炎症レベルと関連していること (Harty *et al.*, 2012), ミトコンドリアの機能損傷によって誘導される過剰な ROS は, 滑膜の炎症と密接に関連しているとの報告もある (Biniecka *et al.*, 2011 ; Filippin *et al.*, 2008 ; Lepetsos and Papavassiliou, 2016). 興味深いことに, RA 患者は OA 患者と比較して, FLS におけるミトコンドリア DNA の突然変異の発生率が高く, ミトコンドリアの膜電位や呼吸鎖の機能が低いと言われている (Da Sylva *et al.*, 2005 ; Kim *et al.*, 2017). 従って, RA の発症や進行は OA よりもミトコンドリアの機能異常とより密接に関連している可能性が示唆され, ミトコンドリアの機能改善を目指した治療は RA の方が効果的かもしれない.

軟骨細胞のエネルギー代謝は解糖系が優位であるが, ミトコンドリアでの酸化的リン酸化も重要な役割を担うことが知られている (Cao *et al.*, 2013 ; Martin *et al.*, 2012). 例えば, ヒト軟骨細胞を IL-1 β や TNF- α で処理すると, ミトコンドリアは断片化され, ATP 産生の低下およびスーパーオキシドレベルの上昇が起こる (López-Armada *et al.*, 2006). このような炎症に伴うミトコンドリアの機能変調の解明は, 関節症の改善や予防のための新規治療アプローチにつながると考えられる. 実際に, TNF 遮断治療は, 炎症性関節炎における酸化的ストレスおよび低酸素がもたらすミトコンドリア突然変異の誘発を効果的に抑制することが報告されている (Biniecka *et al.*, 2011).

私たちは, 別府市内の温泉 (泉質: ナトリウム—塩化物泉) から新規の微細藻類 *Mucidosphaerium* sp. RG92 株 (以下当該藻類を RG92 と呼ぶ) を発見し, 単離培養した藻体から得られたエタノール抽出物 (RG92 抽出物) が様々なヒト初代培養細胞における炎症性サイトカインの過剰発現を抑制することを見出した (Miyata *et al.*, in press : 前項参照). 更に, この抽出物は, FLS における ROS の過剰産生を抑制すること, 細胞の異常増殖を阻害すること, マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の遺伝子発現を抑制することが明らかとなった. これらの結果は, RG92 抽出物が関節炎の各ステップで進行を防ぐ可能性を示唆している. しかしながら, FLS のミトコンドリアへの影響については不明なままであった. ここでは, IL-1 β で刺激された FLS のミトコンドリアの形態および

表 1 滑膜線維芽細胞におけるミトコンドリアの形態

IL-1 β	細胞分布 (%)			
		線維型	丸型	混合型
—	対照 (n = 500)	36.7 \pm 5.2	6.4 \pm 2.0	56.9 \pm 5.3
	RG92 (n = 500)	37.0 \pm 4.5	5.1 \pm 1.7	57.9 \pm 3.4
	NAC (n = 300)	34.0 \pm 2.9	12.3 \pm 2.9	54.0 \pm 0
+	対照 (n = 600)	9.0 \pm 2.1	25.9 \pm 6.0	65.0 \pm 5.2
	RG92 (n = 600)	36.0 \pm 5.0	8.4 \pm 4.0	55.7 \pm 7.0
	NAC (n = 300)	29.0 \pm 6.2	15.0 \pm 3.6	55.7 \pm 3.4

RG92 抽出物の存在下および非存在下で, IL-1 β 処理を行った滑膜線維芽細胞のミトコンドリアの形態を観察した. ミトコンドリアの形態を線維型, 丸型, これらの混合型の 3 群に分類した細胞の割合 (%) を示す. データは 3~6 回の独立した実験の平均値 \pm 標準偏差として表す. 括弧内には観察した細胞の総数を示す. NAC, *N*-アセチルシステイン.

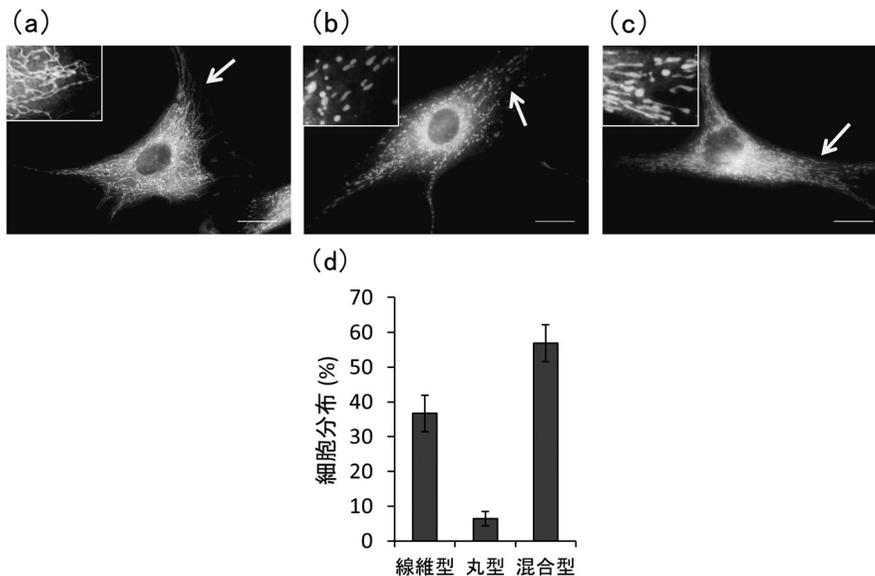


図 1 ヒト滑膜線維芽細胞におけるミトコンドリアの形態 (a) 線維型ミトコンドリア, (b) 丸型ミトコンドリア, (c) 線維型と丸型が混在する混合型ミトコンドリアの蛍光顕微鏡画像. 白枠内は矢印部分の拡大画像. スケールバー=20 μ m. (d) 各タイプのミトコンドリアを有する細胞の割合. データは5つの独立した実験の平均値 \pm 標準偏差として示す.

機能に関する新しい知見とともに, それらに対する RG92 抽出物の効果について解説する (Mifude *et al.*, 2017).

2. ミトコンドリアの形態変化

毛乳頭細胞を用いた以前の報告 (Mifude and Kaseda, 2015) と同様に, FLS のミトコンドリアは主に線維型および丸型の2つの異なる形態を示した. 37%の細胞は線維型ミトコンドリアのみを有し, 6%は丸型ミトコンドリアのみを示した. 残りの細胞は, 線維型と丸型の混合タイプであった (図 1, 表 1). 図 2 と表 1 に示すように, 細胞を IL-1 β で処理すると, 線維型ミトコンドリアを持つ細胞の割合は低下し (9%), 代わりに丸型ミトコンドリアを持つ細胞の割合が増加した (26%). 従って, IL-1 β による炎症刺激はミトコンドリア形態のバランスに大きな影響を与えることが判明した.

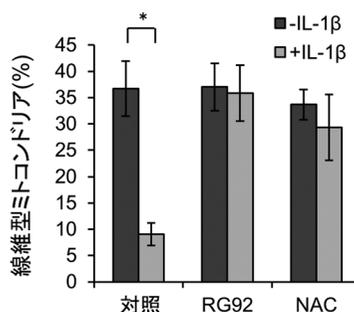


図 2 線維型ミトコンドリアの分布に及ぼす RG92 抽出物の効果 IL-1 β 非存在下あるいは存在下で, 線維型ミトコンドリアを持つ滑膜線維芽細胞の割合に及ぼす RG92 抽出物の影響を示す. データは3~6回の独立した実験の平均値 \pm 標準偏差として表す. NAC, N-アセチルシステイン. *, $p < 0.001$.

3. ミトコンドリアの形態と機能の関係

私たちは以前, 線維型ミトコンドリアは丸型ミトコンドリアよりも多くの ATP を産生すること

を見出した。さらに、線維型ミトコンドリアは多くのエネルギーを必要とする細胞移動に有益であることを示した (Mifude and Kaseda, 2015 ; Mifude and Kaseda, 2016)。そこで、IL-1 β の存在下または非存在下で FLS の ATP 量を調べた。図 3 に示すように、当サイトカインの存在下で、細胞内 ATP レベルは有意に減少し、逆に ROS レベルは増加した。したがって、ミトコンドリアの形態変化と並行して、IL-1 β が関節細胞における ATP 合成反応の脱共役を誘導することが示唆された。事実、図 4a に示すように、線維型ミトコンドリアの割合に対する ATP および ROS レベルで強い相関が確認された。また、丸型ミトコンドリアの割合は線維型とは正反対の関係性を示した (図 4b)。これらの結果は、ミトコンドリアの形態変化が ATP 合成活性に重要な役割を担うことを意味している。

4. 微細藻類 *Mucidosphaerium* sp. RG92 株の効果

FLS が IL-1 β で刺激された場合、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 および MMP-1、MMP-3、MMP-9 の遺伝子レ

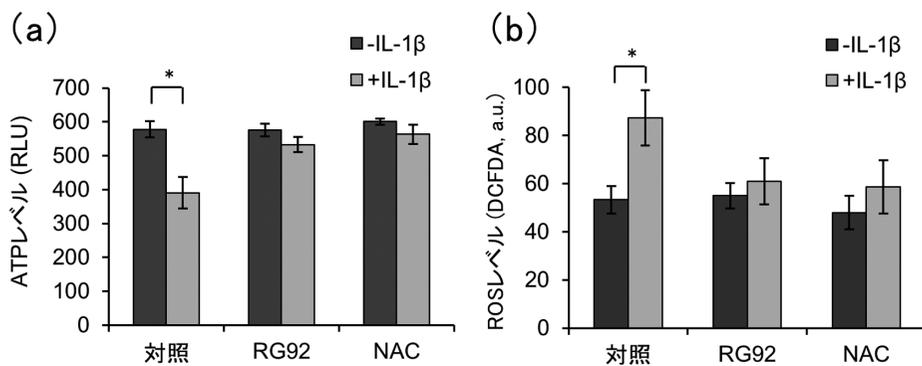


図 3 RG92 抽出物によるミトコンドリア脱共役の改善

- (a) IL-1 β 非存在下あるいは存在下における滑膜線維芽細胞の ATP 量に対する RG92 抽出物の作用
 (b) IL-1 β 非存在下あるいは存在下における細胞内 ROS 量に及ぼす RG92 抽出物の影響 データは 3 回の独立した実験の平均値 \pm 標準偏差として表す。NAC, *N*-アセチルシステイン。*, $p < 0.05$ 。

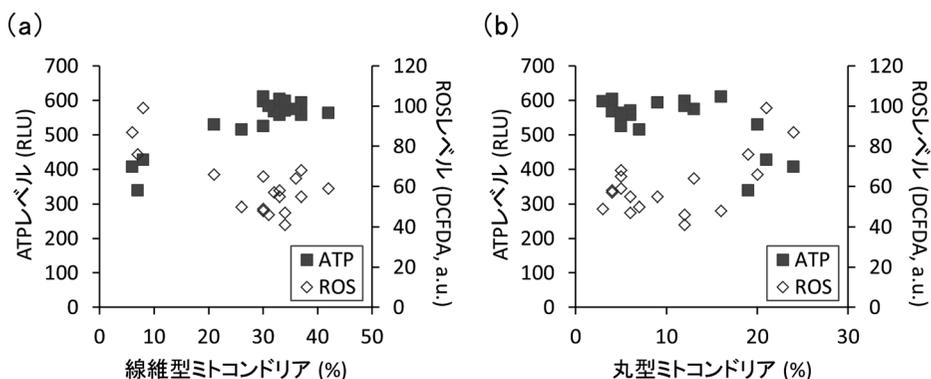


図 4 ミトコンドリアの形態と機能の関係

- (a) 線維型ミトコンドリアを持つ細胞の割合に対する細胞内 ATP および ROS 発生量 (b) 丸型ミトコンドリアを持つ細胞の割合に対する細胞内 ATP および ROS 発生量

ベルが上昇するが、RG92 抽出物は、これら RA の発症に関わる因子の過剰発現を抑制した (Miyata *et al.*, in press : 前項参照). これらの結果は RG92 が関節疾患の改善や予防に有用なツールになることを示唆している. 今回更に、RG92 抽出物が炎症刺激した FLS におけるミトコンドリアの形態と機能に及ぼす効果を調べた. 図 2 および表 1 に示すように、IL-1 β 存在下では線維型ミトコンドリアを有する細胞の割合は有意に減少するが、RG92 抽出物によってその割合が正常レベルに戻り、炎症性サイトカインの影響を抑制する効果があることが示された. 加えて、同抽出物は、IL-1 β が引き起こす ATP 産生の阻害および ROS 生成の増加の効果を打ち消した (図 3). 従って、RG92 抽出物は炎症刺激によるミトコンドリアの酸化リン酸化反応の阻害を抑制する作用を持ち合わせていることが分かった. 本抽出物の効果は、代表的な ROS スカベンジャーである *N*-アセチルシステイン (NAC) に類似していた. 今後、RG92 抽出物に含まれる機能分子を同定し、作用機序の比較検討を行いたい.

5. ま と め

滑膜細胞のミトコンドリアの形態と機能を調べ、IL-1 β 刺激により線維型ミトコンドリアを持つ細胞の割合が減少し、ATP レベルの低下と ROS の過剰産生がもたらされることを示した. RG92 抽出物は、IL-1 β によるミトコンドリアの形態変調及び機能の低下を抑制することが判明した (図 5). ミトコンドリアに対する RG92 抽出物の効果は、その抗炎症作用と密接に関連している可能性がある (Liu-Bryan and Terkeltaub, 2015). これらの研究成果が RA や OA の新しい治療方法の確立につながるものと期待する.

謝 辞

温泉水より単離培養された新種の藻類に関し、培養をお手伝いいただいた当研究所の青龍若菜氏、山下尚輝氏に感謝致します. また、滑膜線維芽細胞を譲渡頂きました京都産業大学現代社会学部の石飛博之助教、広島大学病院未来医療センターの味八木茂講師に感謝致します.

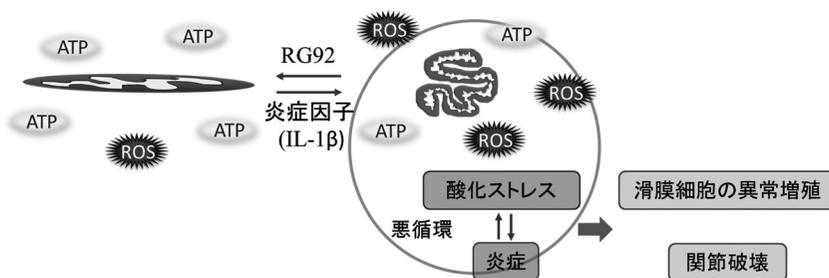


図 5 関節リウマチにおけるミトコンドリアの形態および機能の変調と RG92 抽出物の効果

慢性関節炎の初期段階で、主要な炎症性サイトカインである IL-1 β が産生される. IL-1 β は、FLS においてミトコンドリアの形態変調および機能の低下を引き起こす. 丸型ミトコンドリアでは、ATP 産生の減少および ROS (活性酸素) の過剰生成をもたらす. このようなミトコンドリアの機能異常に加えて、酸化ストレスおよび炎症反応の相乗的な悪循環により、滑膜細胞の異常増殖および関節破壊がもたらされる. RG92 抽出物は、ミトコンドリアの形態と機能に対する IL-1 β の効果を相殺するように働く. 丸型ミトコンドリアは、以前の報告 (Mifude and Kaseda, 2016) に基づいて、折りたたまれた形 (tangled form) で描写している.

引用文献

- Bartok, B. and Firestein, G.S. (2010) : Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis, *Immunol. Rev.*, **233** (1), 233-255.
- Biniecka, M., Kennedy, A., Ng, C.T., Chang, T.C., Balogh, E., Fox, E., Veale, D.J., Fearon, U. and O'Sullivan, J.N. (2011) : Successful tumour necrosis factor (TNF) blocking therapy suppresses oxidative stress and hypoxia-induced mitochondrial mutagenesis in inflammatory arthritis, *Arthritis Res. Ther.*, **13** (4), R121.
- Brennan, F.M., Maini, R.N. and Feldmann, M. (1998) : Role of pro-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis, *Semin. Immunopathol.*, **20** (1-2), 133-147.
- Cao, Y., Zhang, X., Shang, W., Xu, J., Wang, X., Hu, X., Ao, Y. and Cheng, H. (2013) : Proinflammatory Cytokines Stimulate Mitochondrial Superoxide Flashes in Articular Chondrocytes In Vitro and In Situ, *PLoS One*, **8** (6), e66444.
- Da Sylva, T.R., Connor, A., Mburu, Y., Keystone, E. and Wu, G.E. (2005) : Somatic mutations in the mitochondria of rheumatoid arthritis synoviocytes, *Arthritis Res. Ther.*, **7** (4), R844-R851.
- Dave, M., Attur, M., Palmer, B., Al-Mussawir, H.E., Kennish, L., Patel, J. and Abramson, S.B. (2008) : The antioxidant resveratrol protects against chondrocyte apoptosis via effects on mitochondrial polarization and ATP production, *Arthritis Rheum.*, **58** (9), 2786-2797.
- Dvir-Ginzberg, M., Mobasher, A. and Kumar, A. (2016) : The Role of Sirtuins in Cartilage Homeostasis and Osteoarthritis, *Curr. Rheumatol. Rep.*, **18** (7), 43.
- Filippin, L.I., Vercelino, R., Marroni, N.P. and Xavier, R.M. (2008) : Redox signalling and the inflammatory response in rheumatoid arthritis, *Clin. Exp. Immunol.*, **152** (3), 415-422.
- Harty, L.C., Biniecka, M., O'Sullivan, J., Fox, E., Mulhall, K., Veale, D.J. and Fearon, U. (2012) : Mitochondrial mutagenesis correlates with the local inflammatory environment in arthritis, *Ann. Rheum. Dis.*, **71** (4), 582-588.
- Hernandez-Aguilera, A., Rull, A., Rodriguez-Gallego, E., Riera-Borrull, M., Luciano-Mateo, F., Camps, J., Menéndez, J.A. and Joven, J. (2013) : Mitochondrial dysfunction : a basic mechanism in inflammation-related non-communicable diseases and therapeutic opportunities, *Mediators Inflamm.*, **2013**, 135698.
- Jakovic, S., Swift, H.H., Gross, N.J. and Rabinowitz, M. (1978) : Biochemical and stereological analysis of rat liver mitochondria in different thyroid states, *J. Cell Biol.*, **77** (3), 887-901.
- Kapoor, M., Martel-Pelletier, J., Lajeunesse, D., Pelletier, J.P. and Fahmi, H. (2011) : Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis, *Nat. Rev. Rheumatol.*, **7** (1), 33-42.
- Kim, E.K., Kwon, J.E., Lee, S.Y., Lee, E.J., Kim, D.S., Moon, S.J., Lee, J., Kwok, S.K., Park, S.H. and Cho, M.L. (2017) : IL-17-mediated mitochondrial dysfunction impairs apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts through activation of autophagy, *Cell Death Dis.*, **8** (1), e2565.
- Lepetos, P. and Papavassiliou, A.G. (2016) : ROS/oxidative stress signaling in osteoarthritis, *Biochim. Biophys. Acta*, **1862** (4), 576-591.
- Liu-Bryan, R. and Terkeltaub, R. (2015) : Emerging regulators of the inflammatory process in osteoarthritis, *Nat. Rev. Rheumatol.*, **11** (1), 35-44.
- López-Armada, M.J., Caramés, B., Martín, M.A., Cillero-Pastor, B., Lires-Dean, M., Fuentes-Boquete, I., Arenas, J. and Blanco, F.J. (2006) : Mitochondrial activity is modulated by

- TNFalpha and IL-1beta in normal human chondrocyte cells, *Osteoarthritis Cartilage*, **14** (10), 1011-1022.
- Lotz, M.K. and Caramés, B. (2011) : Autophagy and cartilage homeostasis mechanisms in joint health, aging and OA, *Nat. Rev. Rheumatol.*, **7** (10), 579-587.
- Martin, J.A., Martini, A., Molinari, A., Morgan, W., Ramalingam, W., Buckwalter, J.A. and McKinley, T.O. (2012) : Mitochondrial electron transport and glycolysis are coupled in articular cartilage, *Osteoarthritis Cartilage*, **20** (4), 323-329.
- Mathiessen, A. and Conaghan, P.G. (2017) : Synovitis in osteoarthritis: current understanding with therapeutic implications, *Arthritis Res. Ther.*, **19** (1), 18.
- McInnes, I.B. and Schett, G. (2011) : The pathogenesis of rheumatoid arthritis, *N. Engl. J. Med.*, **365** (23), 2205-2219.
- Mifude, C. and Kaseda, K. (2015) : PDGF-AA-induced filamentous mitochondria benefit dermal papilla cells in cellular migration, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **37** (3), 266-271.
- Mifude, C. and Kaseda, K. (2016) : Shaping up mitochondrion in motion, *Dermatol. Open J.*, **1** (2), 38-41.
- Mifude, C.K., Ishitobi, H., Miyaki, S. and Kaseda, K. (2017) : Mitochondrial Regulation in the Pathogenic Process of Inflammatory Arthritis by Microalgal *Mucidosphaerium* Species, *Mol. Med. Curr. Aspects*, **1** (1), 003.
- Miyata, M., Iwata, S., Mifude, C.K., Tajima, M., Kameyama, M., Ihara, M., Matsui, T., Yamagishi, S., Ishitobi, H., Miyaki, S. and Kaseda, K. A novel *Mucidosphaerium* sp. from Beppu hot spring down-regulates inflammatory gene expression in skin and articular cells, *Altern. Ther. Health Med.*, (in press).
- Miyaki, S. and Asahara, H. (2012) : Macro view of microRNA function in osteoarthritis, *Nat. Rev. Rheumatol.*, **8** (9), 543-552.
- Nguyen, C., Savouret, J.F., Widerak, M., Corvol, M.T. and Rannou, F. (2017) : Resveratrol, Potential Therapeutic Interest in Joint Disorders: A Critical Narrative Review, *Nutrients*, **9** (1), E45.
- Picard, M., Shirihai, O.S., Gentil, B.J. and Burrelle, Y. (2013) : Mitochondrial morphology transition and functions : implications for retrograde signaling?, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **304** (6), R393-R406.
- Vaamonde-García, C., Riveiro-Naveira, R.R., Valcárcel-Areset, M.N., Hermida-Carballo, L., Blanco, F.J. and López-Armada, M.J. (2012) : Mitochondrial dysfunction increases inflammatory responsiveness to cytokines in normal human chondrocytes, *Arthritis Rheum.*, **64** (9), 2927-2936.
- Valcarcel-Ares, M.N., Riveiro-Naveira, R.R., Vaamonde-García, C., Loureiro, J., Hermida-Carballo, L., Blanco, F.J. and López-Armada, M.J. (2014) : Mitochondrial dysfunction promotes and aggravates the inflammatory response in normal human synoviocytes, *Rheumatology (Oxford)*, **53** (7), 1332-1343.
- Wu, P.C., Lai, C.L. and Liddel, R.H. (1984) : Quantitative morphology of mitochondria in hepatocellular carcinoma and chronic liver disease, *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **108** (11), 914-916.