

## がんとミトコンドリア DNA の関係

筑波大学大学院 生命環境科学研究科 教授 林 純一

### プロローグ

学位を取得したばかりの筆者が就職先の上司から与えられたこの研究テーマが、30年という時を経て今頃になって完結した。しかし、この結果を報告すべきかつての上司は1年前にこの世を去っていた。

### 1. ことの発端

1977年の早春、学位論文の最後の仕上げの最中に筆者は恩師と一緒に就職が内定した埼玉県立がんセンター研究所にでかけた。採用後の研究テーマを打合わせるためである。恩師から基礎研究の面白さについて薫陶を受けた筆者であったが、実はがん研究という「人の役に立つ」研究に内心胸を踊らせていたのである。

上司となる研究所長からは「君にはがんとミトコンドリア DNA (mtDNA) の関係についてやってみよう」といわれた。しかもそれだけであった。そもそも mtDNA なんて聞いたことがなかったし、この「マイナー」な研究テーマの背景に関しても、研究を進める具体的な戦略、手法の面からも納得できる説明はなかった。このため、釈然としない思いを抱きながら帰途についたが、そのことを察した恩師から「君を採用して良かったと上司に思わせる人間になれ」といわれ、胸が熱くなった。

就職してからよくよく聞くと、どうやらこのテーマの発想はノーベル賞学者であるオットー・ワーバークが20世紀初頭に提出した「がん細胞はミトコンドリアの呼吸活性が低下しているため通常酸素分圧でも解糖系の活性が上昇している」という仮説にもとづいていたのである。この現象はワーバーク効果とよばれ、ミトコンドリアの呼吸活性低下とがん化は密接に関係しているとされていた。また当時ミトコンドリアには核 DNA とは異なる mtDNA が存在すること(図1)が明らかになってきたことから、「mtDNA の突然変異が呼吸活性低下を来し、がんの原因になる」というシナリオ(仮説)も現実味をおびていた。しかしその後の研究で、ほとんどのがん細胞の呼吸活性は低下していないことが示されたた

め、ワーバーク効果は見向きもされなくなった。

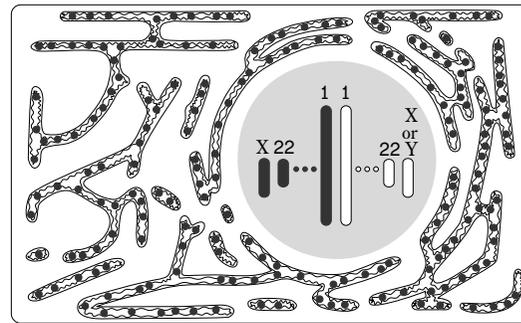


図1 核 DNA とミトコンドリア DNA の遺伝学的差異  
核 DNA は両親から1コピーずつ同等に受け取るのに対し、ミトコンドリア DNA はすべて母親由来で1つの細胞あたり数千コピーも存在する。父親由来の染色体(1-22番染色体とXまたはY染色体)は白、母親由来の染色体(1-22番染色体とX染色体)は黒で示した。ミトコンドリア DNA はすべて母親由来で、黒丸で示した。

実はこのワーバーク効果はそれから20年以上の未来で再び脚光を浴びることになる。このことは後で述べるが、当時はもちろん知るよしもなく、このような賞味期限切れのテーマに不満を抱きながらの研究生活が始まった。ただし、創立後間もない埼玉県立がんセンター研究所が提供してくれた研究環境は素晴らしく、希望に燃えた若き同僚たちと夜遅くまで研究に没頭した。

### 2. 与えられた仮説の検証

大学院の研究では自分がたてた仮説がことごとく否定され、研究の厳しさを味わった筆者にとって、この幼稚な仮説「正常細胞の mtDNA に突然変異が生じ、その結果誘導される呼吸活性低下が細胞のがん化を引き起こす」が正しいはずがないという思いで実験が始まった。

まずがん細胞と正常組織の mtDNA に塩基配列の差があるかどうかを調べるため、ラットの腹水肝がんとラットの肝臓からそれぞれ mtDNA を精製し、制限酵素による切断型を比較した。しかし結果は予測に反し両者の切断型は異なっていた。このことは、理由はともあれ腹水肝がんと正常な肝臓の mtDNA は塩基配列に差があること、つまりがん細胞の

mtDNA に突然変異が生じていることを示していた。

次の疑問は、この差が肝臓がんとならば正常な肝臓の mtDNA の塩基配列の差としてどこまで一般化できるのかということである。そこで、さまざまなラット肝臓がん細胞とさまざまなラット系統の肝臓からそれぞれ mtDNA を精製し切断型を比較した。その結果、最初に見いだした突然変異は、がん化の原因になったのではなく、単に切断型の異なるラットの肝臓から腹水肝がんが樹立されたことに端を発していたのである。つまり、ラットの mtDNA には系統間でさまざまな多型突然変異が存在し、腹水肝がんを提供したラットの切断型が、その時用いたラットの肝臓の切断型と異なっただけなのであった。

### 3. 10年間のがん研究の結論

そもそも突然変異は病原性突然変異と多型突然変異に分けることができる。前者はその遺伝子の産物(RNA かタンパク質)の生理的機能を大きく損なうため何らかの疾患につながるのに対し、後者は生理機能に全く影響を与えないか、与えたとしても個性の差程度のものである。その意味では今回発見した突然変異は多型突然変異ということになる。

ではどうすれば mtDNA ながんの原因となる病原性突然変異が存在するか否かを証明できるのだろうか。おそらく、がん細胞と正常細胞の間で mtDNA を移植交換し、その結果その細胞ががん細胞になるか正常細胞になるかで判断するのが賢明な方法ではないだろうか(図2)。つまり核 DNA が正常細胞由来で mtDNA ががん細胞由来の細胞(サイブリッド)と、逆に核 DNA ががん細胞由来で mtDNA が正常細胞由来のサイブリッドを樹立し、それぞれのサイブリッドが正常細胞なのかがん細胞なのかを判定すればよいのである。

この実験で問題になるのは mtDNA の移植交換が本当に成立しているかという点であるが、このことを確かめる上で上記の多型突然変異は有効に活用できた。つまり、切断型の異なるがん細胞と正常細胞を用いることで、mtDNA が完全に置換したサイブリッドの樹立が確認できた。この実験結果は明瞭で mtDNA の由来に全く関係なく、核 DNA が正常細胞由来であれば正常細胞に、がん細胞由来であればがん細胞になった(図2)。核 DNA の突然変異ががん化の原因であり、「mtDNA の突然変異はがん化に

関係しない」というこの結論は、筆者に今後研究テーマを変えるか、埼玉県立がんセンター研究所を辞めるかのどちらかの選択を迫っていた。

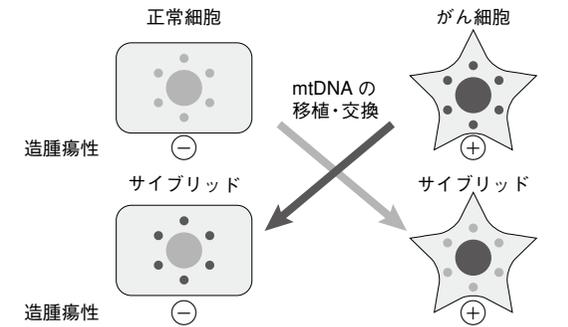


図2 がん細胞と正常細胞のミトコンドリア DNA 交換実験  
正常細胞とがん細胞の間でミトコンドリア DNA を完全に置換した細胞(サイブリッド)を樹立したところ、正常細胞のがん化の原因は核 DNA にあることが判明した。図中の造腫瘍性とは細胞を同系統のマウス、または免疫不全マウスの皮下に注入した時がん(腫瘍)をつくる能力。

### 4. 基礎研究への回帰

筆者のこの窮地を救ったのはかつての恩師である。1993年の4月、恩師のおかげで筑波大学に転任することができた。がん研究施設の宿命として、がん研究以外の研究は許されない。しかし、大学では自由であり、研究以外の業務、たとえば教育業務が重くのしかかってもこの自由は貴重であった。しかもこの教育業務に関し、筆者には密かな(ただし根拠のない)自信のようなものがあつた。

がんという一つのゴールに向かって突き進むというやり方だけでは、いずれ同じ袋小路に迷い込む。それを救うのは、多くの場合全く違う分野の研究成果である。がん研究の節目となる飛躍的進展も別の分野の研究者の貢献が少なからずあったように記憶している。個人的にも一人の発想で行う研究の限界を感じていた。研究所から大学に移り卒業研究生や大学院生の研究指導の際、リスクの高い研究も試すチャンスが多く発生した。問題はその大学院生の確保であったが、この問題も恩師から即戦力となる優秀な大学院生をあずかることで解決された。

当時注目されていたのは、mtDNA に病原性突然変異が生じるとがんではなくミトコンドリア病を発症するという点であった。この問題に対し、筆者の研究室の大学院生たちは世界で初めて mtDNA に病原性突然変異をもつマウス(ミトマウス)の作出に成功しこの仮説に直接的な証拠を提供した。

このミトマウスはさらに、ミトコンドリア病の受精卵遺伝子診断や遺伝子治療法の確立などの応用面で貢献できただけでなく、哺乳類の mtDNA は核 DNA と異なり完全母性遺伝すること、ミトコンドリア間で物質交換がおこること、しかし組換えはおこらないことなど、基礎研究の領域に貴重な知見を提供することができた。これらの詳細は「ミトコンドリア・ミステリー」(参考文献 1)で述べた。

## 5. ワーバーク効果リバイバル

実はがんも mtDNA との関係は、2000 年以降また注目され始めていた。その発端は、がん細胞はミトコンドリアの呼吸活性が低下していても、通常酸素分圧下で解糖系が上昇しているため、異常増殖で低酸素状態に置かれてもエネルギー産生や細胞の生存に有利に働くことが明らかになったことである。つまりワーバーク効果の中でも特に「がん細胞は通常酸素分圧でも解糖系が上昇している」という部分が評価され、再度大きな脚光を浴びるようになった。

仮に通常酸素分圧でも高い解糖系の活性を示すという性質が正常細胞のがん化の引き金になるのなら、最初のワーバークの仮説通りミトコンドリアの呼吸活性低下もワーバーク効果を引き起こす。したがって mtDNA の病原性突然変異によってもがん化は誘発されるはずである。このシナリオを支持するかのようヒトのがん組織の mtDNA にさまざまな突然変異が存在するという報告が相次いだ。

しかし、すでに述べたように筆者たちの実験(図 2)はこの可能性を否定した。もちろん、だからといって調べた以外のがん細胞も同じであると断定はできないが、以下に述べる 2 つの事実は、筆者たちの結論が普遍的であることを示している。

第一は、ミトコンドリア呼吸活性が低下しているミトコンドリア病の患者はがんになりやすいことを統計学的に立証した報告はないということである。

第二は、母性遺伝するがんの報告がないということである。かつて筆者らが証明したように、哺乳類の mtDNA は完全に母性遺伝する。このため mtDNA の突然変異が特定のがんの原因になるのであれば、その突然変異が病原性をもとうが多型であろうが、がんになりやすいという性質も母性遺伝しなければならぬはずなのに、このことは未だに統計学的な根拠を持って証明されていないのである。

## 6. ミステリーの扉を開いた査読者

以上述べたことも 2002 年に発行された「ミトコンドリア・ミステリー」(参考文献 1)で詳細に説明したが、その後も mtDNA の突然変異ががん化に関係するという「がんミトコンドリア原因説」を支持する論文は洪水のように出続けている。

筑波大学に移り、がん研究から解放されてからすでに 10 年がたっていたが、かつて上司から刷込まれたこの課題は忘れることができなかった。そしてより詳細な実験を行って論文を投稿した。しかし、この論文の査読者(レフェリー)のコメントは「貴方たちが主張するように mtDNA の突然変異が正常細胞のがん化に関与しなかったとしても、がん化した後のプロセス、たとえばがん細胞の悪性化(浸潤能や転移能の獲得)に関与するという可能性は否定できない」であった。正常細胞のがん化とがん細胞の悪性化は別問題ではある。ただし、それはそれで重要なポイントであるためこの可能性も除去するつもりで新たな実験を始めた。

実はこの問題も mtDNA 移植交換(図 2)の手法で解決できた。つまり転移能が異なるがん細胞(低転移性がん細胞と高転移性がん細胞)の間で mtDNA を移植交換した細胞(サイブリッド)を作製し、転移能がこの交換によって同じように交換されるかどうかを調べたのである。しかしこの実験結果は全く予想に反していた。mtDNA が高転移性がん細胞由来であれば核 DNA の由来に関係なくそのサイブリッドのミトコンドリア呼吸酵素複合体 I の活性が低下し同時に高転移性が誘発されていた。逆に mtDNA が低転移性がん細胞由来であれば呼吸活性は正常に戻り低転移性になっていたのである。この結果は高転移性がん細胞の mtDNA に存在する病原性突然変異が転移を誘発することを端的に示していた。

## 7. がん転移ミトコンドリア原因説の提出

それでは高転移性がん細胞の mtDNA の病原性突然変異はいかにして転移を誘発したのか? 第一の可能性はミトコンドリア呼吸活性低下により ATP 産生量が低下しこれがワーバーク効果を誘発して転移の原因となることである。第二はミトコンドリア呼吸活性低下が、活性酸素種(ROS)の漏出を増加させることが転移の原因になる可能性である(図 3)。

まず第二の可能性をチェックするためサイブリッ

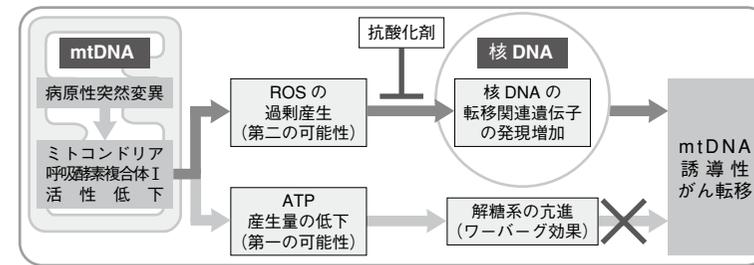


図 3 「がん転移ミトコンドリア原因説」のシナリオ

ドの ROS 産生量を測定したところ、高転移性がん細胞の mtDNA を導入したサイブリッドは核ゲノムの由来に関わらず低転移性がん細胞の mtDNA を導入したサイブリッドに比べ ROS 産生が大幅に促進されており、ミトコンドリア呼吸機能低下や高転移性の獲得と一致していた。しかも抗酸化剤処理によって ROS を除去すると転移能も抑制された。

では ROS はいかにしてがん細胞の転移を誘発するのだろうか? ことの詳細は省略するが、その大まかなシナリオは以下の通りである: mtDNA の病原性突然変異がミトコンドリア呼吸酵素複合体 I の活性低下を引き起こし、それに伴って大量に漏出する ROS が転移に関わる核遺伝子の発現を上昇させ転移能の獲得に至る(図 3)。

これに対し、第一の可能性として述べたワーバーク効果については否定的な結論が得られた(図 3)。理由はミトコンドリア呼吸活性低下によって ROS を過剰産生せずワーバーク効果だけを誘発するような別の病原性突然変異 mtDNA を導入したサイブリッドでは高転移性が誘発されなかったからである。

## 8. 抗酸化剤によるがん転移の予防

今回筆者らが提案した「がん転移ミトコンドリア原因説」とは、mtDNA の何らかの病原性突然変異はがんの悪性化(転移)を誘発するという仮説で、正常細胞のがん化を誘発するという「がんミトコンドリア原因説」とは根本的に異なる。したがってこの仮説は筆者が 2002 年に「ミトコンドリア・ミステリー」で「がんミトコンドリア原因説」を否定した論理と何ら矛盾するものではない。すなわち mtDNA の特殊な突然変異は、正常細胞のがん化の原因にはならないが、がん細胞の悪性化の原因にはなりうること、そしてその場合は、抗酸化剤が転移抑制の治療薬として有効であることを明らかにできたのである。し

たがって転移の原因は多様であっても、今回のような ROS の過剰産生が転移の原因である場合は、抗酸化剤がヒトのがん転移の治療に有効かもしれない。

またミトコンドリア呼吸酵素複合体 I の活性を低下させるような mtDNA の病原性突然変異は Leber 病(遺伝性視神経萎縮

症)という特殊なミトコンドリア病の原因になることから、この疾患ではがん転移の頻度が高くなるかも知れない。逆にがん転移の頻度にしばって疫学的調査をすれば、「がん化しやすさ」ではなく「転移しやすさ」が母性遺伝するような特殊ながんが存在する可能性もあり、医学分野での統計学的研究の進展が期待される。

これらの研究成果の一部は米国科学雑誌サイエンスの 2008 年 4 月 4 日の電子版に掲載された(参考文献 2)。筆者が埼玉県立がんセンター研究所に就職し、そこでがん研究を始めてからすでに 30 年以上の歳月が流れていた。

## エピローグ

今回の研究成果の鍵は、研究テーマの軸足がぶれなかったことではないかと思う。もちろんそれができたのは大学に移ることができた幸運によるものであるし、軸足がぶれなければすべてがうまくいく訳でもない。単なる偶然の積み重ねとも考えられる。またすでに述べたようにその着想に至ったのは投稿した論文のレフェリーのおかげでもある。しかし、少なくともがん研究のしほりから解放された後、しばらくたってから、強制ではなく自然な流れの中でがん研究の必要性を認識した上でがん研究を再開したことが大きなポイントであったように思う。大学ではこの自由な「遊び心」を尊重してくれるし、今後もこのことの重要性を学生たちに伝えていきたいと思っている。

### 参考文献

- 1) 林 純一 「ミトコンドリア・ミステリー」(講談社ブルーバックス, 2002 年 11 月)
- 2) Ishikawa, K., et al. Science 320: 661-664, 2008