

## 特集：ストレス応答分子：分子メカニズムの解明と病態の理解

## 疾患の制御・修飾因子としてのミトコンドリア

康 東 天

ヒトミトコンドリアゲノムは約 16 kbp の環状 DNA の小さなゲノムであるが、コード遺伝子はすべてが酸化的リン酸化による好氣的 ATP 合成に必須である。ミトコンドリアは細胞内最大の生理的活性酸素発生源であり、そのためミトコンドリア DNA は核よりも強い酸化傷害を受けている。ミトコンドリアゲノム異常を含むミトコンドリア障害は心不全、がん、老化などの一般的な疾患の発症と進展に深く関与している。一方で、逆に様々な疾患病態がミトコンドリアに種々のストレスを及ぼし、それに対するミトコンドリアの応答が細胞機能や細胞反応を修飾し病態そのものを変化させる。ミトコンドリア DNA の維持に必須のミトコンドリア転写因子 A (mitochondrial transcription factor A : TFAM) のマウスでの過剰発現は心不全、がん、老化などの進展に防御的に働くなど、ミトコンドリアの機能保護ならびにミトコンドリアに依存する細胞反応に、TFAM が多機能な役割を果たしていることが分子レベル、細胞レベル、個体レベルで明らかになってきた。

## 1. はじめに

ヒトミトコンドリア DNA (mtDNA) は約 16 kbp の環状 2 本鎖で、比重の違いによって、H 鎖 (heavy strand) と L 鎖 (light strand) と名付けられている。ヒトミトコンドリアゲノムは遺伝子としては 13 個の電子伝達系サブユニットと 22 個の tRNA と二つの rRNA をコードしているだけで、コードしている遺伝子の数は限られているが、全ての遺伝子はミトコンドリアにおける好氣的 ATP 合成に必須である。培養細胞系では mtDNA を失ったいわゆる rho0 細胞もピルビン酸やウリジンを加えるなど特別な培地条件を整えれば増殖可能となることもあるが、個体としては正常な mtDNA なしに生存することはできない。ミトコンドリアゲノムは臓器によって大きく異なるが、細胞あたり数十から数千コピー存在している。そのコピー数は細胞のエネルギー需要とおおよそ平行している。つまり細胞が要求

するレベルのミトコンドリア機能を保持するには一定のコピー数のミトコンドリアゲノムが維持される必要がある。このため、ミトコンドリアゲノムの維持という場合、遺伝情報 (つまり DNA 配列) の維持と遺伝情報量 (つまりコピー数) の維持の両者を考える必要がある。

ミトコンドリアは細胞における ATP 合成の 80% 以上を占めていることから、ミトコンドリアゲノムの情報と量の異常は細胞の生存と機能に重大な支障を来す。実際これまで、ミトコンドリアゲノムの異常に起因する先天的なミトコンドリア脳筋症が数多く報告されており、新たな変異の報告は現在もさらに増えつづけている。最近では、そのような比較的まれな先天的で特殊な疾患群だけでなく、心不全、がん、糖尿病などのより一般的な疾患 (common disease) においてミトコンドリアゲノム異常を含めたミトコンドリア機能変化との関連も認められており、体細胞性のミトコンドリアゲノムの維持に対する関心が高まりつつある。

一方で、これら common disease とミトコンドリアとの関連を真に理解するためには、もともとミトコンドリアに異常があり、そこから引き起こされる細胞機能異常を考えるだけでは対処できない。なぜなら、common disease では、その発症の基本病因はミトコンドリアにあるのではな

九州大学大学院医学研究院臨床検査医学 (〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1)

Mitochondrial stress in diseases

Dongchon Kang (Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences, Fukuoka 812-8582, Japan)

く、むしろミトコンドリアの変化は二次要因として現れたと考えるのが自然である患者の場合が多いからである。つまり本来ミトコンドリアと関係なかった病態がミトコンドリアに影響を及ぼし、その結果として、機能異常だけではないミトコンドリア応答反応が元の病態を増悪、軽減、修飾するという視点である。そのことはさらに、細胞や個体が健全な生を維持している際に果たしている恒常的なミトコンドリアの応答反応の理解も重要であることを意味している。

ミトコンドリアは酸化リン酸化を通じて大半のATP産生を担い、生体におけるエネルギー代謝の中心であることは周知のことであるが、それ以外にもリン脂質の合成、ヘムの合成、ステロイドの合成、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度調節など実に多岐にわたる代謝を司っている。このような細胞の基本代謝機能を担っていることに加えて、ミトコンドリアは、アポトーシスや感染免疫のキープレーヤーともなっており、破壊され血中に放出されたミトコンドリアのタンパク質、脂質、核酸などの構成成分が個体の炎症反応を強く惹起していることも知られるようになってきている。また、ミトコンドリアは細胞内における活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) の最大の定常的発生源であり、様々な疾患、加齢の過程での組織傷害に大きな役割を果たしている。一方、ミトコンドリア由来の活性酸素種は、単に酸化リン酸化に伴う不可避の有害副産物であるだけでなく、細胞の分化・増殖を制御する細胞内シグナル伝達物質の一つとしての役割もある<sup>1)</sup>。このような従来は想定されていなかったミトコンドリアの機能的側面を統合的に整理し、さらにミトコンドリア機能障害による細胞機能変化と細胞機能変化によってもたらされるミトコンドリアの機能変化の両面から総合的に捉えることが、様々な疾患におけるミトコンドリアの役割を考える上で必要な時代となっている。本稿ではミトコンドリアの酸化ストレスとミトコンドリアゲノム維持におけるTFAMの役割を中心に述べる。

## 2. ミトコンドリアゲノムの構造因子としてのTFAM

ミトコンドリア内には核DNAにおいてヌクレオソーム構造を形成するヒストンタンパク質が見いだされないため、少なくとも哺乳類ミトコンドリアではミトコンドリアDNAは裸に近い形で存在すると信じられていた時代が長かった。ミトコンドリア転写因子A (mitochondrial transcription factor A: TFAM) はmtDNAの転写因子としてClaytonらによって精製、クローニングされた<sup>2,3)</sup>。その当初、mtDNA 1分子あたり15分子程度存在すると報告され<sup>2)</sup>、転写因子として働くのに適度な量であったこともあり、長らく検証されないまま受け入れられてきた。しかしTFAMは実際にはmtDNA 1分子あたり約1,000分子も存在することがわかった<sup>4)</sup>。TFAMはhigh mobility group

(HMG)ファミリーに属するタンパク質で、HMGファミリータンパク質の多くがそうであるように、DNA配列に非特異的にDNAに結合できる。TFAMはフットプリンティングの実験からDNA上の約20塩基にわたる領域をカバーすると考えられていることから<sup>2)</sup>、ミトコンドリアDNA 1分子あたり約1,000分子のTFAMは、もしすべてが結合しているならば16.5 kbpのミトコンドリアDNA全周を覆うのに十分な量ということになる。実際、TFAMはそのほとんどがミトコンドリアDNAに結合して存在することが生化学的な様々な実験から示されており<sup>5)</sup>、そのことに一致して、TFAMは免疫組織染色で顆粒状に検出され、その局在はミトコンドリアDNAに一致する。このことから、私たちは、ヒトミトコンドリアDNAはTFAMによってパッケージされた高次構造をとっていると提唱した。このような高次構造は染色体のヌクレオソーム様構造という意味でmtDNAヌクレオイド (nucleoid) と呼ばれている。

現在は、TFAMが転写プロモーター領域に結合し転写を促進する転写因子としての役割と、mtDNAに非特異的に結合しその構造と安定性を維持している構造タンパク質としての役割を合わせ持つことが広く認められている。

それでは、ミトコンドリアDNAが高次構造をとっていることの生理的な意味は何であろう。高次構造の主要構造タンパク質であると考えているTFAMの発現をRNA干渉法 (RNAi) を用いてノックダウンし、TFAM量の変化とミトコンドリアDNA量の変化を経時的に観察すると、両者の量はほぼ完全に並行して減少しそして回復してくる<sup>6)</sup>。逆にTFAMを過剰発現するとその量に比例してミトコンドリアDNA量も増加する。このように、TFAMとミトコンドリアDNA量に化学量論的な関係が見いだされる。ミトコンドリアDNAの複製は転写に依存していることが知られている。しかしTFAMの量とミトコンドリアDNAの転写速度には相関が見られないことから、TFAMは転写に依存した複製を介してミトコンドリアDNA量を増減させるのではなく、安定化に寄与する構造タンパク質として働いていることが示唆される (図1)。このことは、与えられたTFAMで形成できる高次構造の量に相当する量のミトコンドリアDNAのみが安定的に存在しうることを示唆しており、TFAMを主要構成成分とするミトコンドリアDNA・タンパク質複合体としてのミトコンドリアDNA高

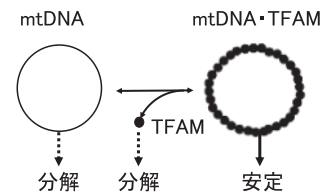


図1 TFAMによるmtDNA安定化の模式図

次構造(ヌクレオイドあるいはミトクロモソーム)が *in vivo* においてミトコンドリア DNA の安定的な存在に必須であることを示唆している。また、TFAMはミトコンドリア DNA へのこの化学量論的な結合を通じて、ミトコンドリア DNA 量を感じているとも言える。TFAMは酸化障害塩基である 8-オキソグアニン (8-oxoG) を含む DNA や化学薬剤によって障害を受けた DNA に対して高い親和性があり、ミトコンドリア DNA の修復やミトコンドリア DNA 障害に起因する細胞死に影響を与えている可能性がある<sup>7)</sup>。

最近ヨーロッパのグループにより TFAM と mtDNA の転写プロモーター配列を持つオリゴヌクレオチドとの複合体の X 線結晶構造が明らかにされた<sup>8,9)</sup>。TFAM はプロモーター配列を持つ DNA をほとんど 180 度曲げ U-turn loop を形成し、この構造によって RNA ポリメラーゼが転写開始点から転写することを可能にしているようである。このような変化がプロモーター領域以外での非特異的結合にもあてはまるかは不明であるが、ヌクレオイドの全体像解明への重要な一歩である。また、これまでは一つのヌクレオイド単位は 10 コピーにも及ぶ複数の mtDNA から構成されていると考えられていたが、基本的には 1 ヌクレオイドは 1 コピーの mtDNA からなるとの報告が最近なされている<sup>10)</sup>。ヌクレオイド構造の分子レベルでの実体解明は徐々に進んでいるが、現在でも大部分が未解明のまま残されている。

### 3. ミトコンドリアゲノムの酸化ストレス

ミトコンドリアの電子伝達系は一般に細胞の酸素消費の 90% 以上を占め、そのうち 1~5% が活性酸素種に変換されるとされ、細胞内最大の活性酸素発生源であると考えられている<sup>11)</sup>。このため、mtDNA は核 DNA より強い酸化障害を受けやすいことが予想される。実際、酸化型グアニン塩基である 8-oxoG が、ミトコンドリア DNA では核に比べ数十倍多いと考えられている<sup>12)</sup>。

ミトコンドリアはその存在そのものが潜在的に酸化ストレスになりうるものであり、その機能と量が精巧に制御されることが正常な生存には重要となる。酵母は非発酵培地では(つまり解糖系で ATP 産生ができないような栄養環境)、ミトコンドリア量が非常に増加する。このような状況下で栄養飢餓培地に置き換えると、ミトコンドリア特異的オートファジー(ミトファジー)の誘導により急激なミトコンドリア量の減少が起こる<sup>13,14)</sup>。このとき、ミトファジー必須遺伝子欠損株ではミトコンドリア量が減少しない状況に置かれてしまう。このようにミトコンドリアが減少しないといけない環境下で減少しないと、激しい mtDNA の酸化損傷が起こり<sup>15)</sup>、結果として酵母菌の大半が酸化的リン酸化能を失った株に特徴的な小さなコロニー(いわゆる

プチコロニー)を形成した。これはミトコンドリア機能を保てないような環境下ではミトコンドリアそのものを破壊し量を減らさないと生存にとってかえって危険であることを示している。ヒトの様々な病態でのミトコンドリアのあり方を考える上でも示唆に富む結果である。

マウス心筋部分梗塞モデルでは、非梗塞部が代償的に肥大を起こすが、やがて、その代償は破綻し、拡張性心筋症と心不全を来すことが知られている。非梗塞部では活性酸素の産生増大とミトコンドリアゲノムコピー数の低下が観察される<sup>16)</sup>。このとき、ミトコンドリアゲノムでコードされる電子伝達系複合体活性のみが低下していることから、少なくともこのモデルでは、活性酸素による mtDNA のコピー数の低下が心不全進行の主原因の一つであると推定される。培養心筋細胞に H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を添加すると、わずか 15 分でミトコンドリア量の著明な低下が観察されるので<sup>17)</sup>、活性酸素による mtDNA 量の低下は合成の低下ではなく、酸化障害に伴う分解の亢進が主であると考えられる。

ミトコンドリアゲノムの重要性と障害の受けやすさにもかかわらず、1974 年に Clayton らが紫外線 DNA 障害であるピリミジンダイマーがミトコンドリアでは修復されないと報告して以来<sup>18)</sup>、ミトコンドリアには DNA 修復系がないと長い間信じられてきた。詳細は省略するが現時点では、哺乳類ミトコンドリアにおける DNA 修復は主に塩基除去修復に頼っていると考えられている。塩基除去修復は 8-oxoG を代表とする活性酸素障害 DNA の修復に主たる役割を果たしているため、強い活性酸素発生源であるミトコンドリアにこの修復系が残っていることは合目的的である。8-oxoG による変異を予防するための MutM, MutY, MutT という三つの酵素が大腸菌での塩基除去修復における基本酵素である。MutM は 8-oxoG DNA グリコシラーゼであり、C : 8-oxoG ペアから 8-oxoG を切り出す酵素である。MutY はアデニン DNA グリコシラーゼで、A : 8-oxoG ペアから A を切り出す。MutT は 8-oxodGTPase 活性を持ち、dGTP が活性酸素で酸化された 8-oxodGTP を加水分解する酵素である。これら三つの大腸菌酵素のヒトホモログ(hOGG1, hMYH, hMTH1)はいずれもミトコンドリアにも存在することが確認されている<sup>19~21)</sup>。

このように、ミトコンドリアには核 DNA に対するのと同等の 8-oxoG 変異に対する防御系が存在する。8-oxoG は変異原性があり量的にも多い代表的酸化修飾塩基である上、これに対する修復酵素群もよく解析されているため、ミトコンドリアにおいても、非常に多くの研究者によって熱心に研究されている。Nakabeppu らは、特にこれら三つの塩基除去修復酵素のノックアウトマウスの解析から、ヌクレオチドプールの酸化がミトコンドリアゲノムへの酸化塩基挿入を通して、細胞死に大きく関わっていることを報告している<sup>22)</sup>。

Khrapkoらは培養細胞 mtDNA の変異率は  $3 \times 10^{-6}$ /塩基対で核 DNA の  $1 \times 10^{-8}$ /塩基対に比べ 100 倍以上高いと報告している<sup>23)</sup>。組織によって異なるが mtDNA は 1 細胞内に数十から数千コピー存在するため、野生型と変異型の mtDNA が同一細胞内に混在することがしばしばあり、このような状態をヘテロプラスミーと呼ぶ。各年齢のヒト組織の mtDNA の変異が Michikawa らによって調べられた結果、65 歳以上の高齢者のみに高頻度かつ高いヘテロプラスミーで存在する変異が認められている<sup>24)</sup>。最近、次世代 DNA シークエンサーを使った mtDNA のいわゆる ultra deep sequencing (USD) により、加齢に伴う変異の蓄積は新たな変異の発生ではなく、元々あった変異が加齢とともにクローナルに増加した結果との報告もある<sup>25)</sup>。いずれにせよ、体細胞性の mtDNA 変異が加齢とともに高率に蓄積するのは確かであろう。しかし、大半の先天的ミトコンドリア DNA 変異は A から G へのトランジション変異であり、最近開発された方法で見いだされる体細胞性の変異も大部分はトランジション変異であって、8-oxoG に起因すれば起こるはずのトランスバージョンではない。意外なことだが、ミトコンドリアゲノムにおいて実際に観察されるミトコンドリア DNA の突然変異に対して、8-oxoG がどの程度重要な寄与をしているのかは実は現在も定かではない。

#### 4. TFAM による病態制御

##### (1) TFAM による心不全の抑制

先に述べたように、ミトコンドリア DNA の安定的存在にはその高次構造が重要である。逆に考えると、TFAM を主要構成成分とするこのミトコンドリア DNA の高次構造はミトコンドリア DNA に対して保護的に働いていると考えることができる。そこで、TFAM 発現マウスを作製し上述のマウス心筋部分梗塞実験を行うと、TFAM 発現マウスでは非梗塞部分の活性酸素の産生増大が抑制され、ミトコンドリアゲノムコピー数も非心筋梗塞野生型マウスと同レベルかそれ以上に保たれていた。活性酸素による mtDNA のコピー数の低下が主原因の一つであるとの先ほどの結論が正しければ、拡張性心筋症の進行は抑制され、生存率が上昇するはずであり、結果はその通りであった(図 2)<sup>26)</sup>。このことは心不全に伴う心筋のリモデリングの進行に酸化ストレスと mtDNA が重要な役割を持っていることを示している。

培養心筋細胞を用いた実験では、外から加えた精製リコンビナント TFAM タンパク質がエンドセリン刺激などによる心筋細胞のアクチンの増生 (=肥大, リモデリングの初期反応) を抑制することができる<sup>27)</sup>。ミトコンドリアからの  $\text{Ca}^{2+}$  の放出が TFAM によって強く抑制されていることから(図 3 右下)、エンドセリンなどの受容体刺激から

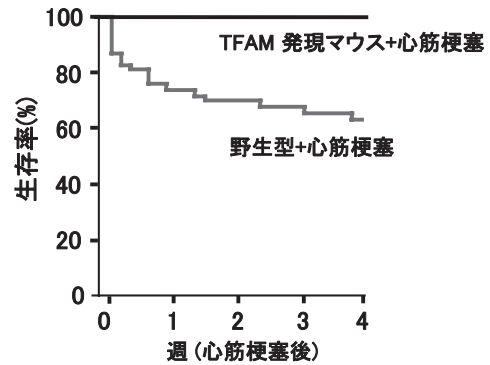


図 2 TFAM 発現マウスでの心筋梗塞後生存率

アクチンなどのリモデリング関連因子の転写にいたる細胞内シグナル伝達に TFAM/mDNA 複合体が影響している可能性を示唆している(図 3)。

##### (2) がん細胞増殖の修飾因子としての TFAM

大腸がん細胞が周囲の正常組織とは異なるミトコンドリア DNA 変異を高頻度で持つとの Polyak らの 1998 年の報告<sup>28)</sup>以来、mtDNA とがん細胞の関係が強く注目されるようになった。その後 mtDNA 変異とがんとの関連が非常に多く報告されている<sup>29)</sup>。エネルギー代謝の変化や活性酸素増大を介した間接的関与も少なくないと思われるが、ある種の mtDNA 変異は転移や増殖能の亢進といった悪性度の亢進に寄与するのは確かである<sup>30,31)</sup>。特に mtDNA 異常による活性酸素の増加と低酸素応答に関係する転写因子 HIF1 $\alpha$  (hypoxia-induced factor 1 $\alpha$ ) の活性化は Warburg 効果(後述)との関係から注目されている<sup>32)</sup>。mtDNA 変異ががん化そのものに寄与できるかはいまだ確立はしていない。

TFAM 遺伝子のエクソン 4 にはアデニンが 10 連続する polyA tract が存在する。ミスマッチ DNA 修復の異常があると同じ塩基の連続は複製過程での slippage のため繰り返し配列数の変化が起こりやすく、マイクロサテライト不安定性 (MSI) としての表現型を取ることになる。実際、MSI があるがん細胞株では TFAM の polyA tract で A が一つ減少した A9 アリルがほとんど 100% 近くの株に認められ、大腸がん患者の組織においても MSI があるがんでは 70% 以上に A9 アリルが存在した<sup>33)</sup>。A9 アリルでは途中でストップコドンが入り、DNA 結合能が減少した短い TFAM が産生される。TFAM が mtDNA に保護的に働くならば、このような TFAM ががんの進展に関係する可能性があると思われ。A9 アリルを持つがん細胞株に野生型 TFAM cDNA を導入するとその増殖能が減少し、反対に A9 アリルを持つ cDNA をさらに導入すると増殖能は一層亢進した。TFAM は抗がん剤シスプラチンで修飾された DNA に強く結合する性質がある<sup>7)</sup>。シスプラチンに対する



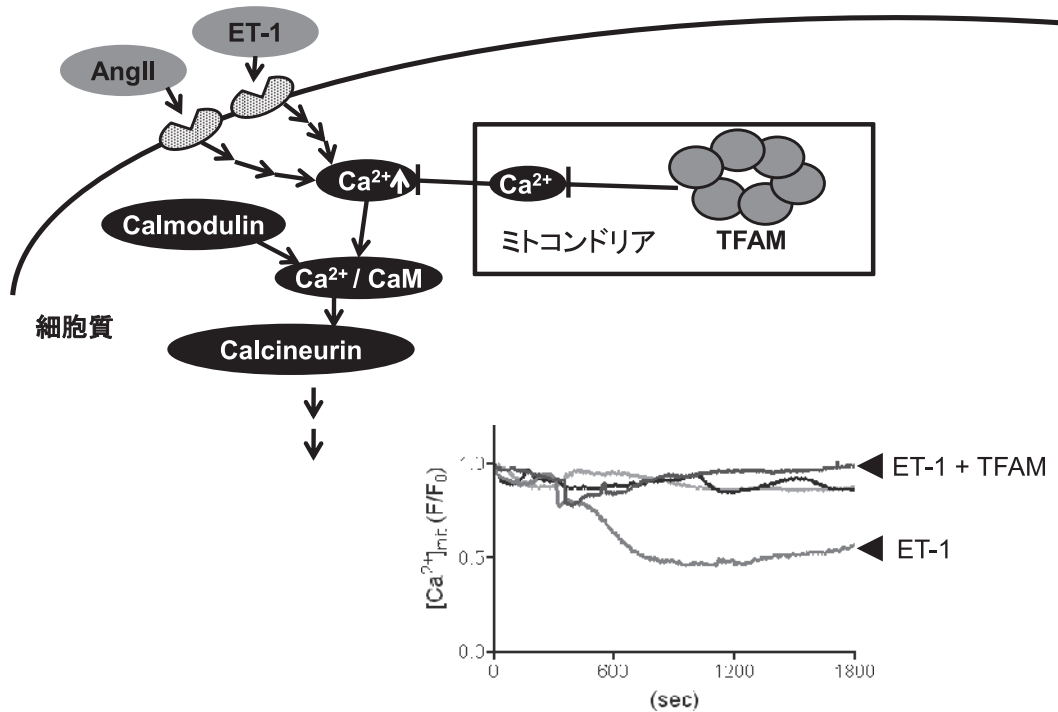


図3 TFAMによる細胞内シグナル伝達の修飾  
 エンドセリン (ET) などからのシグナル伝達に必要な  $\text{Ca}^{2+}$  上昇を局所で阻害している可能性を模式化。  
 TFAMで前処理された心筋細胞ではエンドセリンによるミトコンドリア内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度低下 (つまりミト  
 コンドリアからの  $\text{Ca}^{2+}$  放出) が強く阻害されている (右下入れ込み)。

感受性は、A9型を導入すると低下し、野生型のA10型を導入すると亢進した。このことはTFAMのmtDNA結合状態が増殖能や抗がん剤耐性といったがん細胞の特性に大きく影響することを示している<sup>33)</sup>。

### (3) 老化抑制因子としてのTFAM

大腸のクリプト (陰窩) には幹細胞が存在し、絶えず自己複製しながら分裂し、大腸上皮細胞を維持している。Taylorらは、大腸幹細胞ではミトコンドリアDNAの変異が加齢とともに蓄積し、多くの大腸幹細胞はミトコンドリア呼吸能の喪失にいたることを実証した<sup>34)</sup>。大腸幹細胞の変異蓄積から計算される加齢に伴う自然変異蓄積率は核DNAの100倍にも達する。このように、ミトコンドリアDNAの変異蓄積とそれに起因するミトコンドリア機能低下は生理的なヒトの加齢でも起こっている。このことから、加齢に伴って体細胞にミトコンドリアDNA変異が蓄積し、これが老化における細胞機能低下の原因の一つとする説がある (mtDNA老化説)。

それではmtDNA変異の蓄積を亢進させれば老化は進行するのか? この問いに答えるためLarssonらはミトコンドリアゲノムの複製DNAポリメラーゼであるDNAポリメラーゼ $\gamma$ 変異マウスを作製した<sup>35)</sup>。ミトコンドリアゲノムの変異蓄積が5倍ほど上昇したこのマウスでは白内障、骨粗鬆、脱毛などヒトで典型的に現れる組織の老化現象が

観察され、心不全による死亡で平均寿命は3分の1になっていた。その後の解析で少なくとも8-oxoGの蓄積は認められず<sup>36)</sup>、電子伝達系の機能低下→活性酸素増加→mtDNA傷害→電子伝達系の更なる機能低下という悪循環説には疑問が呈されているが、ミトコンドリアゲノムの変異が蓄積すれば、その詳細なメカニズムは不明ではあるものの個体レベルでも老化という表現型が実際に現れることをはっきり示している。

もしTFAMがmtDNAに保護的に働いているなら、mtDNA老化説に従えば当然TFAM発現マウスでは老化の進行は抑制されることになる。老化の代表的な指標の一つである神経機能の低下を水迷路試験での学習記憶能力で評価すると、2歳齢TFAM発現マウスの水迷路試験でのエ

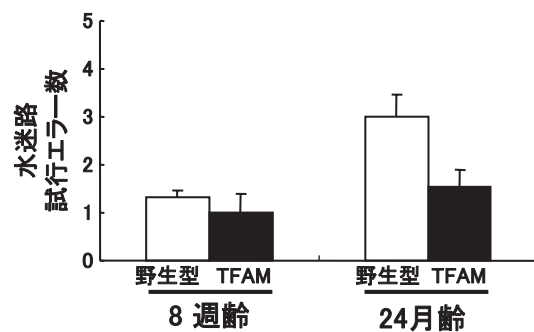


図4 TFAM発現マウスでの学習記憶能力の維持

ラー回数は野生型の半分以下であり、8週齢の若年マウスとほとんど差がないほど学習記憶能力は維持されていた<sup>37)</sup>(図4)。また走行持続時間で評価した運動能力も2歳齢TFAM発現マウスは野生型の2倍近かった。これらのことは、mtDNAを守ることで実際に老化の進行を遅らせることができる可能性を示唆している。

### 5. TFAM 結合タンパク質から見るヌクレオイドの機能

TFAMがmtDNAヌクレオイドの最も基本的かつ主要構成因子であることに疑いはないが、ヌクレオイドは当然他の多くのタンパク質から構成されている。しかしながら、既述のようにその分子レベルでの全体像はほとんど未解明と言ってよい状態である。私たちは、全体像の解明に向けてTFAMに結合するタンパク質の免疫沈降による網羅的同定を試みた。その中の一つにp32というタンパク質が認められた。p32はミトコンドリアマトリックスにあって、酸化リン酸化に必要であることを以前報告していたが、その機能が不明であった。そこで、p32のノックアウトマウスを作製しその機能解析を行った<sup>38)</sup>。

p32の全身ノックアウトマウスは胎生致死であったため、p32<sup>-/-</sup>MEF細胞株を樹立した。p32<sup>-/-</sup>MEF細胞株は強い増殖能低下を示したが、mtDNA量もmRNA量も低下が認められないことから翻訳能の低下が疑われ、実際、ミトコンドリア内のタンパク質の合成は非常に強く低下していた。p32はpolyAに比較的高い親和性を示す非特異的RNA結合能を持っている。p32<sup>-/-</sup>MEF細胞ではミトコンドリアリボソームの小サブユニットと大サブユニットの量には大きな変化がない一方、両者が会合したタンパク質翻訳能を持つリボソームの形成が低下していた。実は、TFAMと共沈降されるタンパク質の中には多数のリボソームタンパク質が含まれていることから、ミトコンドリアリボソームはヌクレオイドと共局在していることが示唆される。これらのことから、p32は、ヌクレオイド上で転写されプロセッシングされたmRNAをヌクレオイド上でそのままリボソームへと導き、さらにその後リボソームの安定化にも働いていると考えている(図5)。このことはヌクレオイドが転写から効率的な翻訳を行うための足場としての役割も担っていることを示唆しており、TFAMとp32はその仲介役として機能しているであろう。

「がん細胞は好氣的条件下でも解糖系に依存したATP産生が亢進している」との1950年代になされた報告<sup>39)</sup>は、Warburg効果と呼ばれ、がん細胞のエネルギー代謝の最大の特徴として認められている。健康診断でも盛んに利用されるようになったPET検査によるがん検出の理論的根拠でもある。その効果のがん化における意義やその効果が引き起こされる機構は長い間あまり省みられることなく放置

### ミトコンドリア膜間腔

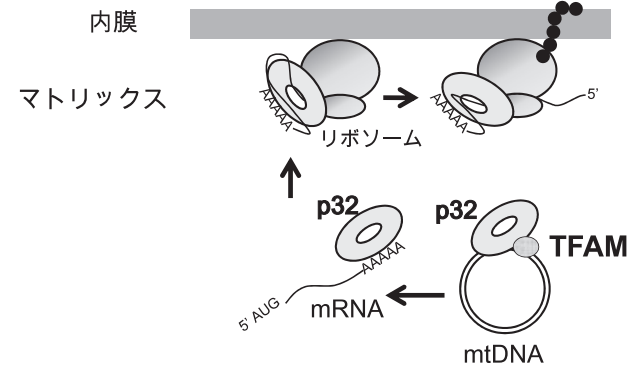


図5 p32によるミトコンドリア翻訳制御

されていた。近年、メタボローム解析の技術の発展により代謝状態の詳細な把握が可能となり、Warburg効果の分子的基盤の解明が進み、がん細胞ががんとしての特性を維持するために必要な基本的な代謝変化であり、単なる二次的な現象でないことが明らかになっている<sup>40)</sup>。

p32<sup>-/-</sup>MEF細胞では電子伝達系活性が障害され、活性酸素産生が亢進し、解糖系の亢進により野生型と同程度かむしろ高い細胞内ATP量を維持されており、一見Warburg効果を持つがん細胞と似た代謝状態を示すが、増殖能はきわめて低い。実際p32は多くのがん細胞で高発現しており、RNAiノックダウンによりその発現を低下させると増殖能は低下する。電子伝達系機能低下を引き起こすmtDNAの変異が増殖能を亢進させる例が報告されていることと対比して、がん細胞ががん細胞であることに求められるエネルギー代謝の本質を考える上で、p32<sup>-/-</sup>細胞は興味深い実験モデルとなると思われる。

### 6. おわりに

mtDNAの質と量を維持することは、単にエネルギー代謝の側面から細胞機能を維持するだけでなく、正常細胞としての特質性を維持することにつながるものが心不全、老化、がんにおけるTFAMの効果から示唆される。糖尿病を代表とするいわゆる生活習慣病、アルツハイマー病やパーキンソン病を代表とする加齢に関連した神経疾患で様々なミトコンドリア機能の変調が認められている。今後は一般的な疾患の発症や進展に関わる細胞内代謝やシグナル伝達の修飾あるいは制御因子として、ミトコンドリアの応答的な機能変化の解析が重要な課題となるであろう。

### 謝辞

本稿のなかで著者が関連した実験結果は、著者の研究室のメンバーおよび国内外の多くの研究者との共同成果であり、全ての共同研究者に心より感謝を表す。

## 文 献

- 1) Finkel, T. (2011) *J. Cell Biol.*, **194**, 7–15.
- 2) Fisher, R.P. & Clayton, D.A. (1988) *Mol. Cell. Biol.*, **8**, 3496–3509.
- 3) Parisi, M.A. & Clayton, D.A. (1991) *Science*, **252**, 965–969.
- 4) Takamatsu, C., Umeda, S., Ohsato, T., Ohno, T., Abe, Y., Fukuoh, A., Shinagawa, H., Hamasaki, N., & Kang, D. (2002) *EMBO Rep.*, **3**, 451–456.
- 5) Alam, T.I., Kanki, T., Muta, T., Ukaji, K., Abe, Y., Nakayama, H., Takio, K., Hamasaki, N., & Kang, D. (2003) *Nucleic Acids Res.*, **31**, 1640–1645.
- 6) Kanki, T., Ohgaki, K., Gaspari, M., Gustafsson, C.M., Fukuoh, A., Sasaki, N., Hamasaki, N., & Kang, D. (2004) *Mol. Cell. Biol.*, **24**, 9823–9834.
- 7) Yoshida, Y., Izumi, H., Torigoe, T., Ishiguchi, H., Itoh, H., Kang, D., & Kohno, K. (2003) *Cancer Res.*, **63**, 3729–3734.
- 8) Ngo, H.B., Kaiser, J.T., & Chan, D.C. (2011) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **18**, 1290–1296.
- 9) Rubio-Cosials, A., Sidow, J.F., Jimenez-Menendez, N., Fernandez-Millan, P., Montoya, J., Jacobs, H.T., Coll, M., Bernardo, P., & Sola, M. (2011) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **18**, 1281–1289.
- 10) Kukat, C., Wurm, C.A., Spahr, H., Falkenberg, M., Larsson, N. G., & Jakobs, S. (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 13534–13539.
- 11) Papa, S. (1996) *Biochim. Biophys. Acta*, **1276**, 87–105.
- 12) Beckman, K.B. & Ames, B.N. (1996) *Methods Enzymol.*, **264**, 442–453.
- 13) Kanki, T., Wang, K., Cao, Y., Baba, M., & Klionsky, D.J. (2009) *Dev. Cell*, **17**, 98–109.
- 14) Okamoto, K., Kondo-Okamoto, N., & Ohsumi, Y. (2009) *Dev. Cell*, **17**, 87–97.
- 15) Kurihara, Y., Kanki, T., Aoki, Y., Hirota, Y., Saigusa, T., Uchiumi, T., & Kang, D. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 3265–3272.
- 16) Ide, T., Tsutsui, H., Hayashidani, S., Kang, D., Suematsu, S., Nakamura, K., Utsumi, H., Hamasaki, N., & Takeshita, A. (2001) *Circ. Res.*, **88**, 529–535.
- 17) Suematsu, N., Tsutsui, H., Wen, J., Kang, D., Ikeuchi, M., Ide, T., Hayashidani, S., Shiomi, T., Kubota, T., Hamasaki, N., & Takeshita, A. (2003) *Circulation*, **107**, 1418–1423.
- 18) Clayton, D.A., Doda, J.N., & Friedberg, E.C. (1974) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**, 2777–2781.
- 19) Ichinoe, A., Behmanesh, M., Tominaga, Y., Ushijima, Y., Hirano, S., Sakai, Y., Tsuchimoto, D., Sakumi, K., Wake, N., & Nakabeppu, Y. (2004) *Nucleic Acids Res.*, **32**, 477–487.
- 20) Kang, D., Nishida, J., Iyama, A., Nakabeppu, Y., Furuichi, M., Fujiwara, T., Sekiguchi, M., & Takeshige, K. (1995) *J. Biol. Chem.*, **270**, 14659–14665.
- 21) Nishioka, K., Ohtsubo, T., Oda, H., Fujiwara, T., Kang, D., Sugimachi, K., & Nakabeppu, Y. (1999) *Mol. Biol. Cell*, **10**, 1637–1652.
- 22) Oka, S., Ohno, M., Tsuchimoto, D., Sakumi, K., Furuichi, M., & Nakabeppu, Y. (2008) *EMBO J.*, **27**, 421–432.
- 23) Khrapko, K., Coller, H.A., Andre, P.C., Li, X.C., Hanekamp, J. S., & Thilly, W.G. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 13798–13803.
- 24) Michikawa, Y., Mazzucchelli, F., Bresolin, N., Scarlato, G., & Attardi, G. (1999) *Science*, **286**, 774–779.
- 25) Payne, B.A., Wilson, I.J., Hateley, C.A., Horvath, R., Santibanez-Koref, M., Samuels, D.C., Price, D.A., & Chinnery, P.F. (2011) *Nat. Genet.*, **43**, 806–810.
- 26) Ikeuchi, M., Matsusaka, H., Kang, D., Matsushima, S., Ide, T., Kubota, T., Fujiwara, T., Hamasaki, N., Takeshita, A., Sunagawa, K., & Tsutsui, H. (2005) *Circulation*, **112**, 683–690.
- 27) Fujino, T., Ide, T., Yoshida, M., Onitsuka, K., Tanaka, A., Hata, Y., Nishida, M., Takehara, T., Kanemaru, T., Kitajima, N., Takazaki, S., Kurose, H., Kang, D., & Sunagawa, K. (2012) *Mitochondrion*, **12**, 449–458.
- 28) Polyak, K., Li, Y., Zhu, H., Lengauer, C., Willson, J.K., Markowitz, S.D., Trush, M.A., Kinzler, K.W., & Vogelstein, B. (1998) *Nat. Genet.*, **20**, 291–293.
- 29) Brandon, M., Baldi, P., & Wallace, D.C. (2006) *Oncogene*, **25**, 4647–4662.
- 30) Ishikawa, K., Takenaga, K., Akimoto, M., Koshikawa, N., Yamaguchi, A., Imanishi, H., Nakada, K., Honma, Y., & Hayashi, J. (2008) *Science*, **320**, 661–664.
- 31) Shidara, Y., Yamagata, K., Kanamori, T., Nakano, K., Kwong, J.Q., Manfredi, G., Oda, H., & Ohta, S. (2005) *Cancer Res.*, **65**, 1655–1663.
- 32) Horak, P., Crawford, A.R., Vadysirisack, D.D., Nash, Z.M., DeYoung, M.P., Sgroi, D., & Ellisen, L.W. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 4675–4680.
- 33) Guo, J., Zheng, L., Liu, W., Wang, X., Wang, Z., Wang, Z., French, A.J., Kang, D., Chen, L., Thibodeau, S.N., & Liu, W. (2011) *Cancer Res.*, **71**, 2978–2987.
- 34) Taylor, R.W., Barron, M.J., Borthwick, G.M., Gospel, A., Chinnery, P.F., Samuels, D.C., Taylor, G.A., Plusa, S.M., Needham, S.J., Greaves, L.C., Kirkwood, T.B., & Turnbull, D. M. (2003) *J. Clin. Invest.*, **112**, 1351–1360.
- 35) Trifunovic, A., Wredenberg, A., Falkenberg, M., Spelbrink, J. N., Rovio, A.T., Bruder, C.E., Bohlooly, Y.M., Gidlof, S., Oldfors, A., Wibom, R., Tornell, J., Jacobs, H.T., & Larsson, N.G. (2004) *Nature*, **429**, 417–423.
- 36) Kujoth, G.C., Hiona, A., Pugh, T.D., Someya, S., Panzer, K., Wohlgemuth, S.E., Hofer, T., Seo, A.Y., Sullivan, R., Jobling, W.A., Morrow, J.D., Van Remmen, H., Sedivy, J.M., Yamasoba, T., Tanokura, M., Weindruch, R., Leeuwenburgh, C., & Prolla, T.A. (2005) *Science*, **309**, 481–484.
- 37) Hayashi, Y., Yoshida, M., Yamato, M., Ide, T., Wu, Z., Ochi-Shindou, M., Kanki, T., Kang, D., Sunagawa, K., Tsutsui, H., & Nakanishi, H. (2008) *J. Neurosci.*, **28**, 8624–8634.
- 38) Yagi, M., Uchiumi, T., Takazaki, S., Okuno, B., Nomura, M., Yoshida, S.I., Kanki, T., & Kang, D. (2012) *Nucleic Acids Res.*, **40**, 9717–9737.
- 39) Warburg, O. (1956) *Science*, **123**, 309–314.
- 40) Schulze, A. & Downward, J. (2011) *Mol. Cell*, **44**, 846–848.