

氏名(本籍)	いし <sup>かわ</sup> <sup>かおり</sup> 石川香(茨城県)		
学位の種類	博 士 (理 学)		
学位記番号	博 甲 第 4989 号		
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	<b>Novel Function of Mitochondrial DNA: Its Involvement in Metastasis and Innate Immune Response</b> (ミトコンドリア DNA の新規機能：がん転移と自然免疫応答への関与)		
主 査	筑波大学教授	理学博士	林 純 一
副 査	筑波大学教授	理学博士	沼 田 治
副 査	筑波大学教授	博士(医学)	千 葉 智 樹
副 査	筑波大学准教授	博士(理学)	中 田 和 人
副 査	筑波大学准教授 (連携大学院)	博士(理学)	三 好 浩 之

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

ミトコンドリアは ATP の大部分の産生を担う重要な細胞内小器官で、動物細胞では唯一核外ゲノムを有することで知られている。mtDNA の病原性突然変異については、ミトコンドリア病と総称される様々な病態発症の原因となることが知られているうえ、近年になって神経変性疾患や糖尿病、がん、老化といった多様な疾患や生命現象への関与が指摘されている。その一方で、ミトコンドリアの ATP 産生機能に影響を与えない多型突然変異についてはほとんど注目されてこなかった。そこで、mtDNA の病原性突然変異と多型突然変異の両方について、それらが細胞の性質にどのような影響を与えるかを精査することを目的として、大きく分けて 2 つの研究を行った。

#### < PART 1 mtDNA の病原性突然変異が細胞の転移能に及ぼす影響の解析 >

mtDNA とがんとの関わりについては、がん細胞では mtDNA の変異率が高いといった状況証拠が報告される反面、mtDNA の遺伝様式に従って母性遺伝するがんの存在は知られておらず、両者の因果関係に対しては肯定的・否定的意見が双方提出されている。他方、既にごん化した細胞の悪性化のプロセス、すなわち浸潤性やアポトーシス耐性、転移能などと mtDNA の突然変異については、ほとんど検証されていない。そこで、がん細胞が有する特性の一つとして転移能に着目し、mtDNA の変異との関係を直接的に検証することを目的に研究を行った。

C57BL/6/J (B6) 系統マウスの肺がん由来する高転移性株 (All) と低転移性株 (P29) の mtDNA を細胞質移植法により完全に置換し、高転移性株由来の核と低転移性株由来の mtDNA を有する細胞 (AllmtP29) と、低転移性株由来の核と高転移性株由来の mtDNA を有する細胞 (P29mtAll) をそれぞれ樹立した。これらの細胞における転移能を比較したところ、P29mtAll は高転移性を、AllmtP29 は低転移性をそれぞれ示した。mtDNA の移植に伴って転移能も共に変化したことから、この細胞における転移能は mtDNA によって支配されていると考えられる。

mtDNA の配列を解析した結果, 高転移性株である All の mtDNA にのみ, 呼吸鎖酵素複合体 I のサブユニット遺伝子上にアミノ酸置換を起こして酵素活性を低下させる病原性突然変異 (G13997A) が見出された。複合体 I は主要な活性酸素 (ROS) の発生源であることから, 各細胞の ROS 産生量を比較したところ, 高転移性を示した細胞では ROS 量が明らかに増大していた。また, 高転移性の細胞では, 幾つかの転移関連遺伝子の発現量が上昇していることが明らかになった。ROS の scavenger として知られる抗酸化剤の一種を処理すると, ROS 産生量と同時に発現量増加が認められていた各タンパク質の発現量も定常状態にまで低下し, さらに転移能も抑制されることが判った。

以上の結果から, mtDNA の病原性突然変異が ROS 産生を介することで核にコードされた遺伝子の発現量を制御し, がん細胞の転移能を変化させるという一連のカスケードの存在を世界で, 初めて証明した。

#### <PART II mtDNA の多型突然変異が免疫細胞の認識パターンに与える影響の解析>

多型突然変異であっても細胞の ROS 産生量に影響を及ぼしうることを示唆する先行研究が発表されたことから, 多型突然変異によっても ROS の産生を介した転移能制御が誘導されるかもしれない。そこで, <PART I> で用いた P29 細胞の mtDNA 欠損株に B6 マウスと, 先行研究で ROS 産生が増えると報告された NZB マウスそれぞれの血小板を融合することによって, 核は P29 だが mtDNA は B6 または NZB 由来である細胞株 P29mtB6 と P29mtNZB を作製した。両細胞の ROS 産生と転移能を比較したところ, P29mtNZB では先行研究で確認されたような顕著な ROS 産生量の増加は認められず, 転移能の上昇も見られなかった。

ところが, P29mtB6 では腫瘍形成が認められたが, P29mtNZB では腫瘍が完全に拒絶されるという予想外の結果を得た。腫瘍拒絶には Recipient となったマウスの免疫系の関与が疑われる。解析を行った結果, P29mtNZB の拒絶には NK 細胞と, その Activator としての樹状細胞を主体とする自然免疫系が関与していることが示唆された。P29mtNZB のように核と mtDNA の由来が異なるという状況は, 再生医療の分野で, 期待の大きい核移植 ES 細胞などでヒトでも人工的に作られつつある。核移植 ES 細胞では核は患者と同一だが mtDNA は卵の提供者由来であるため, 何らかの拒絶反応が起こる可能性が否定できない。同様に, 近年注目を集める iPS (induced-pluripotent stem) 細胞も, その樹立や培養の間に mtDNA に特定の体細胞突然変異を蓄積して拒絶対象になる可能性を完全に排除することはできない。本研究は, mtDNA の多型突然変異が自然免疫応答の誘導という一見無関係な生体機能に関与することを示したばかりでなく, 移植医療の実施に当たってより慎重な検討を要することを喚起するものである。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本学位論文において石川氏は, mtDNA の突然変異ががん細胞の転移能獲得や自然免疫応答の誘導といった, これまでには考えられなかった多様な生命現象にも広く関与しているということをさまざまな実験事実を積み上げて証明した。よって, 本論文は学問的価値が高いと判断できる。

よって, 著者は博士 (理学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。