

氏名(本籍)	いまにしひろたけ 今西泰起(奈良県)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第6344号
学位授与年月日	平成24年11月30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	Studies on Novel Roles of Mammalian Mitochondrial Genomes (哺乳類ミトコンドリアゲノムにおける新機能の解析)

主査	筑波大学教授	理学博士	林純一
副査	筑波大学教授	博士(理学)	中田和人
副査	筑波大学教授	理学博士	沼田治
副査	筑波大学教授(連携大学院)	博士(理学)	三好浩之

論文の内容の要旨

ミトコンドリアは独自のDNAであるミトコンドリアDNA(mtDNA)を有する細胞小器官である。病原性突然変異がmtDNAにおこると、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。さらに、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ミトコンドリアの関与が指摘されている。その一方で、ミトコンドリアの呼吸活性に影響を及ぼさないmtDNA多型突然変異が生命現象に与える影響についてはあまり注目されていない。そこで、mtDNAの病原性と多型の双方の突然変異について、それらが生命現象にどのような影響を与えるかを精査し、哺乳類ミトコンドリアゲノムの新機能を解析することを目的として、大きく分けて3つの研究を行った。

まず、mtDNA突然変異が、がん細胞の転移能に与える影響についての検証を行った。mtDNA病原性突然変異によりミトコンドリア呼吸活性が低下したマウス肺がん細胞株において、ミトコンドリアから発生する活性酸素種(ROS)が転移能を制御しているという先行研究が所属研究室では行われた。しかし、これはあくまでマウスがん細胞株で行われたものであり、ヒトがん細胞における検証はなされていなかった。そこで、ヒトがん細胞を用いてmtDNA病原性突然変異のがん転移への関与機構について解明を進めた。

本来、ミトコンドリアは核DNAとmtDNAの両方の支配を受けているため、がん細胞におけるmtDNA由来の影響のみを検証することは難しい。しかし、核のバックグラウンドを統一し、mtDNAを完全に置換した細胞質雑種(サイブリッド)を作製することでこの問題点を克服した。このサイブリッド作製法を用いて、病原性突然変異をもつヒト高転移性乳がん細胞株MDA-MB-231のmtDNAを、突然変異をもたないヒト胎児繊維芽細胞(Fetal)由来のmtDNAに置換したサイブリッド(MDAmtFt)及び病原性突然変異をもつコントロール細胞(MDAmtMDA)を作製した。

これら2種のサイブリッドを用いて転移能評価を行った結果、MDAmtMDAで確認された病原性突然変異に起因すると考えられる活性低下は、MDAmtFtでは回復していた。さらに、病原性突然変異を有さないMDAmtFtはMDAmtMDAに比べて有意に肺への転移能が低いことがわかった。すなわち、病原性突然変異を有するmtDNAを、病原性突然変異をもたないmtDNAに置き換えることによって転移能は抑制された。この結果から、ヒトがん細胞においてもmtDNAの病原性突然変異が転移能に影響を与えていることを実験

的に立証することができた。

つぎに、老化促進表現型を示す SAMP 系統マウスと正常老化表現型を示す SAMR 系統マウスを用いて、mtDNA 突然変異が老化促進に与える影響の検証を行った。SAMP 系統の mtDNA にはアミノ酸置換を伴う A11181G 突然変異が存在しており、これはミトコンドリア呼吸酵素複合体 I のサブユニット ND4 をコードしている領域にある。SAMP 個体の組織においては複合体 I の活性低下を伴っているが、これは核とミトコンドリアの両方に依存する可能性が考えられ、A11181G 突然変異の関与を明確にできない。そのため、SAMP, SAMR それぞれの mtDNA を有するサイブリッドを作製し A11181G 突然変異の影響の検証を行った。

その結果、両サイブリッドは正常なミトコンドリア呼吸活性を維持しており、差は認められなかった。さらに老化などに重要な影響を与えていると考えられる ROS 産生量にも有意な差は無かったことから、SAMP 系統の mtDNA における A11181G 突然変異は呼吸活性低下には関与しない多型突然変異であり、SAMP 個体で観察された組織の呼吸活性低下は核 DNA にコードされる複合体サブユニットの異常によるものと考えられる。よって、SAMP 系統でみとめられる老化促進表現型には A11181G の mtDNA 突然変異は関与していないと示唆することができた。

最後に、mtDNA 突然変異が自然免疫反応に与える影響についての検証も行った。ミトコンドリア呼吸活性に直接的な影響を及ぼさない mtDNA 多型突然変異が生命現象に与える影響についてはあまり研究がなされてこなかった。だが、所属研究室により同種異系統由来の mtDNA を有するサイブリッドが自然免疫系により選択的に排除されるという報告がなされた。しかし、この研究においては同種異系統 mtDNA を有するサイブリッドが、どのようなメカニズムによって認識され、どのように排除されるのかという事は未解明のままであった。そこで、自然免疫系により同種異系統由来 mtDNA の何が認識され、どのように排除へと至るのかという詳細なメカニズムを解明するべく研究を行い、その結果、自然免疫系で重要な役割を果たす樹状細胞やマクロファージの解析から、同種異系統 mtDNA の認識と選択的排除に関わる責任細胞の特定と自然免疫受容体および関与するシグナル分子を絞り込むことができた。

以上の研究成果により、ヒト乳がん細胞においても mtDNA 病原性突然変異を介して、従来マウスで証明されていたのとは異なる新しい転移能制御メカニズムを明らかにする事が出来た。このメカニズムをさらに明らかにする事により、がん転移の抑制や治療が可能になると考えられる。また、自然免疫系によって mtDNA 多型突然変異が認識されるメカニズムにおいて重要な免疫系細胞とサイトカインの同定を行う事が出来た。この結果より、今まであまり注目されてこなかった mtDNA 多型突然変異というもの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ことが可能である。これらの研究成果より、従来は細胞内で ATP を産生するだけであると考えられてきたミトコンドリアが、がん細胞の転移能獲得や免疫反応の誘導といった多様な生命現象に広く関与し、その新しいメカニズムの一端を示唆することでできたという点で非常に重要な知見を示すことができたと考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本学位論文において今西泰起氏は mtDNA 病原性突然変異がヒトがん細胞において活性酸素を介さずに転移能を制御することを解明した。これは、従来マウスで確認されていた転移制御のメカニズムとは異なる新しいメカニズムであり、ヒトがん細胞における診断や治療に応用できる可能性がある。また、今まであまり注目されてこなかった mtDNA 多型突然変異が自然免疫系によって認識、排除されるという新奇機構の一部を明らかにした。この結果は、mtDNA 多型突然変異というものが移植医療の際の重要なファクターとなりえることも示している。これらの結果から、ミトコンドリアが従来考えられていた機能以外に多様な生命現

象に関わっている事を示したという点で価値が高い研究を行なったと言える。

平成 24 年 9 月 25 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

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。