

【総説】

哺乳類ミトコンドリアゲノムの突然変異ががん化と老化に与える影響

林 純一

筑波大学

要約

老化ミトコンドリア原因説によると、加齢に伴いミトコンドリアゲノム (mtDNA) に後天的に蓄積する突然変異 (体細胞突然変異) はミトコンドリアの呼吸活性低下を引き起こすため老化の原因になるという。さらにこの仮説では、老化のみならずがん化を含む老化関連疾患にも mtDNA の体細胞突然変異が関与しているというが、これらはすべて状況証拠の積み重ねの結論である。その後、mtDNA 複製酵素の校正機能を破壊したマウス (ミューテーターマウス) が作製され、mtDNA の体細胞突然変異が高頻度で誘発される結果、早期老化表現型を発現し短命であることが示された。これによってこの仮説はより強固なものとなり現在でも多くの研究者に支持されている。一方筆者らはこの仮説を検証するため mtDNA の細胞間移植や、高齢者由来の繊維芽細胞の初期化などを行った。その結果、少なくともヒト繊維芽細胞では加齢に伴うミトコンドリア呼吸活性低下は mtDNA の突然変異ではなく核ゲノムのゲノム修飾が原因であり、可逆的なプロセスであることを立証した。

キーワード: Human aging; Metastasis; mtDNA mutations; mtDNA exchange; Epigenetic regulation

1. 背景

超高齢化社会を迎えた我国においては、老化や老化関連疾患の問題解決が急務であるが、特に老化に伴うミトコンドリアの呼吸活性低下 (呼吸欠損) がこれらの問題の根源に位置しているといわれている。ミトコンドリアはすべての真核生物に存在し生体エネルギー産生において重要な役割を果たしており、その中には核ゲノムとは独立した固有のゲノム (ミトコンドリアゲノム; mtDNA) が存在している。

mtDNA に存在する遺伝子はすべて酸化的リン酸化による生体エネルギー産生に関係しているが、エネルギー産生の副産物として活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) がミトコンドリア内に発生する。ミトコンドリアはさらに外的因子である化学発がん物質なども吸着することから、ミトコンドリア内に存在する mtDNA はこの外的因子と同時に内的因子である ROS

の影響を受けることになり、結果として核ゲノムよりも高頻度で突然変異が蓄積するといわれている。

このような背景から、mtDNA 突然変異の蓄積と、その結果生じる呼吸欠損はミトコンドリア病の原因となるだけでなく、老化や老化関連疾患 (がん化、糖尿病等の生活習慣病、パーキンソン病等の神経変性疾患) の原因にもなるという仮説「老化ミトコンドリア原因説」が提出された [1-6]。仮にそうだとすると、mtDNA 突然変異は加齢とともに蓄積することで、われわれ一人ひとりの健康にも重大な影響を与えていることになる。

2. mtDNA 突然変異とがん化との関係

通常酸素分圧から低酸素分圧になると細胞内では解糖系が上昇してエネルギー産生をまかなう。一方、ミトコンドリアの呼吸活性が低下するとエネルギー欠損になるため、その補完作用として通常酸素分圧でも解糖系が上昇する。これがワールブルグ効果である。通常酸素分圧で解糖系が上昇していると、がん細胞の増殖によりがん細胞が低酸素状態におかれても生存が可能になることから、通常酸素分圧での解糖系の上昇は細胞のがん化の前段階と考えられている [7-10]。もちろん、mtDNA の病原性突然変異も通常酸素分圧での呼吸欠損と解糖系上昇を誘発することになるので、十分のがん化の原因になり

連絡先: 林 純一 〒305-8572

茨城県 つくば市 天王台 1-1-1

TEL: 029-853-6650

FAX: 029-853-6614

E-mail: jih45@biol.tsukuba.ac.jp

得る [1-3]。

もしこの仮説が正しければ、ミトコンドリア病患者さんはがんの発症頻度が上昇するはずである。また mtDNA は母性遺伝するため、mtDNA 突然変異が原因でがんを発症した場合、その突然変異を持つ mtDNA が母親の生殖細胞に存在すれば、母性遺伝するがんが存在してもおかしくないはずである。それにもかかわらず実際にこの二つの事実をきちんとした統計学的有意差をもって証明した報告例は一切存在しない。

しかし、実際にがん組織には正常組織に比べ mtDNA の突然変異が蓄積されているという結果が続々と報告されている [11-13]。ちなみにそのほとんどは呼吸活性に影響を与えない突然変異、すなわち多型突然変異であるため、ワールブルグ効果を引き起こさないが、これをもって mtDNA 突然変異ががん化の原因だとしている。しかし、これらはすべて並行現象であり、mtDNA の多型突然変異が呼吸欠損を誘発せずにいかにしてがん化を引き起こすのかという道筋すら示されていない。

そもそも細胞のがん化は正常組織中の一つの細胞に起こり、このがん細胞が悪性化して抑制のきかない増殖を始めるため、がん組織は正常組織の中の一つの細胞由来のクローンに相当する。一方、周辺の正常組織は多様な細胞から構成されているので、その「平均値」としての mtDNA の塩基配列を比較した場合、両者の間に差が出てくるのは当たり前の話である。したがって本来なら一つのがん細胞と周辺組織の一つの正常細胞を用いて比較しなければならないところである。

さらにいえば、がん化の原因が mtDNA の突然変異にあるのか、それとも核ゲノムの突然変異にあるのかを決めるために両者の塩基配列を比較しても何も結論は出てこないはずである。大量に出てくる塩基配列の差のカ

タログから、どれががん化の原因でどれがそうでないのかを区別することは難しい。仮に一つの塩基の差しかなかったとしても、本当のその突然変異ががん化の原因なのかを判定するのは不可能である。

そこで筆者らはまず正常細胞とがん細胞の間で mtDNA を交換した細胞を樹立し、この細胞の表現型を比較することで、がん化の原因が mtDNA にあるのか核ゲノムにあるのかを判定した (図 1A)。そこでもし mtDNA にその原因があることが明らかになったら、その時こそは両者の塩基配列を比較することで原因突然変異を特定するという戦略を立てた。しかしこれまでにヒトやマウスの細胞を使ってそれぞれの種の正常細胞とがん細胞の間で mtDNA 交換をしたが、ことごとくがん化の原因は mtDNA ではなく核ゲノム側にあった [14, 15]。

次に、がん化という表現型ではなく、がんの悪性化 (例えば、がん転移) という、がんに関係する別の表現型に着目した。マウスの肺がん細胞で低転移性を示す細胞株と高転移性を示す細胞株の間でミトコンドリアの呼吸活性を比較したところ、高転移性の細胞株で呼吸鎖酵素複合体 I の活性が著しく低下していた。そこで両者の間で mtDNA を交換した細胞を樹立し、「高転移性」と「呼吸鎖酵素複合体 I の活性低下」という 2 種類の表現型の原因がどちらのゲノムにあるかを調べた。その結果両方の表現型ともに mtDNA 側にその原因があることが明らかになった (図 1B)。

そこで両者の mtDNA の全塩基配列を比較した結果、高転移性を示す細胞株の mtDNA の ND6 遺伝子 (呼吸鎖酵素複合体 I を構成するサブユニットの一つである ND6 をコードしている遺伝子) に一つの突然変異 (G1397A) が存在することが判明した。ただしがん転移を誘発すると想定されるこの突然変異 mtDNA

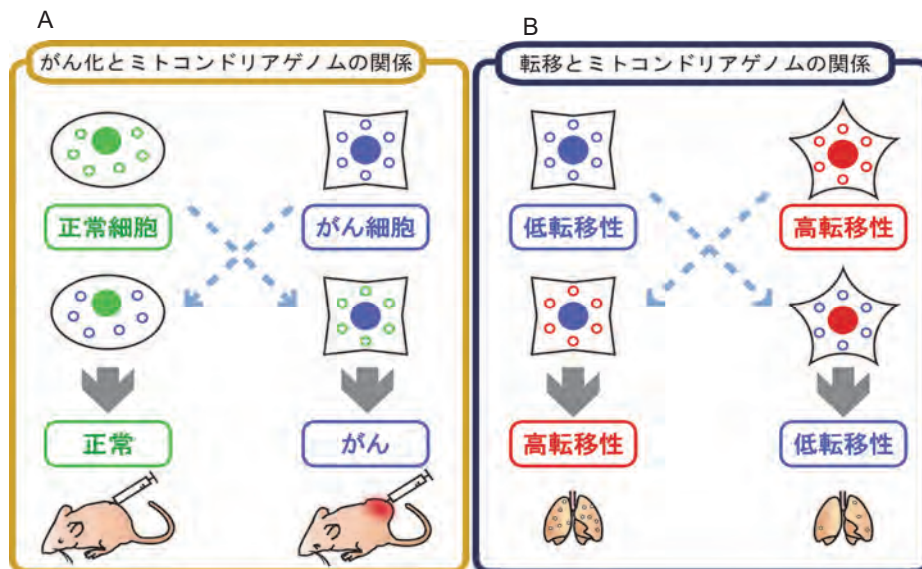


図 1 ミトコンドリアゲノムはがんの表現型と関係あるのか：mtDNA 交換を用いた研究

正常細胞とがん細胞の間で mtDNA を交換しても、核ゲノムががん細胞由来であればがん化したままである (A)。これに対し低転移性と高転移性のがん細胞の間で mtDNA を交換すると mtDNA が高転移性がん細胞由来であれば高転移性を示す (B)。

(G13997A mtDNA) をマウスの正常細胞に移植してもがん化は誘発しなかった。またこの突然変異により呼吸欠損と同時に ROS の過剰産生が誘発されるため抗酸化剤処理したところ、高転移性の発現が抑制されたことから、高転移性の誘発は G13997A mtDNA による呼吸欠損が原因なのではなく、呼吸欠損の副産物として過剰に発生した ROS が原因であることが明らかになった [16 - 20]。

しかし、これらの結果はすべて培養がん細胞で得られたものであるため、ROS の過剰産生を誘発する G13997A mtDNA が実際の生体内ではどのような表現型に影響を与えるのかは不明である。そこでこの問題を解決するために G13997A mtDNA を培養がん細胞からマウスの雌の生殖細胞系列に導入した。そのために先ずこの G13997A mtDNA を XO タイプ (雌型) のマウス ES 細胞に導入し、キメラマウス作製後、この G13997A mtDNA をさまざまな割合で持つ新奇ミトマウス (ミトマウス ND6M) を樹立した [21]。

ミトマウス ND6M は呼吸鎖酵素複合体 I の活性が低下していたことから、若年で発症し母性遺伝するとされるミトコンドリア病の一種であるレーバー病 (LHON; 遺伝性神経萎縮症) のモデルになり得る [21]。なぜかという、この疾患では mtDNA にコードされる 7 種類の ND 遺伝子群 (ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5, ND6) のいずれかに高頻度で突然変異が存在しているからである。ND 遺伝子群は呼吸鎖酵素複合体 I のサブユニットをコードしており、これらの遺伝子群の突然変異によって生じる呼吸欠損や ROS の漏出が若年での疾患発症原因とされている [2]。また、男性の発症率が極めて高いことから核ゲノムの Y 染色体遺伝子の関与も示唆されている [2]。しかし、少なくとも若年 (3 ヶ月齢) のミトマウス ND6M の視神経には雌雄ともに異常はなかった [21]。

次にミトマウス ND6M の生存曲線と腫瘍発生率を見るため、核背景が同じ B6 系統マウスをコントロールにして比較したところ、両者の平均寿命に有意差はなかった。この結果は ROS を漏出する G13997A mtDNA は老化を促進しないことを示唆している [22]。また自然死したマウスの剖検と組織化学的解析から、リンパ腫発症頻度が B6 系統マウスの約 5 倍になることが示された [22]。一方、18 ヶ月齢のミトマウス ND6M では呼吸鎖酵素複合体 I の活性低下に加え、高血糖症と骨髄細胞での ROS の有意な増加が確認できた。

これらの結果は ROS の過剰産生と高転移性を誘発する G13997A mtDNA は生体内では高血糖症とリンパ腫の原因になることを示唆している [22]。さらに抗酸化剤の投与により ROS 産生を抑制することで、ミトマウス ND6M が示した高血糖症とリンパ腫の発症は著しく抑制されたことから、これらの原因が呼吸欠損にあるというよりは ROS の過剰産生にあると推察された [23]。

ここで問題となるのは、さきほどのレーバー病のように突然変異 mtDNA 単独でこれらの症状を発症したのではなく、なんらかの B6 マウス系統の核背景も発症に

必須なのかということである。なぜなら他のマウス系統と異なり、B6 系統は 1 割程度のリンパ腫を自然発症するからである。

そこでミトマウス ND6M の雌を A/J 系統 (リンパ腫を発症しない系統) の雄に戻し交配し、これを 8 回以上繰り返すことでミトマウス ND6M の核背景を A/J 系統に置き換えてリンパ腫の発症頻度を調べた。その結果、生存曲線には影響がなかったがリンパ腫はまったく発症しなかった。この結果は、(1) リンパ腫がミトマウス ND6M の死因になっていないこと、そして (2) G13997A mtDNA が単独でリンパ腫を誘発したのではなく、B6 系統の核背景に存在する何らかの異常の存在も必須であることを示している [24]。

このように mtDNA の突然変異が高転移性やリンパ腫の発症を誘発する可能性があるため、ヒトでも母性遺伝するがん転移やリンパ腫が存在するかもしれない。しかし mtDNA 突然変異単独では何事も起こらず何らかの核ゲノムの異常が十分条件として必須である。したがってこれら両方の条件を満足する症例は極めて希であることから、母集団を厳選せずに統計学的処理をしても有意差が出るのは難しい状況にある。ここでいう母集団の厳選とは、たとえば mtDNA の ND 遺伝子群に ROS 過剰産生を誘発する突然変異をもつことが証明された集団のみを選ぶことである。

3. mtDNA 突然変異と老化との関係

老化ミトコンドリア原因説によると、呼吸欠損を誘発する mtDNA の突然変異 (病原性突然変異) は全人類の宿命である老化や老化関連疾患にも関与するという。つまり加齢に伴う「mtDNA 突然変異蓄積」により「呼吸欠損」が誘発され、この「呼吸欠損」が「ROS 漏出量増大」を誘発し、「ROS 漏出量増大」はさらなる「mtDNA 突然変異蓄積」を誘発するという、この三者の悪循環が存在することで老化や老化関連疾患を発症するというのである (図 2A)。

ここで問題となるのは、なぜ核ゲノムではなく mtDNA の突然変異が老化の原因になるのかという点である。そもそもこの三者 (mtDNA 突然変異蓄積、呼吸欠損、ROS 漏出) の悪循環はすべて状況証拠の積み重ねで、ヒトの老化現象においてお互いの因果関係を直接証明した証拠はどこにも存在しない。

この仮説を検証するため筆者らは高齢者由来と若年者由来の繊維芽細胞の mtDNA を、それぞれ mtDNA を除去した HeLa 細胞へ移植した [25]。また、高齢者由来の繊維芽細胞に HeLa 細胞の核ゲノムのみを移植し呼吸活性に与える影響を調べた [26]。結果はいずれも高齢者由来の繊維芽細胞が発現しているミトコンドリア呼吸欠損の原因が mtDNA の突然変異ではなく、核ゲノムの劣性突然変異であることを示していた (図 2B)。

しかし、2004 年と 2005 年にこの老化ミトコンドリア原因説を支持するマウスの研究が相次いで報告され [27, 28]、この分野の研究者に広く支持されるようになった。この二つの研究はともに、まず mtDNA 複製酵素の校

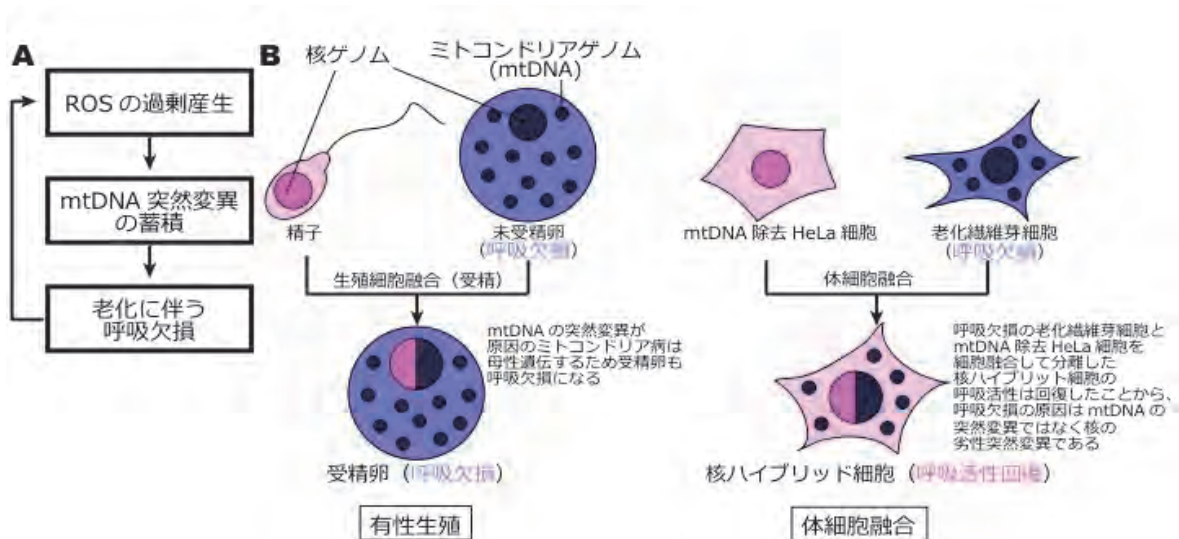


図2 老化に伴う呼吸欠損の原因は mtDNA にあるのか核 DNA にあるのか？

A: mtDNA の突然変異にあるとする老化ミトコンドリア原因説

B: 体細胞遺伝学的手法により母性遺伝ではなく核側の劣性遺伝とする仮説

通常の生殖では mtDNA に原因があれば受精卵も呼吸欠損になる。

体細胞遺伝学的手法を使うと、呼吸欠損は核側の劣性変異にあることが判明。

濃いピンク色は正常な核ゲノム、濃紺は呼吸活性低下を誘発する可能性のある核ゲノムと mtDNA。正常な呼吸活性を持つ細胞は細胞質をピンク色、呼吸欠損の場合は細胞質を青色に着色した。

正機能を人工的に破壊したマウス（ミュートーターマウス）を作製した。このマウスは mtDNA 複製の際に生じるエラーを校正できないため、このエラーがそのまま体細胞突然変異として固定されてしまう。その結果、通常よりも遥かに速いスピードで mtDNA に大量の体細胞突然変異が蓄積し、誕生後数ヶ月程度でミトコンドリアの呼吸欠損が誘発され、最終的には早期老化症状（白髪化、脊柱後湾、筋萎縮など）を発症して、本来2年半あるマウスの寿命が1年に短縮されたというのである。この研究結果から、mtDNA に後天的に蓄積された突然変異がミトコンドリアの呼吸欠損を誘発し、その結果早期老化症状を発現し、寿命を縮めたと結論づけることができる。これはまさに老化ミトコンドリア原因説を見事に立証した研究成果といえる。ただし、このマウスは「ROSの漏出」は全く観察されなかったという。また通常のマウスでは老化してもこのような呼吸欠損にはならないことから、ミュートーターマウスはマウスの老化ではなくヒトの老化モデルだという。

この研究結果は筆者らによっても確認された [29]。しかし筆者らの「ミュートーターマウス」は、核ゲノムの背景が B6 系統で、同じ B6 系統の核背景でかつて筆者らが作製したミトコンドリア病モデルマウスである「ミトマウスΔ」[30, 31] と極めて症状が似ていたのである [29]。このミトマウスΔは大規模欠失突然変異をもつマウス mtDNA を受精卵に導入することで作製された。ミトマウスΔの組織に存在する大規模欠失突然変異 mtDNA が8割を超えるとその組織が呼吸欠損になり、その呼吸欠損になった組織でのみ病態が発症することを示すことができた。その意味では、このミュート

ターマウスは「老化モデル」というより「ミトコンドリア病モデル」といった方が適切であるように思えた。

以上、ここまでではヒトの老化や老化に関連したミトコンドリアの呼吸欠損の原因が mtDNA の突然変異か、それとも核ゲノムの突然変異かという前提で議論してきた。しかし、「分化」がそうであるように、「老化」も突然変異ではなくゲノム修飾が原因であるという可能性は残されている。当時としてはこの問題を解決する手段はなかったが、その後の2つの技術革新によりこの可能性を直接調べるチャンスが提供されたのである。

その第一が iPS 細胞 (induced pluripotent stem cells; 人工多能性幹細胞) 樹立法である [32, 33]。分化した細胞の初期化の成功は、この手法を老化した細胞にも活用する道を拓いた。老化に伴う呼吸欠損の原因がゲノム突然変異でなくゲノム修飾であるとするれば、高齢者由来の細胞から iPS 細胞を樹立して初期化することで同時に「老化に伴う呼吸機能低下」も初期化できるはずである。

筆者たちはまず複数の若年者と高齢者から提供されたヒト繊維芽細胞を iPS 細胞にしてから再び繊維芽細胞に分化させた。その結果、加齢にともなう呼吸機能低下は解消され、若年者から提供された繊維芽細胞のレベルにまで呼吸機能が回復することを見いだした。したがってこの老化現象は可逆的であることから、その原因が mtDNA や核ゲノムの突然変異にあるのではなく、核ゲノムのゲノム修飾にあると考えられる [34-36] (図 3A, B)。

第二の技術革新は次世代シーケンサーの開発である。核ゲノムは各細胞に原則として2コピーしか存在しない

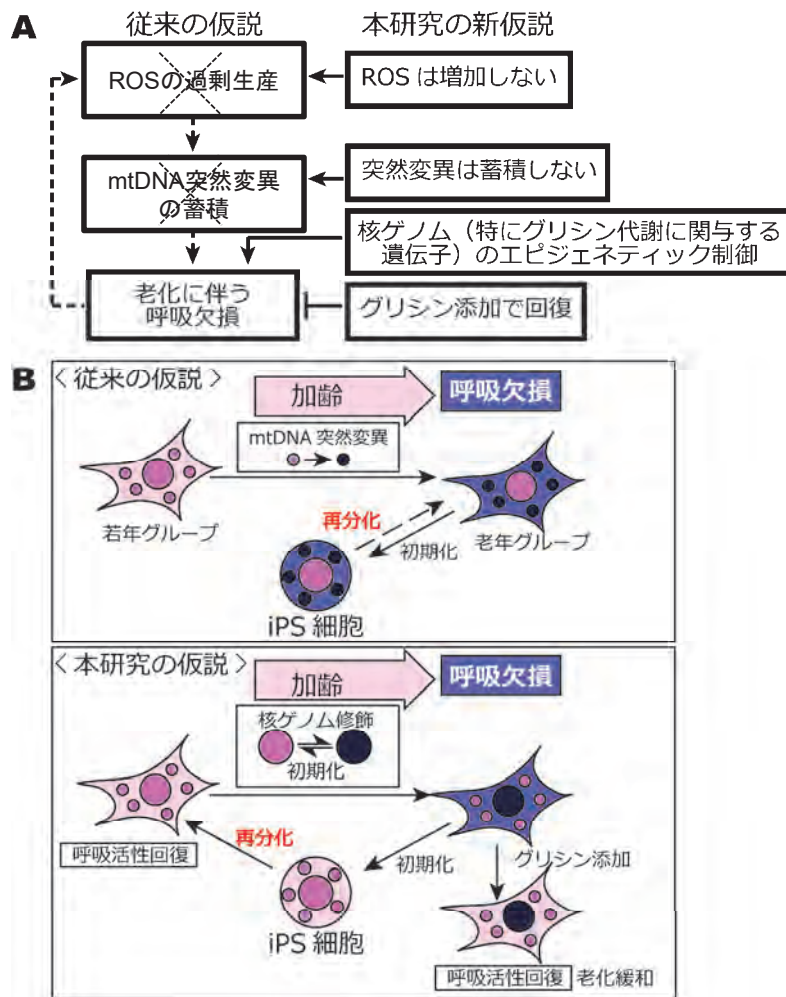


図3 老化に伴う呼吸欠損は核ゲノムのゲノム修飾にあるという筆者らの新仮説

- A. 新仮説の模式図
- B. 新仮説の図解

が mtDNA は数千コピーもの集団として存在している。したがって加齢とともに mtDNA に体細胞突然変異が蓄積しても数千コピーの mtDNA 分子のごく一部にランダムにしか存在しないため、従来のシーケンサーで mtDNA 集団全体の平均的塩基配列を決めてもこのような体細胞突然変異は検出できない。しかし次世代シーケンサーを使用すると、同じ場所の塩基配列を 10 万回以上解析できるため、仮に特定の塩基番号の体細胞突然変異が細胞集団全体に存在する mtDNA の 10 万個に一カ所しかなくてもその存在を突き止めることが可能である。

今回この手法で複数の若年者由来と高齢者由来の繊維芽細胞の mtDNA を解析したところ、理由は不明であるが両者の間で体細胞突然変異の頻度に全く優位差が検出されなかった。ちなみに両者の間で ROS 産生量も有意差がなかった [34-36]。

これらの結果は、理論的には老化した組織の若返りは可能であることを示している。仮に繊維芽細胞以外の他のどの組織でも同じような仕組みで老化をしているとすれば、たとえば自分の皮膚（角化細胞）を初期化後再分

化させ自分に移植することでその部分の皮膚の若返りが可能になるはずである。

さらに若年者と高齢者の繊維芽細胞間、および初期化前と後の繊維芽細胞間での遺伝子発現パターンの比較から、ミトコンドリア内のグリシン合成に関与している遺伝子の発現低下が老化に伴う呼吸欠損の原因の一つである可能性が明らかになった。そこで、培養液中にグリシンを添加したところ、高齢者の繊維芽細胞での呼吸活性の回復が観察されたことから、グリシン摂取が老化に伴う呼吸欠損の改善に効果がある可能性が示された [34-36] (図 3A, B)。

ただし、今回の発見はあくまでもヒト繊維芽細胞の老化に伴う呼吸欠損の仕組みであり、これをヒトの他の組織や老化現象全般にまで普遍化できるか否かは今後の研究課題である。

謝辞

筆者と共同研究して頂いた方々に、この場を借りて深く感謝致します。

引用文献

- [1] Larsson N-G, Clayton DA. Molecular genetic aspects of human mitochondrial disorders. *Annu Rev Genetics* 29:151-178, 1995.
- [2] Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 283: 1482-1488, 1999.
- [3] Taylor RW, Turnbull, DM. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nature Rev Genet* 6: 389-402, 2005.
- [4] Jacobs, HT. (2003) The mitochondrial theory of aging: dead or alive? *Aging Cell* 2: 11-17, 2003.
- [5] Khrapko, K, Vijg, J. Mitochondrial DNA mutations and aging: devils in the details? *Trends Genet* 25: 91-98, 2008.
- [6] Bratic A, Larsson NG. The role of mitochondria in aging. *J Clin Invest* 123: 951-957, 2013.
- [7] Baysal BE, *et al.* Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science* 287: 848-851, 2000.
- [8] Niemann S, Muller U. Mutations in SDHC cause autosomal dominant paraganglioma, type3. *Nat Genet* 26: 268-270, 2000.
- [9] Gottlieb E, Tomlinson IP. Mitochondrial tumor suppressors: a genetic and biochemical update. *Nat Rev Cancer* 5: 857-866, 2005.
- [10] Koppenol WH, Bounds PL, Dang CV. Otto Warburg's contributions to current concepts of cancer metabolism. *Nat Rev Cancer* 11: 325-337, 2011.
- [11] Polyak K, *et al.* Somatic mutations of the mitochondrial genome in human colorectal tumors. *Nat Genet* 20:291-293, 1998.
- [12] Fliss MS, *et al.* Facile detection of mitochondrial DNA mutations in tumors and bodily fluids. *Science* 287: 2017-2019, 2000.
- [13] Yiping H, *et al.* Heteroplasmic mitochondrial DNA mutations in normal and tumor cells. *Nature* 464: 610-614, 2010.
- [14] Hayashi J-I, Werbin H, Shay JW. Effects of normal human fibroblast mitochondrial DNA on segregation of HeLaTG mitochondrial DNA and on tumorigenicity of HeLaTG cells. *Cancer Res.* 46: 4001-4006, 1986.
- [15] Akimoto M, *et al.* Nuclear DNA but not mtDNA controls tumor phenotypes in mouse cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 327: 1028-1035, 2005.
- [16] Ishikawa K, *et al.* ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis. *Science* 320: 661-664, 2008.
- [17] Ishikawa K, *et al.* Enhanced glycolysis induced by mtDNA mutations does not regulate metastasis. *FEBS Lett* 582: 3525-3530, 2008.
- [18] Koshikawa N, *et al.* Reactive oxygen species-generating mitochondrial DNA mutation up-regulates hypoxia-inducible factor-1 α gene transcription via phosphatidylinositol 3-kinase-Akt/protein kinase C/histone deacetylase pathway. *J Biol Chem* 284: 33185-33194, 2009.
- [19] 石川香、竹永啓三、林 純一 エネルギー代謝転換とがん：解糖系亢進と悪性化は関係するか. *実験医学* 26: 2067-2073, 2008.
- [20] 石川香、林 純一 ミトコンドリアと疾患：ミトコンドリアDNAの新規機能. *医学のあゆみ* 232: 729-734, 2010.
- [21] Yokota, M, *et al.* Generation of trans-mitochondrial mito-mice by the introduction of a pathogenic G13997A mtDNA from highly metastatic lung carcinoma cells. *FEBS Lett.* 584: 3943-3948, 2010.
- [22] Hashizume O, *et al.* Specific mitochondrial DNA mutation in mice regulates diabetes and lymphoma development. *Proc Natl Acad Sci USA* 109: 10528-10533, 2012.
- [23] Yamanashi H, *et al.* Administration of an antioxidant prevents lymphoma development in trans-mitochondrial mice overproducing reactive oxygen species. *Exp. Anim.* 63: 459-466, 2015.
- [24] Hashizume O, *et al.* A specific nuclear DNA background is required for high frequency lymphoma development in trans-mitochondrial mice with G13997A mtDNA. *PLOS ONE* 10: e0118561, 2015.
- [25] Hayashi J-I, *et al.* Nuclear but not mitochondrial genome involvement in human age-related mitochondrial dysfunction. *J Biol Chem* 269: 6878-6883, 1994.
- [26] Isobe K, *et al.* Nuclear-recessive mutations of factors involved in mitochondrial translation are responsible for age-related respiration deficiency of human skin fibroblasts. *J Biol Chem* 273: 4601-4606, 1998.
- [27] Trifunovic A, *et al.* Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature* 429: 417-423, 2004.
- [28] Kujoth GC, *et al.* Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science* 309: 481-484, 2005.
- [29] Mito T, *et al.* Mitochondrial DNA mutations in mutator mice confer respiration defects and B-lymphoma development. *PLOS ONE* 8: e55789, 2013.
- [30] Inoue K, *et al.* Generation of mice with mitochondrial dysfunction by introducing mouse mtDNA carrying a deletion into zygotes. *Nat Genet* 26: 176-181, 2000.

- [31] Nakada K, *et al.* Inter-mitochondrial complementation: Mitochondria-specific system preventing mice from expression of disease phenotypes by mutant mtDNA. *Nat Med* 7: 934-940, 2001.
- [32] Takahashi, K, *et al.* Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131: 861-872, 2007.
- [33] Okita, K, *et al.* A more efficient method to generate integration-free human iPS cells. *Nat Methods* 8: 409-412, 2011.
- [34] Hashizume O, *et al.* Epigenetic regulation of the nuclear-coded GCAT and SHMT2 genes confers human age-associated mitochondrial respiration defects. *Sci. Rep.* 5: 10434, 2015.
- [35] 清水章文ら 核コードのGCAT遺伝子とSHMT2遺伝子のエピジェネティック制御がヒトの加齢に伴うミトコンドリア呼吸欠損を誘発する. *細胞工学* 34: 1078-1079, 2015
- [36] Hayashi, J-I, *et al.* Mutations in mitochondrial DNA regulate mitochondrial diseases and metastasis but do not regulate aging. *Current Opinion in Genetics and Development* 38: 63-67, 2016.

Effects of mutations in mammalian mitochondrial genomes on tumor phenotypes and aging

Jun-Ichi Hayashi
University of Tsukuba

Abstract

The mitochondrial theory of aging proposes that age-associated accumulation of somatic mutations in mitochondrial genome (mtDNA) is responsible for the age-associated respiration defects and the resultant expression of aging and age-associated disorders including tumor phenotypes. This idea is supported partly by the findings that mtDNA mutator mice expressing a proofreading-deficient mtDNA polymerase show accelerated accumulation of somatic mutations in mtDNA, resulting in the expression of mitochondrial respiration defects, premature aging phenotypes, and short lifespan. In contrast, our findings propose that age-associated respiration defects observed in elderly human fibroblasts are not due to mutations in mtDNA, but to epigenetic downregulation of nuclear-coded genes on the basis of the observations that the age-associated respiration defects is restored by reprogramming of the elderly human fibroblasts.

Keywords : Human aging; Metastasis; mtDNA mutations; mtDNA exchange; Epigenetic regulation