

2006年8月11日

独立行政法人 理化学研究所

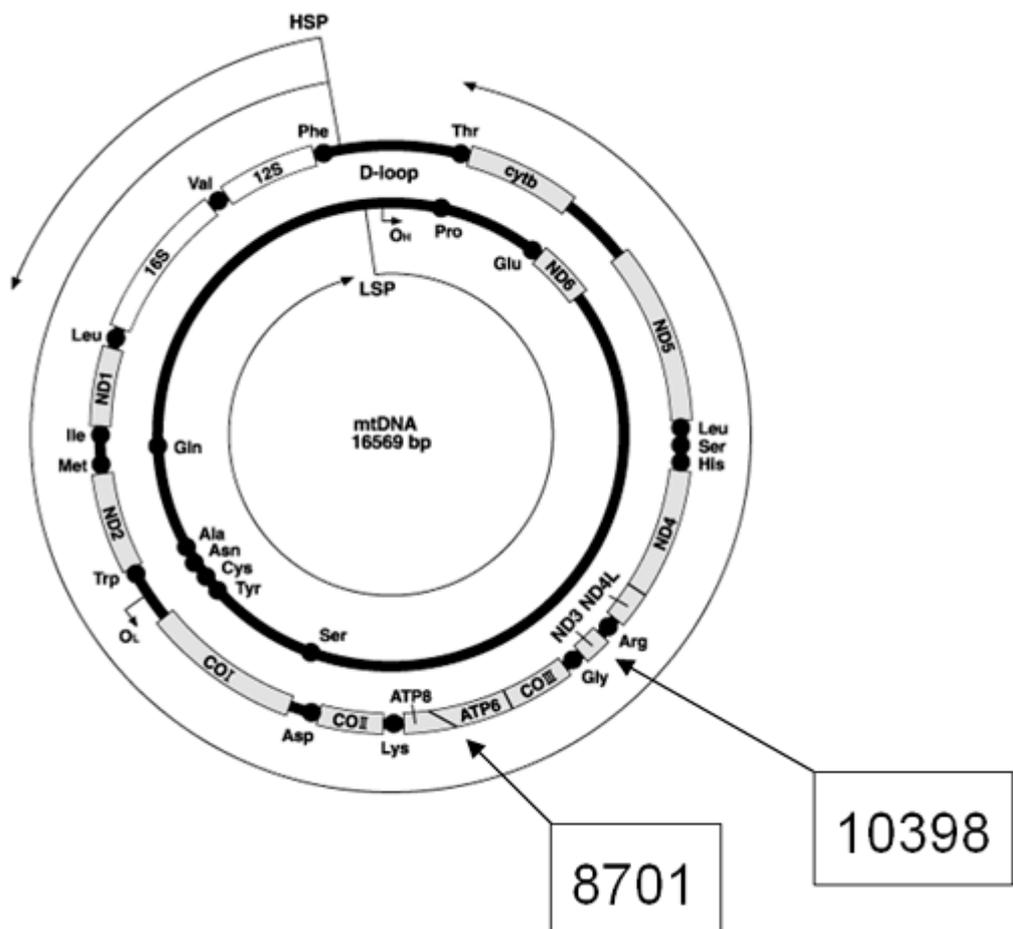
細胞の働きに影響するミトコンドリア DNA の個人差を特定

- 日本人が長寿である要因に関連する可能性 -

「ミトコンドリア」ってきいたことがありますか？ミトコンドリアは、細胞の中にあるエネルギー代謝に関わる「細胞内小器官」です。細胞内のカルシウムイオン濃度の調節や細胞の生死の決定など、生命にとって極めて重要な役割を果たしています。ミトコンドリアは細胞核の DNA とは別に、独自の DNA を持っています。このミトコンドリア DNA は個人差が大きく、さまざまな病気の発症に関与していると考えられるとともに、長寿や運動能力などいろいろな身体の働きの個人差と関連していると考えられてきました。しかしながらミトコンドリア内の遺伝子を人工的に操作することは難しく、ミトコンドリア DNA の個人差が、細胞の働きにどのように関与しているかはほとんど分かっていませんでした。

理研脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チームらを中心としたグループは、ミトコンドリア DNA の暗号の並びの個人差（多型：たけい）を調べる方法を用い、ミトコンドリア DNA の暗号配列の 2 ヶ所（8,701 番目、10,398 番目）が、ミトコンドリアの pH およびカルシウム濃度の変化に関与していることを突き止めました。このうち 10,398 番目には G 型と A 型とがあり、G 型は日本人で長寿者に多く見られることが、これまでの研究で指摘されています。また、欧米人に多い A 型は、パーキンソン病、アルツハイマー病、躁うつ病などとの関連が指摘されています。

こうしたことから、今回得られた知見は、長寿のメカニズムやさまざまな病気のかかりやすさの解明につながると期待されます。



(図) 今回発見したミトコンドリア DNA における 2つの暗号の違い (多型)

2006年8月11日
独立行政法人 理化学研究所

細胞の働きに影響するミトコンドリア DNA の個人差を特定

- 日本人が長寿である要因に関連する可能性 -

◇ポイント◇

- 細胞内のカルシウム調節に関与しているミトコンドリア DNA の多型 2 カ所を特定
- 特定した多型のうち 1 カ所は日本人が長寿である要因に関連する可能性
- 長寿のメカニズムやさまざまな病気のかかりやすさの解明につながる事が期待

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、細胞の働きに必要なミトコンドリア DNA 約 1 万 6 千塩基対に含まれるさまざまなヒトの個人差（多型）の中から、細胞内のカルシウムイオン（Ca²⁺）の濃度調節^{*1}に関与していると考えられる多型 2 カ所を特定しました。理研脳科学総合研究センター（甘利俊一センター長）精神疾患動態研究チームの数野安重リサーチアソシエイト、宗像可枝研究員、加藤忠史チームリーダーらと、同センター細胞機能探索技術開発チーム（宮脇敦史チームリーダー）及び東京都老人総合研究所健康長寿ゲノム探索研究チーム（田中雅嗣チームリーダー）などによる研究成果です。

ミトコンドリアは、エネルギー代謝に関わる細胞内小器官であり、細胞内の Ca²⁺濃度の調節や細胞の生死の決定など、生命にとって極めて重要な役割を果たしています。ミトコンドリアは細胞核の DNA とは別に、独自の DNA を持っています。このミトコンドリア DNA は個人差が大きく、さまざまな病気の発症に関与していると考えられるとともに、長寿や運動能力など色々な身体の働きの個人差と関連していると考えられてきました。しかしながら、細胞核の遺伝子を制御し、その機能を探る遺伝子工学技術は確立しているものの、ミトコンドリア内の遺伝子にこれらの技術を応用することは難しく、ミトコンドリア DNA の個人差が、細胞の働きにどのように関与しているかはほとんど分かっていません。

研究グループは、ミトコンドリア DNA を持たない細胞に、被験者の血小板を導入し、融合させた細胞を作成しました。この処理により、被験者ごとのミトコンドリア DNA を持った細胞を作成することができます。この細胞には、あらかじめ Ca²⁺濃度変化を調べることができる蛍光タンパク質を組み込んでおり、これらの細胞を用い、Ca²⁺濃度変化と遺伝子の個人差を調べたところ、ミトコンドリア DNA 中の多型の 2 ヶ所（8,701 番目、10,398 番目）が、ミトコンドリアの pH およびカルシウム濃度の変化に関与していることを突き止めました。2 つの多型のうち 10,398 番目の塩基配列には、G 型と A 型とがあり、今までの研究により G 型は、日本人で長寿者に多く見られることが指摘されています。また、欧米人に多い A 型は、パーキンソン病、アルツハイマー病、躁うつ病などとの関連が指摘されています。こうしたことから、今回得られた知見は、長寿のメカニズムやさまざまな病気のかかりやすさの解明につながると期待されます。

本研究成果は、米国の科学雑誌『PLoS Genetics』^{*2}（2006年8月号:2006年8月11日オンライン）で発表されます。

1. 背景

細胞核の染色体には、DNA（デオキシリボ核酸）が存在しており、両親から受け継いだひとそろいの遺伝子のセット（ゲノム）の情報が含まれています。これまでのゲノム研究の多くは、この染色体DNAについての研究です。一方、細胞核のDNAの他に、私たちは、もう一つの“ゲノム”を、細胞内小器官であるミトコンドリアの中に持っており、この遺伝子のセットは、ミトコンドリアDNAと呼ばれています(図1)。

ミトコンドリアは、細胞の中に網の目のように張り巡らされている構造体で、細胞が必要なエネルギーを作り出すだけではなく、細胞内のカルシウムイオン (Ca^{2+}) 濃度の調節や細胞の生死の決定など、生命にとって極めて重要な役割を果たしています。ミトコンドリア自身が、細胞核のゲノムとは独立した遺伝子セットを持っているという事実から、ミトコンドリアは、太古の昔に細胞に寄生するようになった細菌の名残ではないかと考えられています。

このミトコンドリアDNAは、染色体DNAより進化の中で変化する速度が速く、個人差が大きいことが特徴です。そのため人の病気の中には、ミトコンドリア遺伝子の異常による病気も少なくないのではないかと想像されています。例えば、ミトコンドリアDNAの異常による発症すると考えられる病気は、筋肉の障害（力がはまらない[筋力低下]／まぶたが垂れてくる[眼瞼下垂]など）や脳機能の障害（[意識障害]／[てんかん]など）を初めとして、さまざまな身体の症状を起こします。また、糖尿病患者のうち1パーセント弱が、ミトコンドリアDNAの異常を持っていると報告されています。さらに、ミトコンドリアのDNAの個人差（多型）が、アルツハイマー病、糖尿病、心臓病など、さまざまな病気へのかかりやすさと関係しているのではないかと考えられています。

これまで、ミトコンドリアDNAの個人差と病気のかかりやすさに関しては、膨大な数の研究論文としてまとめられていますが、こうした研究は、ほとんど“病気を持っている人と持っていない人とでミトコンドリアDNAの多型の頻度を比べる”という統計学的手法によって行われてきました。しかし、先に述べたようにミトコンドリアDNAには、個人差、人種差が多く、なかなか一貫した結果が得られていません。

また、染色体DNAの場合、特定のDNA配列の違いを持った細胞を人工的に作成し、細胞内に導入することによって、機能の違いをひきおこすDNA配列の個人差（機能的多型）を明らかにすることができます。ところが、ミトコンドリアDNAの場合は、そうはいきません。一つの細胞には染色体DNAは1セットしかありませんが、ミトコンドリアは細胞内に何百も存在しており、その中にあるミトコンドリアDNAすべてを人工的に改変させる技術が十分に確立されていないからです。

こうした理由から、ミトコンドリアDNAの個人差のうち、どれが意味のある機能的多型なのかは、よくわかっていませんでした。

2. 研究手法

研究グループでは、ミトコンドリアDNAの個人差と機能変化を探るため、被験者のミトコンドリアDNAを導入した細胞（サイブリッド）を作成しました。サイブリッドとは、ミトコンドリアDNAを失った培養細胞 (ρ^0 [ローゼロ] 細胞) に、被験

者の血小板を導入し、融合させたものです。血小板には、細胞核DNAはないものの、ミトコンドリアDNAは含まれており、この処理をすることによって、被験者のミトコンドリアDNAを持った細胞を作成することができます。

このサイブリッドを樹立する際に必要な血小板については、35人の被験者から採血し、その血液から取り出して使用しました。また、ミトコンドリアDNAの個人差とCa²⁺濃度の変化を探るため、Ca²⁺濃度変化により蛍光するタンパク質をサイブリッドにあらかじめ組み込むとともに、樹立した細胞株それぞれのミトコンドリアDNAの塩基配列、約1万6千塩基対すべてを解読しました。

3. 研究成果とその意義

樹立した35人分の細胞株を用い、それぞれの細胞に、Ca²⁺濃度の変化を促すためにヒスタミンを投与し、Ca²⁺濃度の変化に応じた蛍光を、蛍光顕微鏡で一つの細胞ごとに調べました。その際、ミトコンドリアと細胞内Ca²⁺濃度を区別しながら測定しました(図2)。さらに、解読したミトコンドリアDNAの塩基配列の中から、Ca²⁺濃度変化に影響を及ぼす多型を調べました。

その結果、ミトコンドリアDNAの8,701番目と10,398番目の2つの多型が、いずれもA(アデニン)からG(グアニン)に変わっていることが、Ca²⁺濃度の変化に関与していることを突き止めました。8,701番目の多型は、ATP(アデノシン3リン酸)合成酵素という細胞内でエネルギーのやりとりする物質を作るタンパク質に関連した遺伝子上に、10,398番目は、ミトコンドリアから水素イオンをくみ出して、エネルギーを生み出すタンパク質に関連した遺伝子上にあります(図3)。また、別の実験から、この2ヶ所がA型の場合に比べ、両方がG型だと、ミトコンドリア内のpH(水素イオン濃度)がアルカリ性に傾き、Ca²⁺濃度が低くなることがわかりました(図4)。

この結果の意義を探るため、東京都老人総合研究所の田中雅嗣チームリーダーによりまとめられ、公開されている日本人のミトコンドリアDNAに関するデータベース(<http://www.giib.or.jp/mtsnp>)を用いました。このデータベースによると、8,701番目の塩基配列がAからGに変わっている「8701G型」は、日本人に比較的特有なものです。また、10,398番目の塩基配列がAからGに変わっている「10398G型」は、欧米人、日本人の両方で見られますが、日本人は約7割が10398G型であるのに対し、欧米人では10398G型では約3割しかいません。さらに、日本の百歳以上の長寿者の方では、G型の配列が多く(データベースでは96名中76名〔79%〕)、若年男性(対照群:同192名中129名〔67%〕)より多く見られました。同様のデータは、フィンランド人でも報告されています(Niemi et al., *Eur J Hum Genet* 2005)。

田中チームリーダーらは、長寿者に多くみられるミトコンドリアDNA配列として、これまで主として5,178番目の塩基配列がCからAに変わっている「5178A型」に着目して研究を進めてきました。図5に示した通り、5178A型は日本人に多い「大ハプログループ³M」と呼ばれるミトコンドリアDNAの型のうちのさらに小さなグループの特徴です。従って、5178A型を持つ人は、通常大ハプログループMの特徴である10398G型も持っています。田中チームリーダーらがその後、さらに多くの長寿者のミトコンドリアDNAの配列を調べた結果、5178A型と同じように、10398G

型も長寿者で多く見られることがわかってきました。しかしながら、実際にどちらの配列の違いが長寿の原因になっているかを特定することは、こうした研究だけでは特定できませんでした。

今回の結果で、5178番目の塩基配列の多型はCa²⁺濃度に影響せず、10398番目の塩基配列の多型が影響したことから、実際に長寿に関連する機能の違いを引き起こしているのは、10398G型であると考えられます。

周知の通り日本は、世界でも最も平均寿命の長い国ですが、その原因は不明です。今回の結果から推測すると、10398G型が日本人に多いことが、日本が世界一の長寿国であることの一因である可能性も考えられます。また、10398A型は、アルツハイマー病、パーキンソン病、躁うつ病などの危険を高める因子であると報告されています。また田中チームリーダーらのグループは、10398A型と密接に関連した5178C型が、糖尿病、動脈硬化、心筋梗塞など、さまざまな生活習慣病との関連を指摘しています。

これらのことから、10398A型の配列を持っていると、ミトコンドリアの機能が変化してさまざまな病気になりやすく、一方10398G型を持っていると、これらの病気にかかりにくいため、長寿になる可能性が考えられます。

4. 今後の期待

今回、特定したCa²⁺濃度変化に関与しているミトコンドリアDNAの多型は、長寿のメカニズムやさまざまな病気のかかりやすさに影響を及ぼしている可能性があります。今後、技術的な困難が伴いますが、ミトコンドリアDNAの特定の1カ所だけを改変させるモデル動物をつくり、本当にミトコンドリアDNAの10398G型が長寿と関連し、10398A型が生活習慣病のかかりやすさに関係していることを明らかにできれば、長寿や病気が発症する機構の解明につながるとともに、それらをコントロールすることも可能となるかもしれません。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

脳科学総合研究センター 精神疾患動態研究チーム

チームリーダー 加藤 忠史

Tel : 048-467-6949 / Fax : 048-467-6947

脳科学研究推進部

嶋田 庸嗣

Tel : 048-467-9596 / Fax : 048-462-4914

※ ミトコンドリア DNA データベースについて

東京都老人総合研究所健康長寿ゲノム探索研究チーム

チームリーダー 田中 雅嗣

Tel : 03-3964-3241(内線 3095) / Fax : 03-3579-4776

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

<補足説明>

※1 カルシウムイオン(Ca^{2+})濃度調節

カルシウムは、私たちの骨格を構成する主要元素であるとともに、細胞内において情報を伝達する物質として重要な働きをしている。細胞内には極微量のカルシウムイオン (Ca^{2+}) しかなく、細胞内の Ca^{2+} の濃度は通常、細胞外の 10,000 分の 1 程度に保たれているが、細胞外から刺激が加わると、細胞中にある小胞体に蓄積されていた Ca^{2+} が放出され、細胞内の Ca^{2+} 濃度は 1,000~10,000 倍にも増加する。小胞体から放出された Ca^{2+} の多くは、ミトコンドリアに取り込まれ、ミトコンドリアは、 Ca^{2+} を取り込むことによって細胞内の Ca^{2+} 濃度を調節するとともに、ミトコンドリアの活性を調節する。また、 Ca^{2+} 濃度変化は、記憶・学習に伴う神経細胞の働きの変化（シナプス可塑性）や、遺伝子発現、細胞死のシグナルなど広範な生理機能に関わっている。

※2 PLoS Genetics

PLoS シリーズは、アメリカの Public Library of Science (PloS) が発行しているオンライン雑誌。Nature、Cell などの編集に携わってきた編集者達が発起人となって 2003 年にまず PLoS Biology の刊行が開始された。“科学発表を商業誌に頼っては科学の発展が阻害される”という考えのもと、オンラインのみとしてコストを下げるかわりに、無料で公開し、その運営は著者からの掲載料のみでまかなうというシステムとなっている。2004 年、PLoS Biology は初登場で biology 分野の 1 位のインパクトファクター (13.8) を記録 (2005 年は 14.6)。この新しい科学出版システムに対する研究者の高い関心を示している。PLoS Genetics は、4 番目の PLoS シリーズの雑誌として、2005 年 7 月に創刊された。

※3 ハプログループ

遺伝的集団を示す指標。地理的なまとまりを見せる場合が多いので、人類の移住の歴史を推定するのに用いられる。

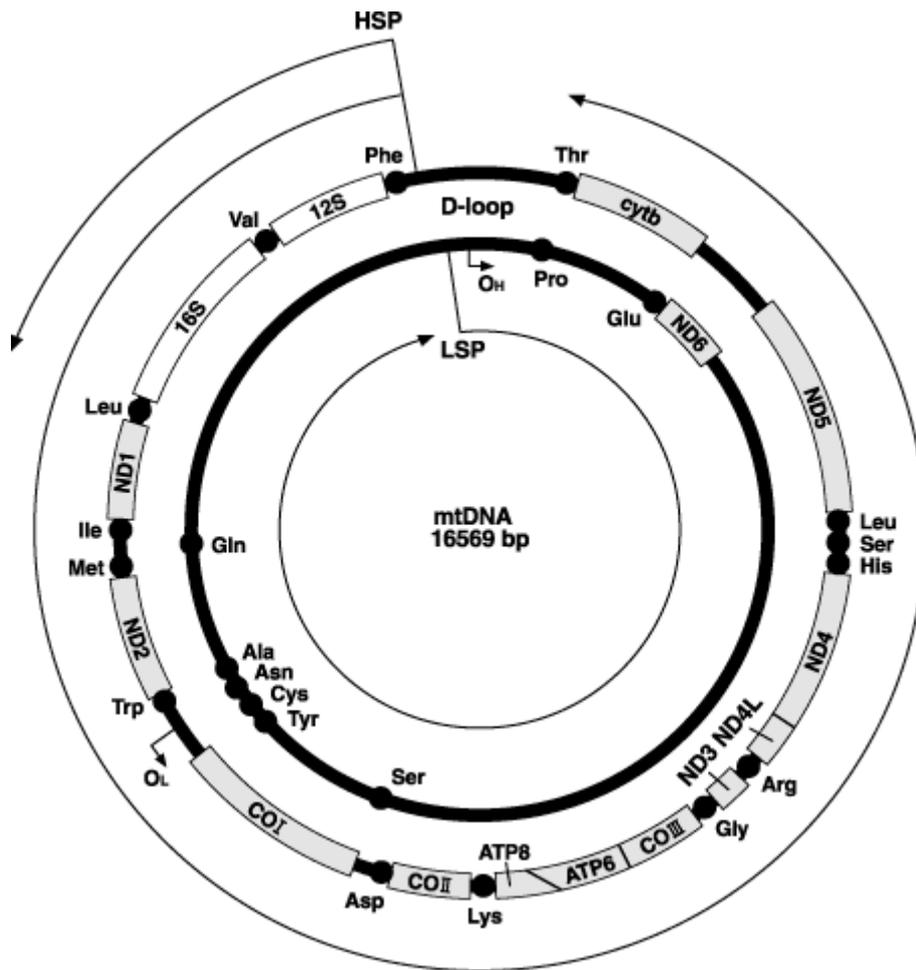


図1 ミトコンドリア DNA 全周の模式図

染色体のゲノムが数十億（要確認）塩基対を有する膨大な DNA であるのに対し、ミトコンドリア DNA は、約 1 万 6 千塩基対というコンパクトなものである。ただし、染色体のゲノムが 1 セットしかないのに比べ、1 つの細胞内に多数のミトコンドリア DNA 分子が存在する。この短いミトコンドリア DNA の中に、多数の個人差が見られ、今回調べた 35 人でも 216 カ所の個人差が見られ、その組み合わせによって全員が違う配列を持っていた。

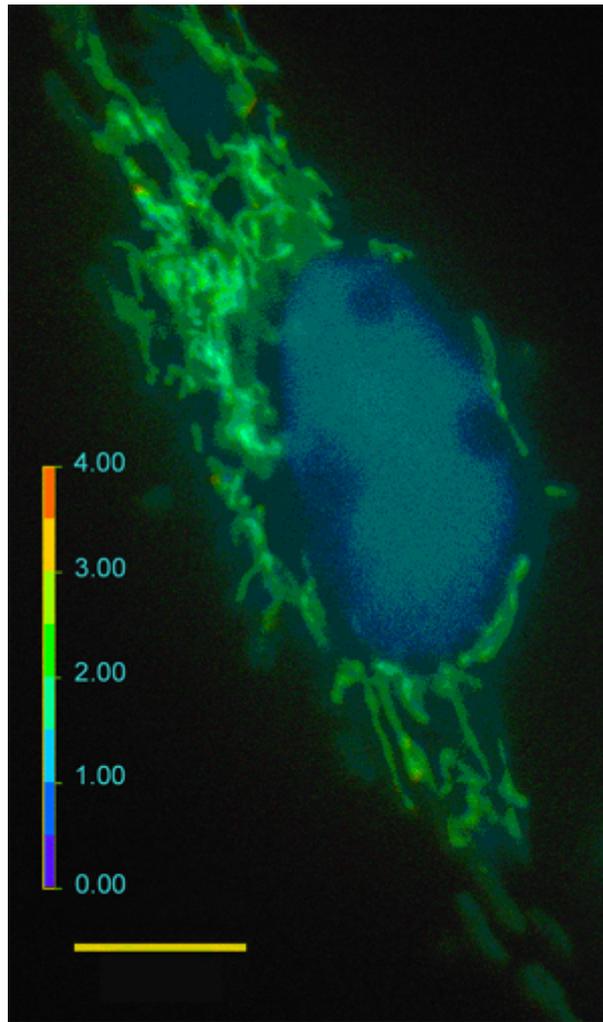


図2 本研究に用いた細胞の蛍光顕微鏡写真

左側のカラーバーの数字は、480nm で励起した時の 525nm の蛍光の強度を、410nm で励起した時の 525nm の蛍光強度で割った比を示し、色はこの比の違いをわかりやすく示すために擬似的につけたもの。黄色の棒は 10 μ m を示す。緑色の糸状の部分がミトコンドリアで、青い部分は細胞の核である。それぞれに局在するような蛍光タンパク質を細胞が作るように、細胞に手を加えてある。

核と細胞質はつながっているので、核内を調べることによって、細胞内のカルシウム濃度を調べている。なお、核に蛍光タンパク質を集めているのは、写真の上できちんと区別して測れるようにするためである。ミトコンドリア内の方が核より蛍光強度比が高くなっているが、これはミトコンドリアの中では細胞質に比べて、カルシウム濃度が高く、アルカリ性に傾いているためである。

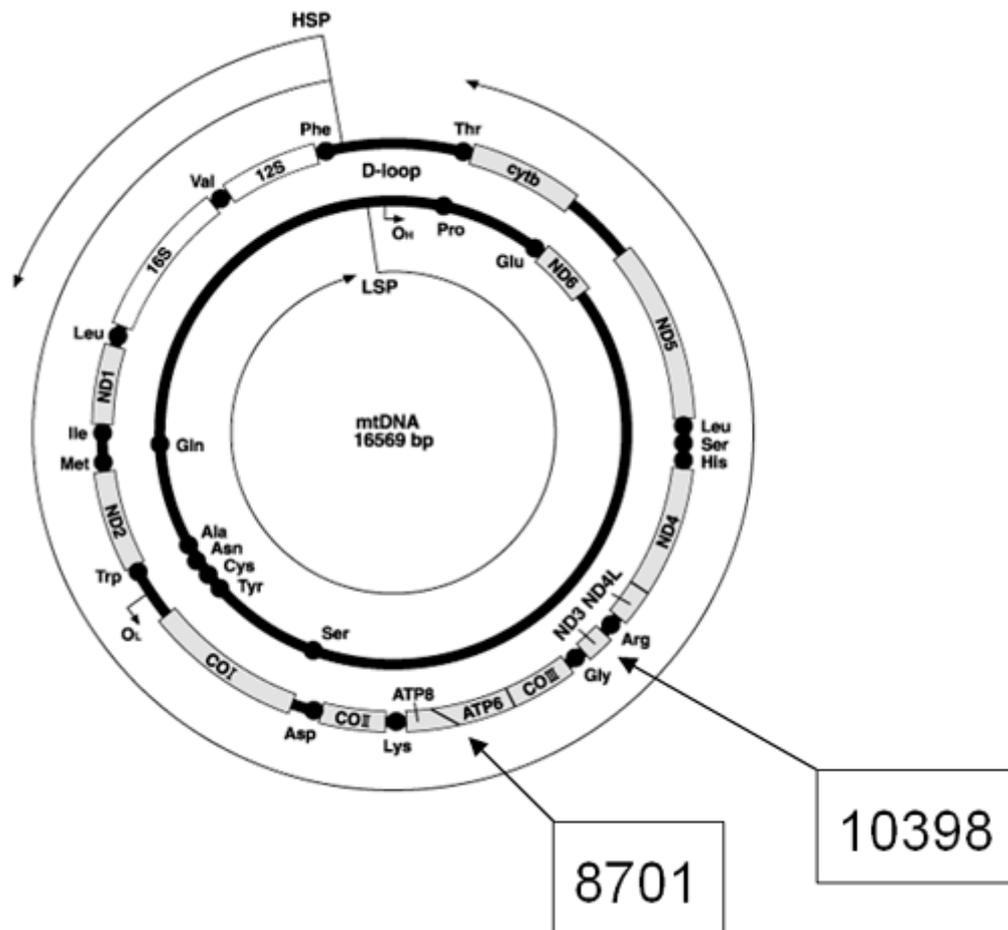


図3 今回発見したミトコンドリア DNA における 2 つの多型

10,398 番目の多型は、複合体 I というミトコンドリアから水素イオンをくみ出して、エネルギーを生み出すタンパク質の、3 番目のサブユニットである 114 番目のスレオニンを変化させる遺伝子上にある。一方、8,701 番目の多型は、ATP (アデノシン 3 リン酸) 合成酵素という、ミトコンドリア内外の水素イオン勾配を使って細胞内でエネルギーのやりとりをする物質を作るタンパク質の、6 番目のサブユニットの 59 番目のアミノ酸をスレオニンからアラニンに変化させる遺伝子上にある。

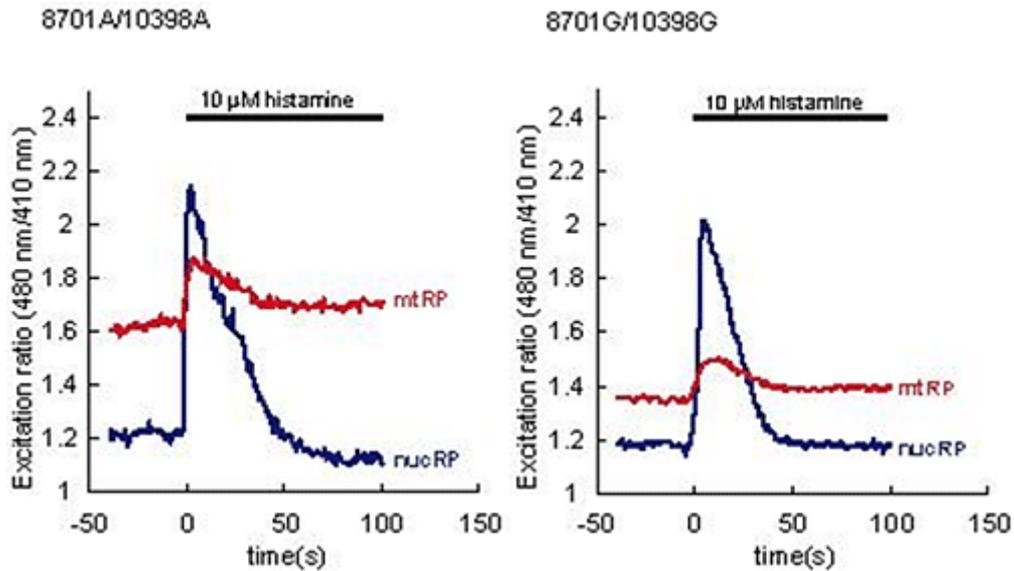


図4 10398A型と10398G型によるミトコンドリア内カルシウム濃度の違い

ミトコンドリア DNA の 10,398 番目の A 型あるいは G 型を持つ、2 人の被験者より樹立したサイブリッド、おののおの一つの細胞のデータを示す。縦軸は、図 2 で示した蛍光強度比を表す。G 型の細胞（右）では、A 型の細胞（左）に比べ、カルシウム濃度が低いことがわかる。

縦軸 : 蛍光強度比 (480nm 励起 / 410nm 励起)

横軸 : 時間 (秒)

mtRP : ミトコンドリア移行シグナルをつけた Ca^{2+} 感受性蛍光タンパク質 (ペリカム)

nucRP : 核移行シグナルをつけたペリカム

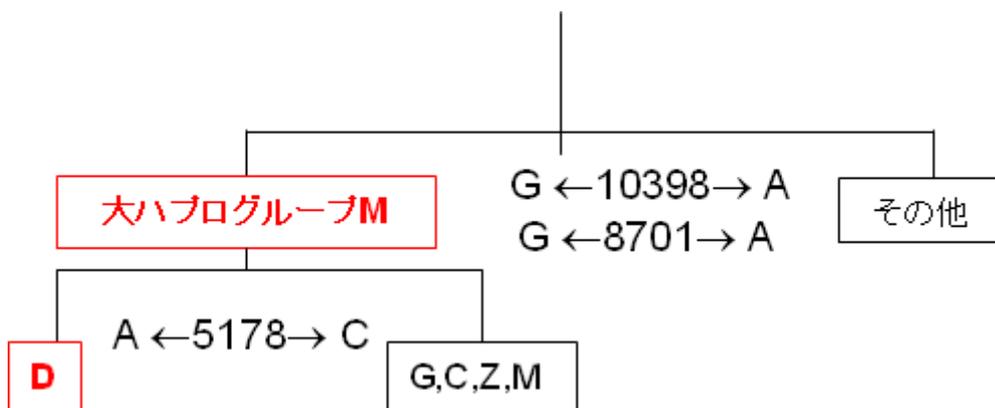


図5 アジア人のミトコンドリア DNA の系統樹

(Tanaka M et al, Genome Research 2004 および Quintana-Murci L et al, AJHG 2005 に基づいて作成)。

多くのヒトのミトコンドリア DNA の解析結果から推定された、ヒトのミトコンドリ

ア DNA 進化における系統樹の一部を示す。大ハプログループ M は、アジア人に特徴的な多型で、10,398 番目の塩基配列と 8,701 番目の塩基配列が G 型であることが特徴。一方、2 つの塩基配列が G 型ではなく A 型の場合は、より多くの人種で見られる。大ハプログループ M に属するヒトが、その後の進化によって、5,178 番目の塩基配列が A 型であるヒトと、C 型を持つヒトに別れたと考えられる。

図では、長寿との関連が示されているグループを赤字で示した。これまで長寿と関連すると考えられてきた 5178A 型は、機能の違いを持つ 10398G 型のグループの一部であることがわかる。