第6章　ミトコンドリアっ！！　～　素晴らしき彼女らの連携

中田和人

筑波大学生命環境系教授

6.1　はじめに

これから私の研究テーマである哺乳類ミトコンドリアの生物学的な研究成果の中から「ミトコンドリア間相互作用」というとてもユニークな生命機構を紹介しながら、私自身がどのような経緯で現在の大学教員という職業に向かい、辿り着いたかを書き記していきたい。特に、自分自身のキャリアパスに関しては、できるだけ等身大の言葉と表現で思いのままに書いていきたいと思う。

(1) なぜ、ミトコンドリア研究なのか？

この問いに対しては、2 つの回答がある。1 つめは、私自身のキャリアパスに起因している。すなわち、私が大学、大学院、そして、社会へと進む過程でミトコンドリア研究と出会い、魅了されたからだ。2 つめは、科学的な大義名分である。すなわち、ミトコンドリアを研究することで、多様な生命現象におけるミトコンドリアの重要性を解明するという基礎生物学的側面だけでなく、その異常によって生じてしまう多様な病気の理解や効果的な治療法の開発といった基礎医学への貢献が必要とされているからである。

ミトコンドリアは細胞内のエネルギーの大部分を産生していることから、生命現象におけるその重要性は、具体的な研究成果がなくとも、広く認知されている。なぜなら、われわれ生物はエネルギーなしに生存することはできないからだ。生命現象を実験的に科学する試みは DNA の構造理解とそこにコードされている遺伝子の機能解析によって飛躍的に進んだと言える。通常われわれが遺伝子と言っているのは、核に存在しているゲノム（核ゲノム）にコードされている。そして、この核ゲノムにコードされた遺伝子が損傷したり（突然変異したり）、その発現が狂ったりすると、病気になったりする。多くの研究対象は、こ

の核ゲノムや核遺伝子から発現した機能的なタンパク質をターゲットにしている。

しかし、実は、ミトコンドリアにも独自のゲノムがある。そして、核ゲノムと同じように、ミトコンドリアゲノム（ミトコンドリア DNA ；mtDNA）にも突然変異が起ったり（それも核ゲノムのそれより頻繁に)、発現が狂ったりするらしい。実際、全身性のミトコンドリア機能異常をともなうミトコンドリア病、糖尿病、神経変性疾患、がんなどを罹患した患者さんや老化したヒトの組織に、突然変異の起った mtDNA が存在しているらしい。このような報告を受けて、mtDNA の突然変異に起因するミトコンドリアの異常がわれわれの健康に深く関わっている可能性が注目を集めている。そのため、われわれは哺乳類を対象としたミトコンドリア研究を推進することで、生命現象におけるミトコンドリアの重要性を理解し、さらに、mtDNA の突然変異に起因する多様な病気が起ってしまう仕組みを解明し、そして最終的に、効果的な治療法の開発を目指しているのである。

(2) ミトコンドリアの紹介

ミトコンドリア（図 1）という固有名詞を耳にしたことのある方も比較的多いのではないかと思う。私自身、中学生の理科の時間にこの固有名詞に出会っている。当時は、まさかミトコンドリアについて研究するなどとは全く思っていなかったのだが。

さて、私は哺乳類のミトコンドリアに関する研究に従事して 13 年目になる。そして、今、とてもこのミトコンドリアに魅了されている。しかし、ミトコンドリアに対し、様々な実験的な解析を可能とする遺伝子組換え実験を駆使することは極めて難しいため、研究対象としてはとても厄介な存在である。だから、昨今の成熟した実験戦略をもってしても、生命活動におけるミトコンドリアの重要性を具体的に示すことは困難を極めてしまう。

ミトコンドリアは酸素呼吸によって生体が必要とするエネルギーの大部分を産生するオルガネラである。まあ、われわれのからだを構成する個々の細胞に存在し、エネルギーを作ってくれている構造物と理解してほしい。そして、驚くなかれ、その起源はαプロテ

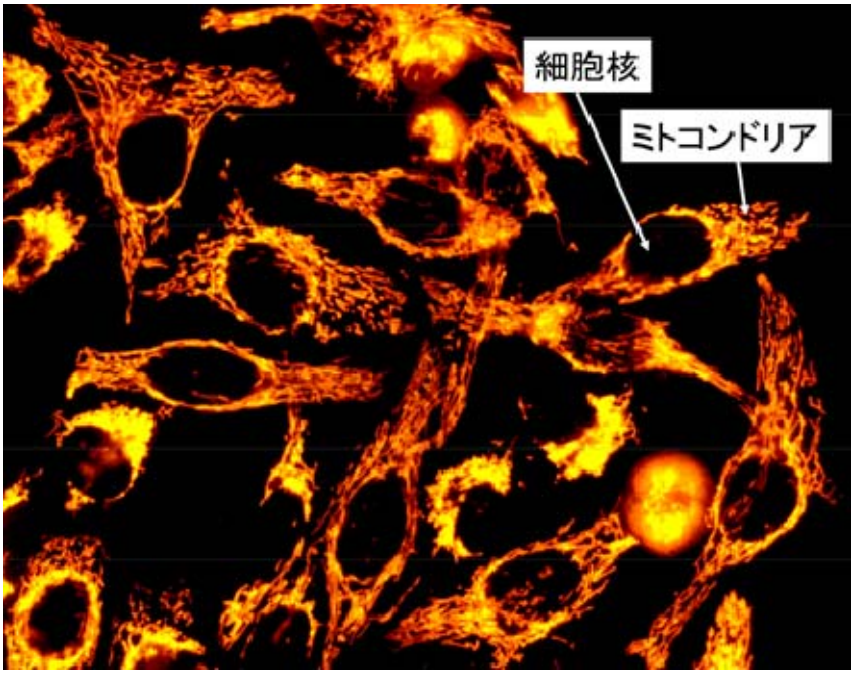

図１　ミトコンドリア
ヒト培養細胞株におけるミトコンドリアを MitoTracker（ミトコンドリアを特異的に可視化する蛍光色素）で生体染色した。蛍光で可視化されている構造がミトコンドリアで、細胞質全体にネットワークを形成していることが分かる。

オバクテリアという原核生物の共生によると考えられている。つまり、ミトコンドリアはわれわれの細胞内に存在するものの、その祖先はバクテリアなのである。そう、むかしむかし、われわれがまだ単細胞生物として生活していたころ、ひょんなことでわれわれの細胞内に侵入してしまったバクテリアが、いつのまにかわれわれのためにエネルギーを作ってくれる相方になったらしいのだ。このような考え方は、「ミトコンドリア共生説」として提唱され、広く受け入れられている。

この「ミトコンドリア共生説」という考え方の根拠の 1 つとして挙げられているのが、ミトコンドリアを形づくっている二重の生体膜、外膜と内膜の存在である（図 2)。内膜はαプロテオバクテリアの細胞膜、外膜は食作用で飲み込んだ真核細胞の細胞膜に由来すると考えられている。もちろん、現在のミトコンドリアの内膜と外膜は、当時のままの性質ではなく、つまり外膜はバクテリアの細胞膜のままではない。現在のミトコンドリアの膜は極めて高度に、そして多様に機能分化している。そして、核ゲノム支配のもとわれ

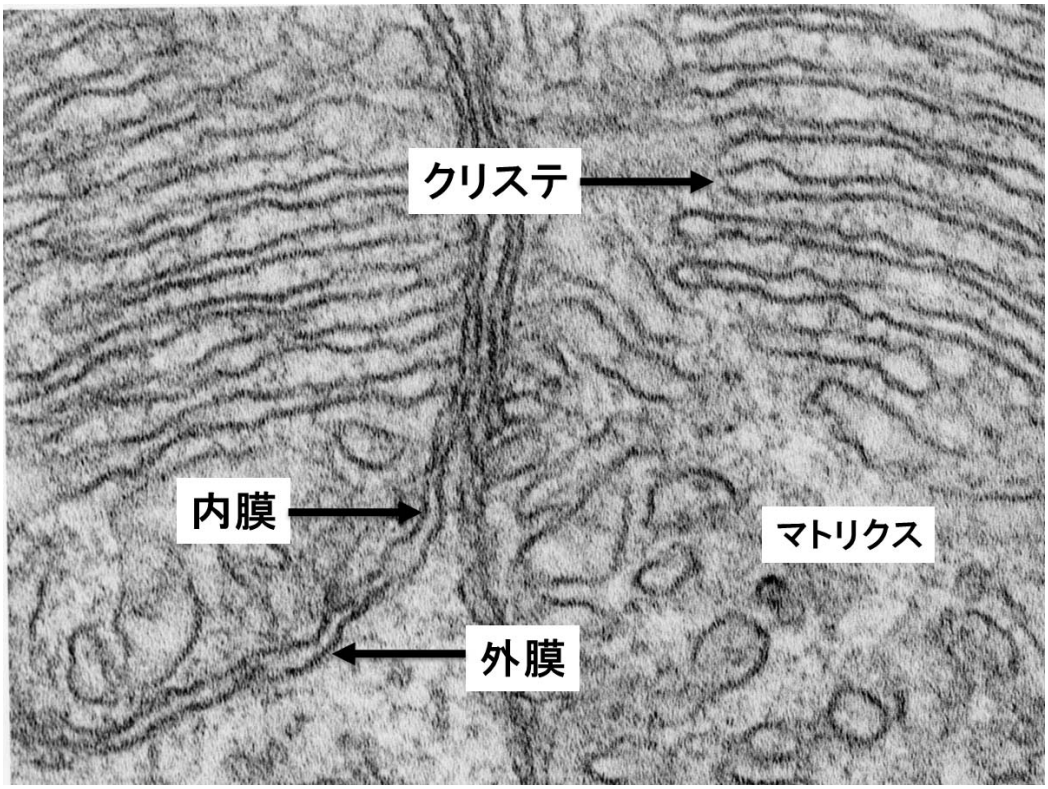

図 2　ミトコンドリアの微細形態
マウス心筋細胞のミトコンドリアを電子顕微鏡によって観察したものである。ミトコンドリアは外膜と内膜の二重の生体膜によって完全に閉鎖されている。マトリックスには内膜が貫入し、クリステを形成している。

われの恒常性維持に寄与するものに進化適応している。また、図 2 のようにミトコンドリア形態分画は、外膜、膜間腔、内膜、マトリックスの 4 区画に分けられ、それぞれの区画に核ゲノムにコードされる遺伝子から転写･翻訳された機能的なタンパク質が輸送される。ミトコンドリア側の立場にたてば、宿主であるわれわれの細胞内という住処の家賃をエネルギー供給として支払っているとでも言えようか。

(3) ミトコンドリアゲノム

ミトコンドリアゲノム（mtDNA）の存在こそが、「ミトコンドリア共生説」のもっとも重要な根拠になっている。われわれの細胞の中に含有されているミトコンドリアには、そのマトリックス領域に複数コピーの mtDNA が存在し、その mtDNA のための独自の遺伝子発現制御系も存在している（図 3)。

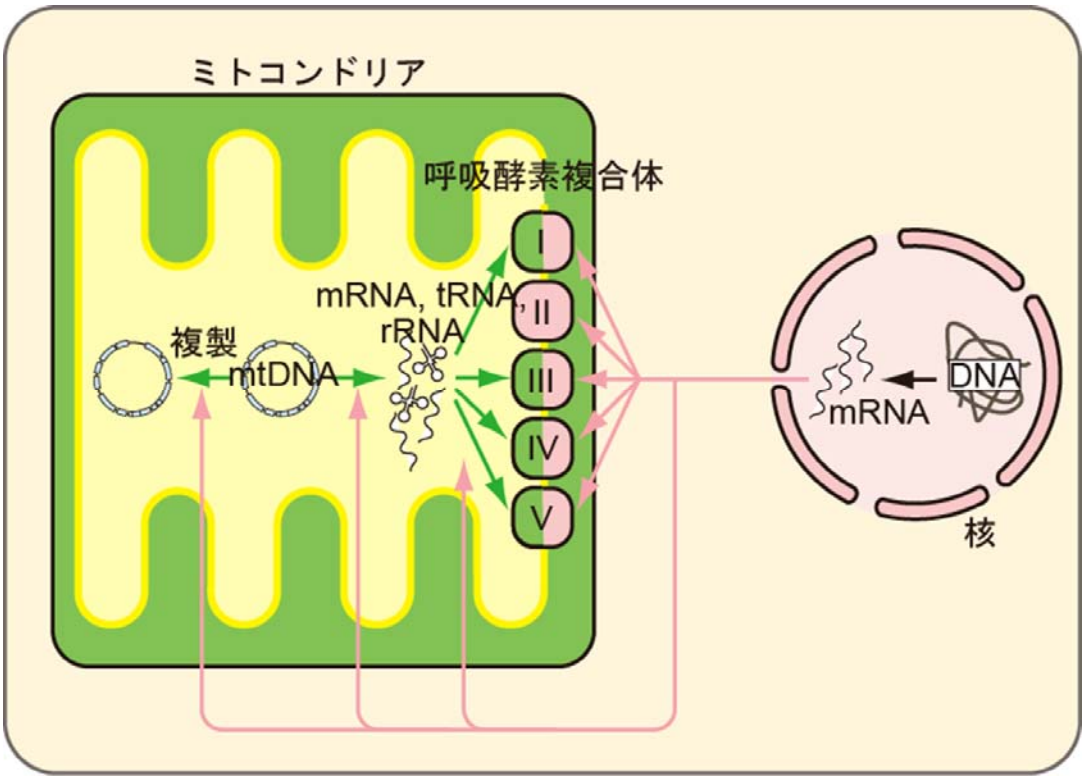

図 3　ミトコンドリア呼吸機能の二重支配
ミトコンドリアの呼吸機能は呼吸酵素複合体 I～V によって行われている。この呼吸酵素複合体 I，III，IV，V はミトコンドリアゲノム由来のサブユニット（緑色）と核ゲノム由来のサブユニット（ピンク色）によって形成されている。このため、ミトコンドリアの呼吸機能は核とミトコンドリアの両方のゲノムによって制御されていることになる。

前述のように「ミトコンドリア共生説」ではミトコンドリアの起源はバクテリアであると提唱している。だったら、寄生し、共生関係になったバクテリアのゲノムも存在するはずである。そのゲノムが mtDNA なのである。われわれの細胞には核があり、その中にはわれわれ独自のゲノム、核ゲノムが存在しており、そこにコードされた多様な遺伝子から機能的なタンパク質がつくられ、われわれの生命活動に大きく寄与している。一方、ミトコンドリアにもバクテリア時代のゲノムが存在し、詳細にみるとその痕跡が残っており、痕跡とはいえ、このゲノムから機能的なタンパク質が現在でもつくられ、生命活動の一端を担っている。

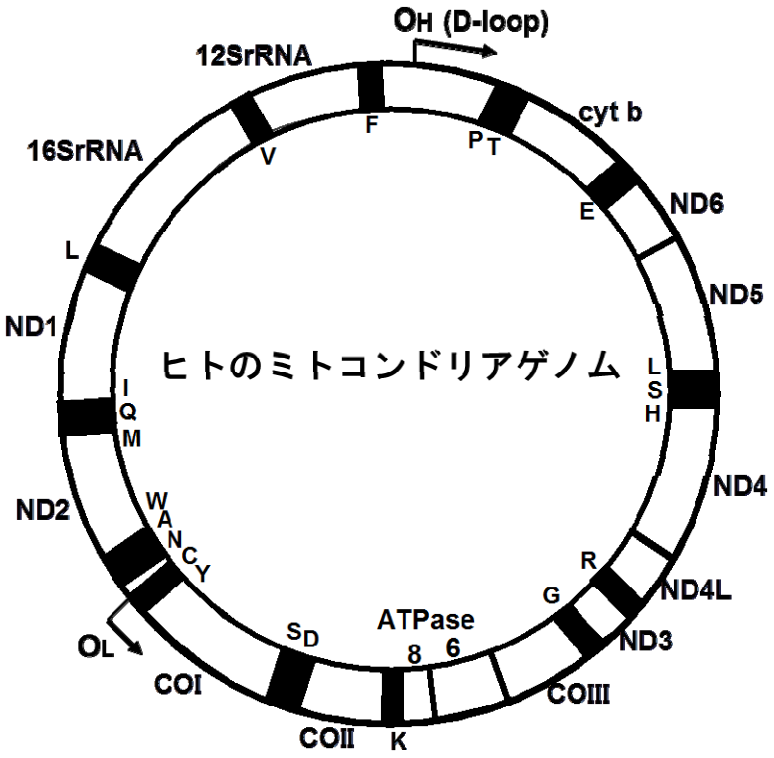

図 4　ヒトのミトコンドリアゲノム（mtDNA）の遺伝子地図
ヒト mtDNA には、13 種のメッセンジャーRNA、22 種のトランスファーRNA、2 種のリボソーム RNA の合計 37 種の遺伝子がコードされている。22 種のトランスファーRNA、2 種のリボソーム RNA は 13 種のメッセンジャーRNA の翻訳に使用される。

哺乳類の mtDNA（図 4）は 16.5kb 程（1kb は 1,000 ヌクレオチド鎖を意味するため、16.5kb は 16,500 ヌクレオチド鎖となる）の環状鎖で、13 種の呼吸鎖酵素複合体のサブユニット遺伝子（ミトコンドリアでのエネルギー産生に必要なタンパク質をコードする遺伝子）と、これらを翻訳するため（機能的なタンパク質に変換するため）に必要な 22 種のトランスファーRNA（tRNA）と 2 種のリボソーム RNA（rRNA）遺伝子がコードされている。このように哺乳類の mtDNA には 37 種の遺伝子しかコードされていない。一方、大腸菌ではおよそ 4,000 種の遺伝子が存在していると言われている。これは、α プロテオバクテリアが真核細胞に共生した後、不必要な遺伝子を消失させながら、そして一方で、必要な遺伝子の大部分をどこかに避難させたことを連想させる。

では、本当にミトコンドリアの大部分の遺伝子は他のオルガネラに移動できるのであろ

うか？イネの mtDNA の研究成果は、実際にオルガネラ間で遺伝子の移動があった事実とその歴史を類推する極めて重要な情報を提供してくれている。イネの細胞には、核ゲノム、ミトコンドリアゲノム、葉緑体ゲノムの 3 種のゲノムが存在している。驚くべきことに核ゲノムとミトコンドリアゲノムには、独自の遺伝子情報の他に、他のオルガネラ由来の遺伝子情報を含んでいるというのである。つまり、イネの mtDNA には葉緑体ゲノムや核ゲノム由来の遺伝子が､核ゲノムには mtDNA や葉緑体ゲノムの遺伝子が含まれている｡これは、細胞に存在する由来の異なる複数のゲノム間で頻繁に遺伝子の交換が行われていることを示唆している。このことをふまえると、哺乳類の現状の mtDNA 分子は進化の過程でその多くの遺伝子情報を核ゲノムに移動させたと推測できる。しかし、ただ移動させただけでなく､その遺伝子がコードするタンパク質をミトコンドリアに､それも外膜､内膜､膜間腔､マトリックスへ正確に輸送・配置させるシステムも同時に獲得する必要があるため、極めて複雑な再構成過程が必要であったことも付け加えたい｡しかし､どのような機構で mtDNA の遺伝子を核ゲノムに移動、定着させたかは分かっていない。

われわれの細胞には、両親の配偶子に由来する 2 セットの核ゲノムが存在している。このような遺伝様式は両性遺伝といわれる。一方、mtDNA は細胞当たり数百から数千コピー含有されていて、これらすべての mtDNA は母親から受け継いでいる。このような遺伝様式は母性遺伝といわれる。この母性遺伝様式に敬意を評し、ミトコンドリアを相棒としている研究者はミトコンドリアを「彼女」と表現することがある。哺乳類の mtDNA は完全母性遺伝することが多くの実験によって証明されている。ところが､「彼と彼女」のミトコンドリアであったヒトの例が報告されている。それは後述するミトコンドリア病という病気を罹患した患者さんの組織でみられたもので、骨格筋の mtDNA のうち 90％が父親由来、10％が母親由来と考えられ、組織の mtDNA はすべて母親由来と報告されている。この症例はきわめて例外的であったとしても、父方の mtDNA が遺伝したという事実はとても興味深い。

(4) ミトコンドリア呼吸機能

太古、われわれの細胞に寄生し、共生関係を構築していく過程で、mtDNA にコードされている大部分の遺伝子は、宿主である核ゲノムに移動したと考えられている。その根拠としてミトコンドリア呼吸機能の二重支配（図 3）という複雑な制御系を挙げたい。ミトコンドリアは酸素呼吸によって糖などに蓄えられているエネルギーを ATP に変換するオルガネラである。この酸素呼吸は、ミトコンドリアの内膜に配置している電子伝達系の複合体 I～IV と ATP 合成酵素である複合体 V によって行われている。重要なことは、これらの複合体は核ゲノム由来のタンパク質サブユニットと mtDNA 由来のタンパク質サブユニットが集合することによって形成されている（複合体 II は全て核ゲノムからのタンパク質サブユニットで構成されている）。つまり、我々のミトコンドリアにおける酸素呼吸は核とミトコンドリアの両方のゲノムによって制御されていることになる。

共生関係を進化させようとしていた当初、ミトコンドリアの酸素呼吸に必要なタンパク質をコードする遺伝子は全て mtDNA に存在していたと考えられる。ではなぜ、mtDNA の遺伝子を核ゲノムに移動させる必要があったのだろうか？それは、電子伝達系の欠点にあるのかもしれない。電子伝達系と ATP 合成酵素によって行われる酸素呼吸過程では ATP だけでなく、生体に有害な活性酸素種（ROS）もまた放出（電子伝達系で電子を受け渡す際、受け渡し損ねた電子が漏れ出てしまうため）されてしまう。ROS はタンパク質や脂質、そして DNA にも傷をつけてしまうことが知られている。このような ROS の毒性から重要な遺伝子を守るため、mtDNA はその遺伝子の大部分を核ゲノムに避難させたのかもしれない。この大移動によって、酸素呼吸に必要なタンパク質群の遺伝子も mtDNA と核ゲノムに分断されることになってしまい、結果として、酸素呼吸は核とミトコンドリアの両ゲノムによる二重支配を受けることになってしまったのだ。

6.2　研究者への憧れ～「本当の自分への決別」

私は大学教員という職業に就いている。職務は教育と研究である。私が大学教員という職業を目指したのは今からちょうど 24 年前の 19 才の時である。それは、私が当時受けた分子生物学演習という講義への共感と、その講義を担当されていた比嘉昭子先生への純粋な憧れ、そして「本当の自分」への決別が原動力であった。

私は、小さい頃から勉強が苦手だった。いや、嫌いといった方が正しい表現である。小学校から高等学校まで優秀な成績を修めたことは一度もない。そして恥ずかしながら、43 才現在、小説という書物を一冊も読破したことがない。これは、私が「教養のない教員」と評される一因でもある。正確には、読破できないと言った方が的確かも知れない。文章だけで構成された書物の場合、長文になればなるほど、途中から文章を読み込めなくなってしまう。もちろん、文字は読めるのであるが、内容を把握し、前後関係などを立体構成することができなくなってしまうのである。このような症状は、学童の時に特に顕著であった。だから、気質的に学校での勉強にはついていけない素因を持っていたのであろう。その客観的記憶として、小学校低学年の私が特殊学級への編入を何度かすすめられ、それを必死で断っている母親の姿を今でも鮮明に憶えている。では、こんな状況にあっても必死で勉強して努力してきたから大学教員になれたなどと、とうとうと書くことができればエレガントなシナリオであろう。しかし、そんなに上手くはいかないし、格好良くもない。

1987 年、18 才の僕は臨床検査技師として海外で働くことを夢みていた。若く溌剌とした希望のように思えるが、実際のところは、共通一次試験（国立大学の受験に必要な全国一斉試験で、現在のセンター試験の前身にあたる）で点数が取れないというのが最大の理由であった。つまりは、学力不足で名だたる大学はもとより、多くの国立大学への入学など、想定外であった。だから、自らの学力で何とか進めそうな学校への進学を考えていた。このような思考下にあっては、資格を取得できる学校に進み、社会の一員として活躍するし

かないと考えるのは当然の成り行きだったのかも知れない。勉強ができない言い訳を資格の取得に帰結する自己防衛策である。一方で、職業意識だけはこの当時からあった。まあ、勉強ができないから職業意識くらいは持っていないと仕方がないと考えていたのであるが、近い将来、必ず、社会に出て、その一員として生活しなくてはならないという意気込みだけはあったように思う。

高等学校卒業後、僕は筑波大学医療技術短期大学部衛生技術学科に入学した。当時の僕の成績から考えて、なぜ合格できたのか、今でも不思議である。ただし、3 年間の課程を修了・卒業し、国家試験に合格すれば、臨床検査技師になれるという、僕にとっては破格の道が眼前に開けているように思えた。結果的にこの意気込み空しく、就学 2 年目の夏には留年が決定することになる。

僕が入学した衛生技術学科では最終的に臨床検査技師国家試験合格を目指しているため、3 年間の就学期間の月曜日から土曜日までの時間割りはすべて臨床検査技師国家試験の受験資格規定に従って確定され、午前は講義、午後は実験・実習というかなりタイトなカリキュラムになっていた。もちろん、講義の内容も国家試験対策用に洗練されており、重要な事柄、憶えておかなくてはならない事柄、国家試験に頻出される事柄など、理路整然と教育された。そして、実験・実習に関しては極めて詳細なレポート提出を毎回求められた。今思えば、修行のような日々であった。

このような教育課程にあっては、必修科目の不合格は即、留年に直結してしまう。一般的な大学では、ある必修科目が不合格となった場合でも、次年度にその科目を再受講し、試験を受けることができる。しかし、少なくとも私が通っていた医療短期大学部の場合、就学年のすべてのカリキュラムが既に決まっているため、1 年次に不合格となった科目を 2 年次で再受講できないのである。なぜなら、2 年次では、その科目の該当時間には別の専門科目を受講しなくてはならないからである。しかし、特例措置があった。例えば 1 年次の必修科目は 3 科目までは不合格でも、2 年次にそれらの講義に出席することなく、試験

を受けることができた。ただし、この特別措置試験に不合格の場合は留年となってしまう。

僕は何とか2年次に進級できていた。進級できたと言っても、成績は最低ラインであった。僕の成績表はC評価（ABCD評価の合格最低評価；Dは不合格）のオンパレードであったことから、片目に手を当てて「右、右、えー右？」などと表現して同級生達を笑わせていた。そう、視力検査に例えると、「C は右」になる。そして、「えー見えません」となる不合格のD評価が必修科目の化学につけられていた。

成績は最低ラインのくせに、この頃から、前述のような国家試験対策の一問一答的な講義内容に対する不満を感じていた。この不満を一掃してくれたのが、比嘉昭子先生による分子生物学演習である。比嘉先生はマサチューセッツ工科大学大学院で分子生物学を専攻し、博士号を取得し、その後も米国で生命のセントラルドグマに関する研究を自らされてきた著名な科学者であった。比嘉先生による分子生物学演習の講義は、誰が、どのように考え、そして実験した結果をどのように考察し、というように、時系列と思考系列、そして成果系列の連弾をまるで音楽でも聴いているかのように講義してくれた。そして、ものの見方や考え方を時に具体的に、時に抽象的に、交互に提示することで、科学的な思考形成を僕らに促した。国家試験対策が中心の講義を聞いていた僕にとって、とても鮮烈であった。純粋にこんな研究（仕事）をしてみたい。そして、こんな仕事ができる人物になってみたいと切に思い、切に憧れた。そう、「科学者っていいな〜」と思った。しかしながら、当時の僕は、こんなにも感動した分子生物学演習の成績すらB評価をとるのが精一杯であった。

単純な僕は、この感動と衝動を胸に、比嘉先生のオフィスを訪ねて、「科学者になりたい！」と相談した。相手にされなかった。「君の学力と学問姿勢では全くもって無理」と、断言された。今思えば、科学者らしい客観的でストレートな見解である。それもそのはず、僕は1年次に不合格となっていた必修科目の化学を2年次の特別措置試験でも不合格になったばかりだった。そう、再試験がない限り、この時点で2年次留年が決定していた。19

才の夏の出来事であった。そして、この化学の担当も比嘉先生であった。化学の特別措置試験の勉強もろくにせず、当たり前のように不合格となるような学生が科学者になれるはずもない。そんな希望を持つことさえ、おこがましい。こんなぶざまな状況に陥ってもなお、自分に対する不甲斐なさや反省より、留年してしまうという現実の方が当時の僕には重かった。

しかし、突然、僕の留年問題は消滅してしまう。比嘉先生が他界してしまったのだ。そして、その後、比嘉先生が最終成績報告をしていなかったことから、化学の特別措置試験の再試験が行われた。恐らく、比嘉先生は、僕の留年を確定させてしまう最終成績評価をなかなか提出することができなかったのかもしれない。そうこうしている間に体調を崩し、大学病院に入院してしまったのだろう。どんな気持ちでいたのだろうか、そう思うだけで、他にどうしようもないことだった。結果として僕は最終学年の 3 年次に進級できてしまう。比嘉先生の死によって進級できた自分に対する情けなさがいつも付きまとっていた。

この時の悲しさ、情けなさ、悔しさが私の「生き方」を「活き方」に変えることになる。自分の中の都合の良い物指しを捨て、自分の憧れや希望に向きあい、できるだけ背伸びをして物事にあたった。回りの人にどんなに笑われ、馬鹿にされても。背伸びをするのだから、そう簡単に達成できるはずもない。しかし、達成できなかった現実をもとに、具体的に何がどの程度足りないかを把握した。そして、必死にそれらを補った。そうこうしているうちに、背伸びをすると達成できてしまうこともあった。でも、やはり背伸びをした分、要求される知識や能力が多く、高く、結局、それらを必死に補強しなくてはならなかった。これを何度となく繰り返すことで、私は当時の僕が憧れた比嘉先生と同じ研究者、そして大学教員になったのである。

ここに記した記憶は、この先、私が研究者としてどんなに特筆に値する成果を挙げたとしても、現在の「虚像の現実」から、あの時消し去った「本当の現実」に、常に私を引き戻し、余すことない「活き方」を貫かせるに違いない。そして、このような原動力を生む

記憶こそが、「私らしさ」というものになりつつあるのかと、ようやく思えるようになってきている。

6.3　研究者への進路変更～大学への編入学と大学院への進学

研究者への進路変更を決意した僕は筑波大学第二学群生物学類に編入学することになる。医療短期大学部を卒業して 1 年後の 1991 年のことである。当時、大学の編入学制度はそう多くはなかった。筑波大学の場合、農林学類（現、生物資源学類）が毎年行っている程度であった。しかし、僕は純粋な学問への憧れからどうしても生物学類に編入学し、基礎生物学を専攻したいという希望を持っていた。しかし、編入学試験を行ったことのない生物学類にあっては、僕のこの無謀とも言える希望は叶うはずもなかった。しかし、当時の生物学類の学類長であった藤伊正教授が編入学試験の実施を決断してくれた。千載一遇のチャンスであった。なぜ、編入試験を希望したのか？その答えは簡単である。恐らく、1、2 年勉強してもなお、センター試験では合格できるであろう点数を得ることは困難だったからである。

当初は 3 年次編入学ということで実施された試験であったが、医療短大での成績が極めて悪かったためか、2 年次編入学という条件で入学許可となった。編入学後の僕は毎日、学問した。「強いられて勉める（勉強する）」のではなく、「問いかけながら学ぶ（学問する）」ことを貫いた。そして、この学問を楽しむ過程で、医療技術短期大学部時代の暗記知識がかなり役にたった。例えば、既に解糖系や TCA 回路、電子伝達系といった様々な代謝マップを丸暗記していたため、専門領域の多様な講義を受けてもその生物学的現象の根源理解や応用思考がスムーズに構築できたのである。そして、実験に関しても医療技術短期大学部時代の毎日の実習の甲斐があってか、安易な失敗をすることなく、主題の観察や現象理解に集中することができた。生物学類に編入学してはじめて医療技術短期大学部の教育の実戦性を痛感した。そして、いやいやながら履修していた僕を最後まで教育し、国家試験

にまで合格させてくれた医療技術短期大学部の先生がたへの感謝の気持ちでいっぱいになった。

3 年間の生物学類時代は本当に楽しかった。真剣に学んだ。そして学んだ生命現象を自分の考えとして保存することに集中した。その最大の理由は大学院への進学である。僕が目指したのは、比嘉先生のような研究者である。そのためには、大学を卒業し、大学院で博士号を取得する必要があった。もちろん、そんなに簡単に大学院へ進学できるはずもない。なぜなら、大学院の入試問題は、にわか対策では到底、正解にたどり着けないような思考的設問で溢れていたのだ。だから、編入後の僕はひたすら大学院への入学を見据え、事にあたった。

編入試験実施の決定がどのような経緯でなされ、そしてどのような困難や反対があったかは分からないが、少なくとも、藤伊正教授なくして、研究者、そして大学教員としての現在の私は存在しないことは確かである。藤伊先生が退官して数年後、1 度だけお会いする機会があった。廊下でのほんの数分の立ち話ではあったが、筑波大学の講師になっていた私に、「あの時の編入学試験の決断が正しかったことを証明してくれてありがとう」という、何とも嬉しく幸せな言葉を贈ってくれた。この言葉からも、当時の藤伊教授がどれほどの反対の中、編入学試験の実施を決断、実行してくださったかが伺える。

6.4　博士（理学）を取得し、ミトコンドリア研究の道へ

1999 年 3 月、私は筑波大学大学院生物科学研究科を修了し、念願の理学の博士号を取得した。30 才になっていた。ストレートで理学の博士号を取得した場合は 27 才であるから、私は多くの同級生からは 3 年、遅れていた。今になってみれば、「たいしたことではないのかも」と思えるが、当時の私にとって、この 3 年の遅れは到底埋めることのできない時間として重くのしかかっていた。

本来なら、ポスドクとして海外の研究室に留学し、新たな研究領域への適応を自らの科

学的瞬発力として試しながら研究者として成長して行きたいと願うところだ。しかし、その冒険をする時間が私にはないと思っていた。それは、3 年の遅れとこれまで援助してもらっていた日本育英会の奨学金返済という現実的な問題があったからだ。ところが、当時の私は運良く？そのようなポスドク生活を経ずに 4 月から大学教員に採用される道が開けていた。この就職によって、「3 年の遅れを取り戻せるのではないか？」などと安堵する私が存在していた。しかし、私はその職を受けずにミトコンドリア研究を行っていた林純一教授（当時、助教授）の研究室に転がり込むことになる。採用されたくても大学教員の募集すら稀な御時世になっていた。だから、私の冒険を超えた無茶は、「あいつは全くもって馬鹿だ！！」と形容されることになる。

博士号の予備審査を目前にした 1998 年の冬、私は大学のコピー室で就職に関する最終提出書類をコピーしていた。必要部数分のコピーを提出すれば、大学の教員としての就職がほぼ内定するという安堵感があった。この、ものの 1 分ほどで終わるコピーの作業中に、林先生がコピー室に入ってきた。林先生は 5 年前に埼玉県立がんセンターから赴任してきた新進気鋭の助教授で、哺乳類ミトコンドリアの研究で世界的に活躍し、その将来を嘱望されているような人物であった。そして、彼は私が当時所属していた研究室の卒業生でもあった。そう、彼は私にとって直系の大先輩にあたるのだ。だから、別の研究室の有能な教員とそのへんの大学院生といったドライな関係ではなかった。そのため、以下のような会話が交わされるのは自然であった。

「中田、何をコピーしてんだ？」と絡むように林先生。他言無用ですよと眼で訴えながら「就職関係の最終書類です」と私。「決まりそうなのか？どこだどこだ？」と興味津々に林先生。いそいそとその書類を林先生に見せた次の瞬間、私の一生を変えることになる言葉を吐きすてた。「お前、理学博士になるのに、ピュアサイエンスで勝負しねーで、どうすんだ！！　俺のところで勝負してみろ！！」と林先生。

私の就職先は理学部ではなかった。でも、この就職先に行っても現在の研究を継続でき

ることから、これまで培ってきた知識経験を十分に活用し、これまでと同じペースで研究成果を出せるという自信が私にはあった。そして、波乱万丈だった数年を経て、ようやく人並みに落ち着いた社会人になれるという、月並な幸せも感じていた。そう、安定という生き方を愛おしく思っている自分がいたのだ。しかし、林先生が吐いた言葉で私の思考は一気に変わってしまう。ハングリーな時代の僕、すなわち、科学者への純粋な憧れが蘇ってしまったのだ。

コピー室を出た私はそのまま､指導教員の平林民雄先生のオフィスへ向かった｡そして、30 才になろうとしていた私は生物学領域で研究者として勝負してみたいという本来の想いを訴えた。あの時、消し去った「本当の自分」が､「変えてしまった自分、変わってしまった自分」の「活き方」を全うしたい、全うしなくてはいけない、という想いを全面に出して。そして、今回の就職はお断りするという大胆な決断を実行したい旨、懇願した。不思議と、全く慰留されなかった。ただし、先方にはきちんと説明し、陳謝するよう指導された。そして、その後、先方に伺い、本来は最終書類を手渡すはずが、その書類を片手に、辞退したいという決断を説明した。担当の教授は困惑し、私がしようとしている状況を叱責した。当然である。来週に迫った会議でその書類を基に、人事選考を行う予定を、たかが私の憧れ 1 つで白紙に戻す状況になったのだ。到底、別の候補をたてる時間的余裕もない｡そして､その教授が予定していた 4 月以降の研究プランをも潰してしまうことになる。しかし、その教授は、最終的に私の決断にエールを送ってくれた。たぶん、呆れてしまったのであろうが、とても感謝している。

その後､林先生のオフィスに直行し､就職を白紙に戻してきたことを説明した｡そして、明日からでも林研究室でお世話になりたいという希望を伝えた。とても晴れ晴れしく、溌剌とした気持ちだった。私が思いのたけを語った後､「でも、ポストはねーぞ」と低いトーンで林先生。やはりそうかと思いながら「それを覚悟で先方に無礼をして参りました」と私。平林先生にこの件をお話した際､「林君の研究室に君のポストはないだろう」と忠告さ

れていた。「それでも就職を蹴るだけの気持ちと覚悟があるのだね？」と念を押されていたのだ。だから、ポストなんてどうでも良かった、というのが本心である。安定を愛おしく思っていたついさっきまでの私とは全く逆のベクトルの私が確実にそこにいた。

6.5　ミトコンドリア研究の開始～サイブリット研究からマウス研究への展開

前述のように、mtDNA には酸素呼吸に必要なタンパク質やその翻訳に必要な tRNAs と rRNAs がコードされているため（図 4)、これらの遺伝子に病原性の突然変異が生じてしまうと、酸素呼吸が異常となり、結果としてエネルギー欠乏という最悪な状況に陥ってしまうことは容易に想像できるだろう（図 3)。事実、近年になって、全身性のミトコンドリア機能異常を伴うミトコンドリア病の患者組織から特定の突然変異型 mtDNA の蓄積が見出され、mtDNA の突然変異によって起る病気が認知されるようになった。そして、同様の突然変異型 mtDNA が、われわれにもっとも身近な糖尿病や、アルツハイマー病やパーキンソン病といった神経変性疾患の患者組織、がん組織、さらには老化個体からも、検出されはじめたことを契機に、突然変異型 mtDNA と多様な病気との関係が注目を集めるようになった。

しかし、突然変異型 mtDNA が本当にミトコンドリア呼吸機能の異常を引き起こし、そして多様な病気の原因となるのだろうか？ミトコンドリアの呼吸機能に異常が生じただけで、その原因が mtDNA の突然変異であると決めつけることはできない。なぜなら、ミトコンドリアで行われる酸素呼吸に必要な遺伝子は mtDNA だけでなく核ゲノムにもコードされているからである（図 3)。したがって、まずは、mtDNA の突然変異とミトコンドリア呼吸機能異常の間の因果関係を立証する必要がでてくる。戦略としては、突然変異型 mtDNA を別の正常な細胞に移植したとき、ミトコンドリア呼吸機能異常という表現型も同時に移植されるかを調べることになる。

この研究戦略において、重要な役割を果たしたのが mtDNA 欠損（Rho-0）細胞株である。Rho-0 細胞は、ヒト培養細胞株の HeLa 細胞や 143B 細胞を臭化エチジウム存在下で長期培

養し、mtDNA を完全に欠損させた細胞株である。臭化エチジウムは DNA の複製を阻害するため、長期暴露によって、mtDNA のコピー数が減少してしまい、結果として mtDNA をもたない細胞を単離することができる。Rho-0 細胞は、mtDNA を完全に欠損しているだけで、ミトコンドリアは存在している。しかし、mtDNA がコードする 13 種のタンパク質を完全に消失しているため、呼吸欠損、すなわちエネルギー欠乏状態に陥っている。蛇足になるが、Rho-0 細胞は生存できる。mtDNA がなく、ミトコンドリアの ATP 産生が消失してもなお、その細胞は生存できるのである。これは、培養液に高濃度の糖を充填し、Rho-0 細胞細胞が必要とする ATP を解糖系によってまかなえるようにしておくことで生存させるという荒療治をするのだ。現在では、核遺伝子の操作によって、マウス個体においても mtDNA を減少、消失させることが可能となった。しかし、Rho-0 細胞と異なり、このようなマウスは出生前に、つまり発生途中で死亡してしまう。細胞のように糖負荷による解糖系増強ができないからである。

さて、ではなぜこの Rho-0 細胞が突然変異型 mtDNA の病原性理解に活用できるかを説明したい。例えば、図 5 のように、この Rho-0 細胞に特定の突然変異型 mtDNA を含有するミトコンドリア病の患者と健常者の血小板または線維芽細胞の細胞質をそれぞれ細胞融合させ、細胞質雑種（サイブリッド）株を単離する。このような細胞では、核ゲノムは同一であるが、導入された mtDNA が異なっている。そして、このサイブリット細胞間の呼吸機能やミトコンドリア内のタンパク質合成能を比較することで、患者に含まれる突然変異型 mtDNA の病原性を決定することができるのである。当然、導入された突然変異型 mtDNA に病原性があれば、そのサイブリッドはミトコンドリア呼吸機能異常を呈することになる。

1990 年代、林教授はこのサイブリット研究で世界をリードしていた。しかしながら、サイブリッド細胞の実験系では、突然変異型 mtDNA とミトコンドリア呼吸機能の異常との因果関係は立証できても、誘導されたミトコンドリア呼吸機能異常がどのような病気を引き起こすかは分からない。当然である。培養細胞を用いた系での実験では、突然変異型 mtDNA

がどのような病気を引き起こすかなんて示すことはできないのだから。

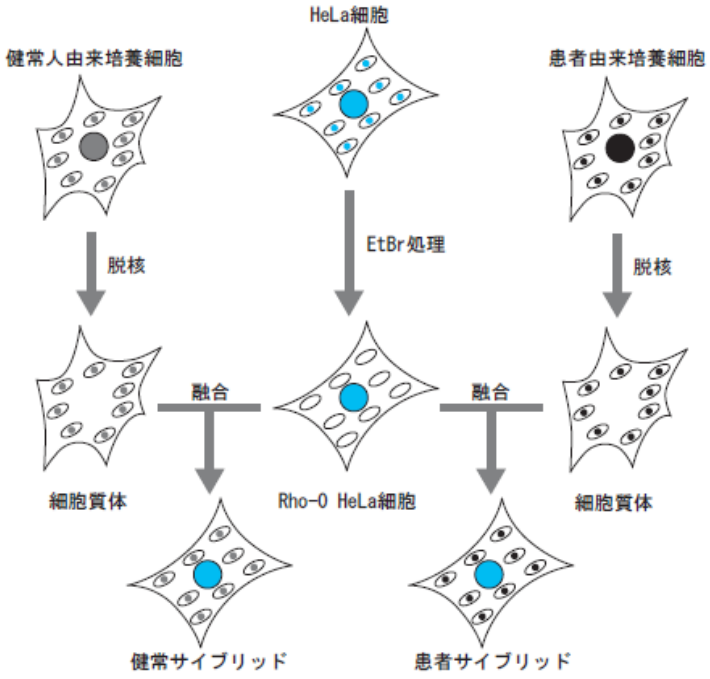

図 5　サイブリット細胞を用いた変異型 mtDNA の病原性解析
mtDNA の突然変異とミトコンドリア呼吸機能異常の間の因果関係は、突然変異型 mtDNA を別の正常な細胞に移植したとき、ミトコンドリア呼吸機能異常という表現型も同時に移植されるかを解析することで証明できる。変異型 mtDNA を有する患者細胞の核ゲノムと変異型 mtDNA を黒色で示す。健常人の細胞の核とゲノムと野生型 mtDNA を灰色で示す。mtDNA を欠損させた Rho-0 HeLa 細胞は核ゲノムを青色で示す。患者細胞と健常細胞を脱核し、それぞれの細胞質体を Rho-0　HeLa 細胞に融合させ、サイブリットを作製する。作製したサイブリットでは、核ゲノムバックグラウンドは Rho-0　HeLa 細胞由来（青色）でミトコンドリアゲノムの由来のみが異なる。したがって、この 2 種のサイブリット間での呼吸機能を比較することで、変異型 mtDNA の病原性を直接的に証明することが可能となる。

しかし、私が林研究室に転がり込んだ当時、ちょうどこの難題に答えることのできる突然変異型 mtDNA 導入マウス（ミトマウス）の作製が世界に先駆けて進められていたのである。そして、そのマウスの病態解析が、国立精神・神経センターの後藤雄一博士（当時、微細構造研究部室長）と埜中征哉博士（当時、微細構造研究部部長）との共同研究で進められようとしていた。そして、私の最初の仕事がこの共同研究への参画であった。私は、林研究室に転がり込んで間もなく、国立精神・神経センターの微細構造研究部に転がり込むことになる。間違いなく、後者への「転がり込む」という表現の方が、林研究室へのそ

れより的確である。なぜなら、寝袋を抱えて満身創痍の状態で国立精神・神経センターにのり込んだのだから。

当時の私の思考回路は明確である。毎日通うには時間と交通費がかかる。これを解消するには滞在先の確保が必要である。しかし、それ相応の宿泊費がかかる。「だったら、結果が出るまで研究所に寝泊まりしてしまえ！！」というが私の考えであった。今思えば、なんとも大胆で、不躾な振る舞いである。この「研究所での寝袋生活」は3ヶ月程続いた。この状態を見兼ねていた埜中先生が研究所の敷地内にある宿舎に入居できるよう手配してくれた。結局、筑波大と国立精神・神経センターの行き来は、ミトマウスの病態解析が終了した後も2年ほど継続することになる。そして、埜中先生から電子顕微鏡法と細胞化学的解析法を融合させたCOX電子顕微鏡法を伝授され、「ミトコンドリア間相互作用」の存在を証明することに成功する。そして、「ミトコンドリア間相互作用」の生物学的意義を解いて行くことになる。

6.6　ミトマウスの作製

突然変異型mtDNAがどのような病気を引き起こすかを調べるには、突然変異型mtDNAを含有するモデルマウスを作製し、そのマウスが発症する病態を詳細に解析するという戦略がもっとも効果的である。現在、核DNAにコードされた遺伝子の破壊や操作は比較的容易に行えるようになってきた。それは、核ゲノムに相同組換えを起こさせるようなウイルスベクターの活用や受精卵の核に直接物質を注入することを可能にした発生工学の進歩に起因する。そしてこれらの先端科学技術を利用して、核ゲノムコード遺伝子の突然変異に起因する多様な病気の理解や効果的な治療法の探索開発が飛躍的に進められている。

一方、mtDNAは外膜と内膜からなる二重の脂質膜で完全に閉ざされたミトコンドリアマトリクス内に、それも複数コピー存在し、また相同組換えを起こさせるようなベクターも発見されていないため、既存の先端科学技術をもってしても、mtDNAに人工的な改変を起

こすことは不可能に近いと考えられて来た。

このような状況の中、われわれは突然変異型 mtDNA を含有するミトマウスの作製に成功したのである。ミトマウスの作製にあたって最も革新的であったことは、人為的に mtDNA に突然変異を導入したのではなく、マウス培養細胞に存在していた体細胞突然変異によって生じた大規模欠失突然変異 mtDNA（欠失型 mtDNA）を、細胞融合法を用いて、ミトコンドリアごとマウス受精卵に移植した点にある（図 6）。まず、マウスの培養細胞にごく微量含まれていた欠失型 mtDNA を、細胞質移植法を駆使してマウス Rho-0 細胞（mtDNA を欠損させたマウス培養細胞）に導入し、サイブリッド細胞を作製する。次に、そのサイブリット細胞のクローニングを何度も行い、欠失型 mtDNA を濃縮したサイブリット細胞を得る。そして、このようなサイブリット細胞を脱核し、細胞質体を電気融合によってマウス初期胚に導入するのである。

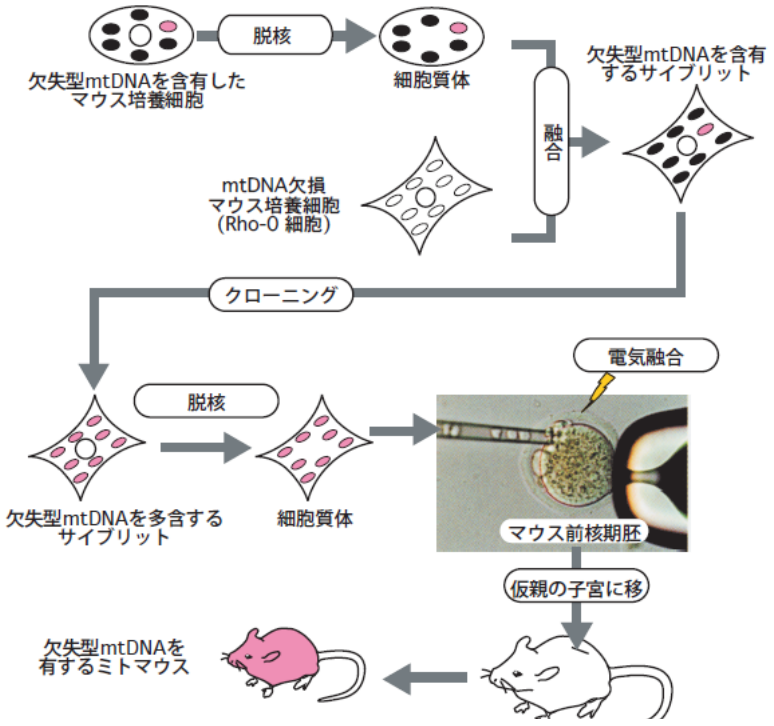

図 6　ミトマウスの作製方法
微量な欠失型 mtDNA を含有するマウス培養細胞を出発材料とし、その細胞質体を mtDNA 欠損マウス細胞（Rho-0 細胞）に融合してサイブリットを樹立する。クローニングをかさねながらこのサイブリット内で欠失型 mtDNA を濃縮し、さらにその細胞質体をマウス初期胚に融合することでミトマウスを作製する。この方法ではマウス初期胚にごく少量の欠失型

mtDNA しか導入できない。しかし、欠失型 mtDNA は野生型 mtDNA よりサイズが小さいため、複製速度が早い。そのため、導入された欠失型 mtDNA はマウスの発生や成長とともに蓄積し、病原性を発揮するようになる。野生型 mtDNA をもつミトコンドリアは黒色で、欠失型 mtDNA をもつミトコンドリアはピンク色で示した。

6.7　ミトマウスの病態解析でわかってきたこと

欠失型 mtDNA は、$tRNA^{Lys}$ 遺伝子から ND5 遺伝子までの 4,696bp を欠失しており、この欠失部位には 7 種類の構造遺伝子と 6 種類の tRNA 遺伝子が含まれている（図 7)。同様の欠失型 mtDNA はヒトのミトコンドリア病でも散見されている。ミトマウスに導入されている欠失型 mtDNA は母性遺伝によってランダムに伝搬されるため、出生したミトマウス集団では個体ごとに、欠失型 mtDNA の含有率が異なっている（比較的含有率の高い母親からは含有率の高い仔を得ることができる)。一方、ミトマウスの核ゲノムのバックグラウンドは C57BL/6J マウスのものであるため、ミトマウス個体間では含有する欠失型 mtDNA だけが変数となる（図 8)。

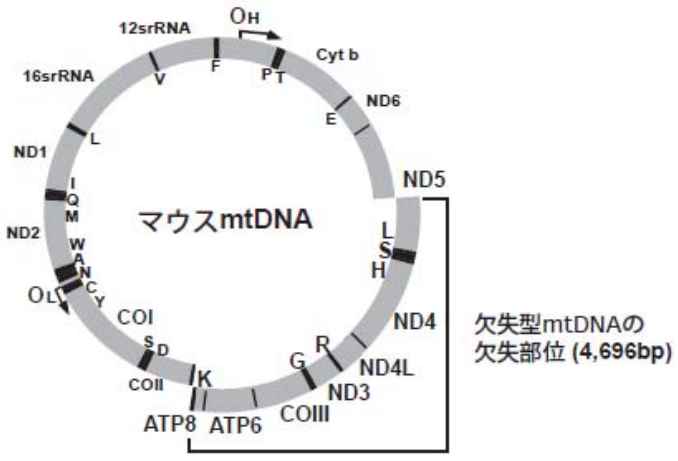

図 7　欠失型 mtDNA の遺伝子地図
欠失型 mtDNA は全ゲノムの約 1/4 以上に相当する 4,696 塩基対を欠失しており、そこには 6 つの tRNA 遺伝子と 7 つの構造遺伝子が含まれている。欠失型 mtDNA を 80%程度含有するミトマウスでは、結果としてミトコンドリア構造遺伝子の翻訳異常が起り呼吸不全となる。

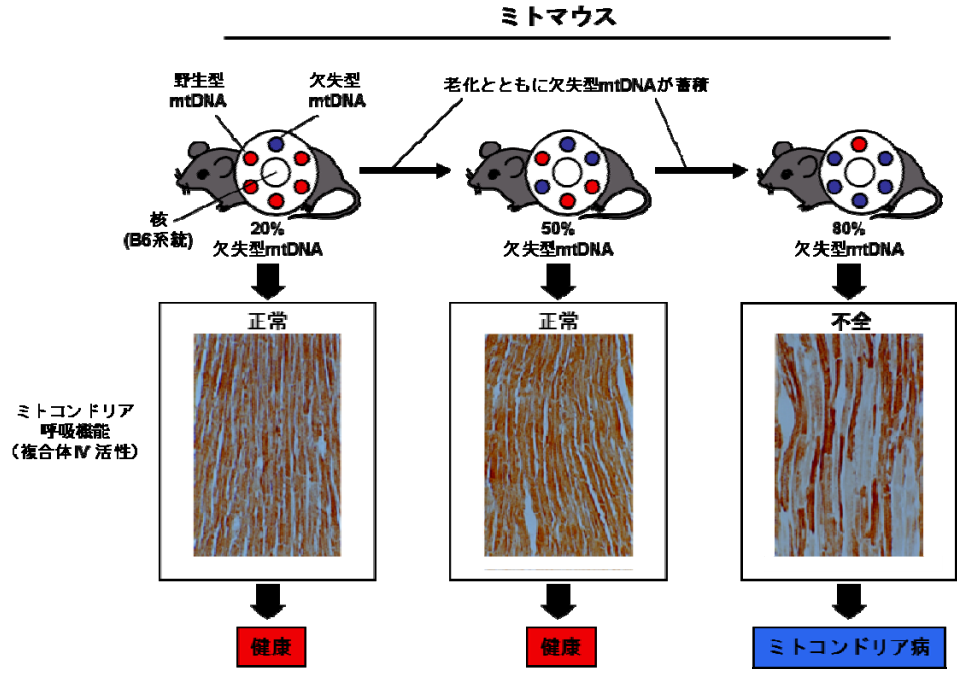

図 8　ミトマウスの生物学的特徴と病態発症における閾値効果

ミトマウスは、欠失型 mtDNA を含有するミトコンドリアを、ミトコンドリアごとマウス初期胚に導入したため、誕生する個体においては、導入された欠失型 mtDNA の含有率のみが変数となる。ミトマウスに含有される欠失型 mtDNA の蓄積が 70%～80%になるとミトコンドリア呼吸不全が誘導され、ミトコンドリア病を発症する。それ以下の蓄積では正常な表現型を呈する。ただし、欠失型 mtDNA の含有率の低いミトマウスも将来的にはミトコンドリア病を発症する。欠失型 mtDNA の含有率の異なるミトマウスの心筋組織の縦断切片におけるミトコンドリア呼吸機能を複合体 IV の活性染色像として示した。茶色の着色は複合体 IV の活性を示している。欠失型 mtDNA を 80%以上含有する心筋組織では、ミトコンドリア呼吸機能の低下が誘導される。ただし、心筋細胞間で含有する欠失型 mtDNA の割合が異なっているため、複合体 IV 活性の低下した細胞（含有率 80%以上）と正常な細胞（含有率 70%以下）がみられる。

そして、欠失型 mtDNA の病原性はミトコンドリア内での構造遺伝子の翻訳異常を介したミトコンドリア呼吸不全として表現される（図 8)。ただし、このミトコンドリア呼吸不全は欠失型 mtDNA の含有比の閾値効果によって制御されていることが分かった。この項では詳しく説明しないが、この閾値効果を制御している機構、が後述する「ミトコンドリア相互作用」であった。例えば、欠失型 mtDNA を 80%含有する組織（図 8 では心筋細胞の例を挙げる)ではミトコンドリア呼吸不全を呈する細胞と正常な細胞が混在している。これは、ミトコンドリア呼吸不全細胞では 80%以上の、正常な細胞では 70%以下の欠失型 mtDNA を含有していることに起因している（図 8)。細胞に含まれる欠失型 mtDNA の割合が 70%以

下の場合は、30%以上存在する野生型 mtDNA から転写される tRNA 群によって、ミトコンドリア呼吸機能を正常に保つことができる。ところが、欠失型 mtDNA が 80%を越えると、野生型 mtDNA から転写される tRNA 群を競合する（奪い合うよう）ようになり、急激にミトコンドリア内の翻訳活性が低下し、ミトコンドリア呼吸不全となるのである。

次に、ミトマウスの病態に話を移すのだが、まず、Rho-0 細胞を用いたサイブリッド研究を思い出してほしい。ミトコンドリアの呼吸機能は核とミトコンドリアの両方のゲノムによる二重支配を受けているため、突然変異型 mtDNA の病原性を確定させるためには、核ゲノムの影響を排除しなくてはならない。そこで、サイブリッド研究では、Rho-0 細胞に患者さんと健常人のミトコンドリアを移植することで、核ゲノムを均一にしたのである。ミトマウスの核ゲノムのバックグラウンドは C57BL/6J マウスのもので、ミトマウス個体間では含有する欠失型 mtDNA だけが変数となっている。そのため、欠失型 mtDNA の含有率の高いミトマウスで発症した病態はすべて、導入されている欠失型 mtDNA によるミトコンドリア呼吸機能の低下に原因があると結論づけられるのである。

結果として、欠失型 mtDNA の含有率が 70%以下のミトマウスは正常な表現型を呈するが、含有率が 70%を超えると軽度のミトコンドリア呼吸異常と乳酸血症を呈し、80%を超える個体では全身性の呼吸不全によるミトコンドリア病の症状を主体とする多様な病態表現型（低体重、全身性のミトコンドリア呼吸機能異常、高乳酸血症、貧血、運動障害、ミオパチー、難聴、心伝導障害、腎不全、雄性不妊など）を呈する。腎障害は極めて重篤で、血中尿素窒素やクレアチニンの上昇を見る。腎組織では尿細管の拡張や糸球体硬化所見、尿円柱が観察される。重度の腎障害を発症した個体は、その後早期に死亡してしまう。生後 4 週齢の時点で欠失型 mtDNA を 70%程度含有しているミトマウスは生後 6 ヶ月齢までには確実に死亡してしまう。このような結果は、確かにヒトの症例でも見られる欠失型 mtDNA が低体重、全身性のミトコンドリア呼吸機能異常、高乳酸血症、貧血、運動障害、ミオパチー、難聴、心伝導障害、腎不全、雄性不妊などの原因になることを直接的に示している

と言える。

ミトマウスに導入されている欠失型 mtDNA は分子サイズが小さいため（図 7)、複製上の利点を有している。すなわち、野生型のそれより、複製速度が早いのである。したがって、出生時に病原性を発揮しない変異率であっても、老化と共に（複製すればするほど）欠失型 mtDNA の含有率が増加し、ミトコンドリア呼吸不全を誘導するための病原性を発揮するようになる（図 8)。前述のように変異率が 70%以下のミトマウスでは正常な表現型を呈するが、このようなマウスであっても老化とともにミトコンドリア病を発症する。ただし、出世時に 20%以下の変異率の個体はその生涯（2〜3 年）を通して変異率が 80%超えるのは稀であるため、重篤なミトコンドリア病を発症することはない。

6.8　ミトコンドリア間相互作用の検証

ミトコンドリアを特異的に生体染色（固定することなく、生きたまま可視化）すると（図 1)、ゆっくりではあるが、細胞質内を移動し、融合したり、分裂したり、まるで細胞中に生き物がいるような動きをする。太古に寄生し、共生関係となったこのミトコンドリアの生きざまをみているような気がするのは私だけだろうか？ このようなミトコンドリアの動的な特性はかなり以前から周知されていた。最近になってようやくこのミトコンドリアの分裂や融合に関与するタンパク質群が決定され、その分子機構が解明されつつある。しかし、このミトコンドリアの動的性格の生物学的な意義は全く不明であった。

酵母や植物では、mtDNA の組換え現象が報告されていた。一方、哺乳類ではそのような現象の存在すら解析できない状況であった。ではなぜ、酵母や植物では mtDNA の組換え現象の存在を証明でき、逆に哺乳類では証明できないのであろう？それは、mtDNA の遺伝様式の相違によるのだ。酵母や植物の mtDNA は母性遺伝しない。これは有性生殖の際に雌雄の配偶子由来のミトコンドリアが接合子（受精卵）の中で共存することに起因している。雌雄それぞれの配偶子に含まれる mtDNA にコードされている遺伝子の種類は同じであるが、

その塩基配列は多少異なっている（このような異なったmtDNA分子種はハプロタイプと呼ばれている）。だから、この雌雄それぞれの配偶子に特徴的な塩基配列差を指標にすれば、互いのmtDNA分子種を識別することができる。この識別を利用して、雌由来のmtDNA分子の特徴をもちながら、その配列の一部に雄由来のmtDNA分子の特徴をもつ、組換えmtDNA分子が見出されたのである。この組換えmtDNA分子の発見は、雌雄の配偶子由来のミトコンドリアが接合子の単一細胞質内で互いに融合してその内容物をやり取りできるという「ミトコンドリア間相互作用」の存在を示している。そして、このミトコンドリア間相互作用を介したmtDNAの組換えによってmtDNAはそのゲノムの多様性を獲得していると考察できる。

一方、われわれ哺乳類であるが、精子由来（父親由来）のmtDNAは、発生の初期、2細胞期までに排除されてしまう。これによって、哺乳類にmtDNAは母性遺伝するのである。すなわち、完全母性遺伝によって、哺乳類では、雌雄のmtDNAが一つの細胞内で共存する機会も完全に失われている。このようなことから、われわれの体に存在するmtDNA分子集団は均一化している。したがって、このような同じmtDNA分子間で組換えを起こしても、組換えmtDNA分子の存在を同定することができない。もちろん、同一のゲノム間で組換えを起こしたとしても、ゲノムの多様性が得られないのだから、哺乳類のmtDNAは組換えの必然性どころか、ミトコンドリア間相互作用の必要性すらも失われていると考えられていた。にもかかわらず、哺乳類の細胞のミトコンドリアは動的で分裂したり融合したりしているのである。

均一なmtDNA分子集団を含有する哺乳類細胞において、ミトコンドリア間相互作用を検証するには、細胞内に別のmtDNA分子集団を導入する必要がある。つまり分子識別可能な2種のハプロタイプ（例えば、ある特定の突然変異を有しているなど）を単一細胞質に共存させる必要がある。共存させて組換えmtDNA分子を探索するという戦略もあるが、前述のように、哺乳類では母由来のmtDNAしかもたないのだから、組換えが起っていてもその

生物学的意義が極めて低い。そこで、われわれは2種のミトコンドリア呼吸機能異常に陥ったヒト培養細胞株を用いて哺乳類のミトコンドリア間相互作用の機能的側面を解明しようと考えた（図9)。まず、Rho-0-HeLa細胞（ヒト培養細胞株であるHeLa細胞のmtDNAを欠損させた細胞）に心筋症の病原性突然変異型mtDNAであることが証明されたtRNA^{Ile}遺伝子の塩基番号4,269位に1塩基置換の突然変異を有するmtDNA（4269mtDNA）を導入し、クローニングを繰り返して、この4269mtDNAのみを持つ4269細胞を単離した（図9A)。この4269細胞は病原性の4269mtDNAをのみ保有するため、ミトコンドリア呼吸欠損（ミトコンドリアの呼吸によるATP産生障害）に陥っている（図9E)。さらに、Rho-0-143B細胞（ヒト培養細胞株である143B細胞のmtDNAを欠損させた細胞）にMELAS（ミトコンドリア病の典型症例)の病原性突然変異mtDNAであることが証明されたtRNA^{Leu}遺伝子の塩基番号3,243位に1塩基置換の突然変異を有するmtDNA（3243mtDNA）を導入し、クローニングを繰り返して、この3243mtDNAのみをのみをもつ3243細胞を単離した（図9A)。この3243細胞は病原性の3243mtDNAのみを保有するため、ミトコンドリア呼吸欠損に陥っている(図9F)。次に、これら2種のミトコンドリア呼吸欠損細胞を融合させて、雑種細胞を得た(図9B)。

一般的に考えるならば、突然変異の生じている遺伝子は異なっているものの、呼吸欠損に陥った2種のミトコンドリアが1つの細胞質に共存しただけであるから、2種のミトコンドリアは呼吸欠損のまま共存すると予想できる。しかし、結果は4269mtDNAと3243mtDNAをそれぞれ持つミトコンドリアを単一細胞質に共存させると、失われていたミトコンドリア呼吸機能が回復したのである（図9G、図9H)。すなわち、互いのミトコンドリアには突然変異によって tRNA^{Ile} と tRNA^{Leu} がそれぞれ機能不全となっているが、共存後、正常なtRNA^{Ile}とtRNA^{Leu}が相手のミトコンドリアから供給されたため、ミトコンドリア内の翻訳系が回復し、結果として呼吸機能が回復したと考察することができる（図 9B、9C、9D)。この生体現象は、細胞内に存在する個々のミトコンドリアは機能的にはあたかも単一のオルガネラとして振る舞っていることを示している。

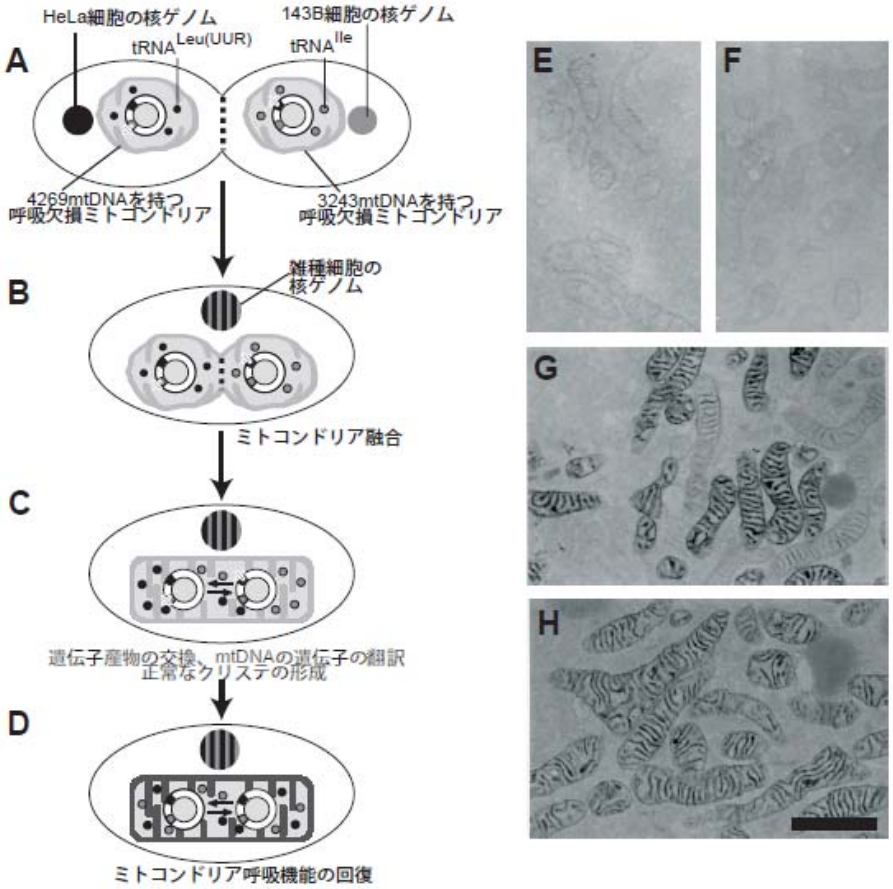

図 9　培養細胞を用いたミトコンドリア間相互作用

ミトコンドリア呼吸活性の指標である complex IV（COX）活性の電子顕微鏡観察結果（E-H）をもとに、ハイブリッド細胞のミトコンドリアで COX 活性が回復するまでの様子を模式的に描いた。Scale bars, 1μm。

A.　$tRNA^{Ile}$遺伝子突然変異 4269mtDNA のためミトコンドリア内の翻訳系が止まり呼吸欠損となった親細胞（E）と $tRNA^{Leu}$遺伝子突然変異 3243mtDNA のためミトコンドリア内の翻訳系が止まり呼吸欠損となった親細胞(F)。それぞれの細胞に含まれるミトコンドリアの COX 活性は完全に消失している。

B.　それぞれの親細胞の呼吸欠損ミトコンドリアは、細胞融合によって同一細胞内に共存する状況がつくられると、これらのミトコンドリアどうしの融合も可能になる。

C.　呼吸欠損ミトコンドリアどうしの融合によってミトコンドリア内の遺伝子産物の交換が可能になると、お互いに機能しなかった $tRNA^{Ile}$ と $tRNA^{Leu}$ が、それぞれ正常な $tRNA^{Ile}$（小さい灰色の丸）と $tRNA^{Leu}$（小さい黒色の丸）が双方のミトコンドリアから供給され、ミトコンドリア内の翻訳系の働きが回復し､それにともなって mtDNA に指令されている 13 種のすべてのペプチドの合成が回復する。これらのポリペプチドが内膜に集合し、異常な形態をしていたミトコンドリアのクリステが正常な形態をとるようになり、COX 活性の回復がはじまる（G)。

D.　長期培養すると全てのミトコンドリアの COX の活性が完全に回復する（H)。

6.9　ミトマウスにおけるミトコンドリア間相互作用と病態発症

ヒトの培養細胞におけるミトコンドリア相互作用は、ミトコンドリア呼吸機能異常をその原因である突然変異によって失われたmtDNAコードの遺伝子産物の相補というかたちで、われわれひとりひとりの健康を守るために機能していると考えられる。そこで、ミトマウスを用いてわれわれのからだの中でのミトコンドリア間相互作用の重要性を検討した。

ミトコンドリア病モデルマウスであるミトマウスは、欠失型mtDNAを有する培養細胞の細胞質体をマウス受精卵に電気融合することで（マウス胚にミトコンドリアごと欠失型mtDNAを導入することで)、作製された(図6)。この時、マウス個体に移植した欠失型mtDNAを有する培養細胞のミトコンドリアは、ミトコンドリア呼吸活性を消失した 呼吸（-）ミトコンドリア（図10、白色のミトコンドリア：ドナー由来ミトコンドリア）である。そして受容体となったマウス受精卵には、野生型mtDNAのみを持つ呼吸(+)ミトコンドリア(図10、黒色のミトコンドリア：ホスト由来ミトコンドリア）が存在している。したがって、もしこの両者の間に相互作用がなければ、つまり、欠失突然変異によって失われている遺伝子群をホスト由来の呼吸（+）ミトコンドリアから供給されなければ、外来性の呼吸（-）ミトコンドリアと内在性の呼吸(+)ミトコンドリアは、胚発生過程でランダムに分配され、結果的にミトマウスの細胞には呼吸（-）と呼吸（+）のミトコンドリアがモザイクに共存するようになると考えられる。例えば、理論的には、欠失型mtDNAを60％もつ組織の細胞では、おおよそ 60％のミトコンドリアが呼吸（-)、40％のミトコンドリアが呼吸（+）となる。これに対し、もしこの両者の間に相互作用があれば、つまり、欠失突然変異によって失われている遺伝子群がホスト由来の呼吸（+）ミトコンドリアから供給されれば、外来性の呼吸（-）ミトコンドリアの呼吸機能は回復するか、または逆に欠失突然変異によって失われている遺伝子群を取り合ってしまって内在性の呼吸(+)ミトコンドリアでさえ呼吸（-）になってしまうと考えられる。したがって、ミトコンドリア間相互作用がない場合、ミトマウスを構成する個々の細胞に存在するミトコンドリアは呼吸（+）か、呼吸（-）に

なると予想できる。

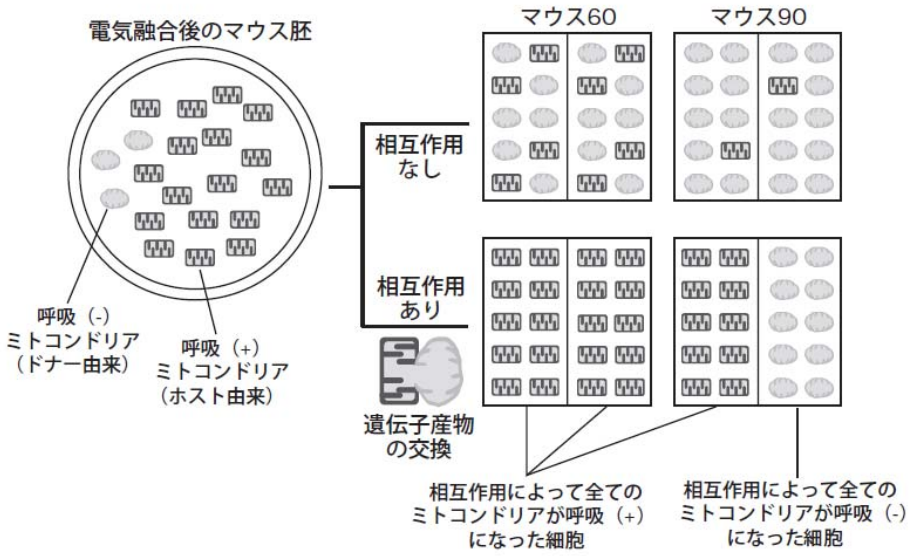

図 10　ミトマウスを用いたミトコンドリア間相互作用の検証
ミトマウスにおけるミトコンドリア間相互作用の模式図。電気融合後のマウス胚には、ホスト由来の呼吸活性を有したミトコンドリア（呼吸（+）　ミトコンドリア）とドナー由来の呼吸欠損ミトコンドリア（呼吸（−）　ミトコンドリア）が共存している。これらの呼吸（+）　ミトコンドリアと呼吸（−）　ミトコンドリアの間で相互作用がなければ（右上）、理論的には、欠失型 mtDNA を 60%持つミトマウス（マウス 60）の各組織の細胞では、おおよそ 60%のミトコンドリアが呼吸（−）、40%のミトコンドリアが呼吸（+）となる。同様に欠失型 mtDNA を 90%持つミトマウス（マウス 90）の各組織の細胞では、10%のミトコンドリアだけが呼吸（+）になると考えられる。一方、相互作用がある場合は（右下）、欠失によって失っていた遺伝子産物をホスト由来のミトコンドリアが相補するため、マウス 60 やマウス 90 の細胞では、全てのミトコンドリアが呼吸（+）または呼吸（−）になると予想できる。

この仮説の真偽を確かめるべく、ミトマウス 0（欠失型 mtDNA を含まないマウス）、ミトマウス 60（欠失型 mtDNA を 60％含有するマウス）、ミトマウス 90（欠失型 mtDNA を 90％含有するマウス）を用い、細胞内の個々のミトコンドリアの呼吸活性を電子顕微鏡を用いて機能形態学的に観察した。ここでは心筋細胞の結果を紹介するが（図 11）、骨格筋や腎臓の尿細管細胞でも同様の観察結果を得ている。マウス 0 とマウス 60 では、全ての細胞の全てのミトコンドリアが呼吸（+）であった。これに対し、マウス 90 では呼吸（+）ミトコンドリアのみを持つ細胞と呼吸（−）ミトコンドリアのみを持つ細胞が存在し、決して呼吸（+）

と呼吸（-）ミトコンドリアの両方が同一細胞内に混在することはなかった（図 11)。さらにマウス 60 やマウス 90 において、 呼吸（+）のミトコンドリアを均一に有する細胞であっても、欠失型 mtDNA が検出された。

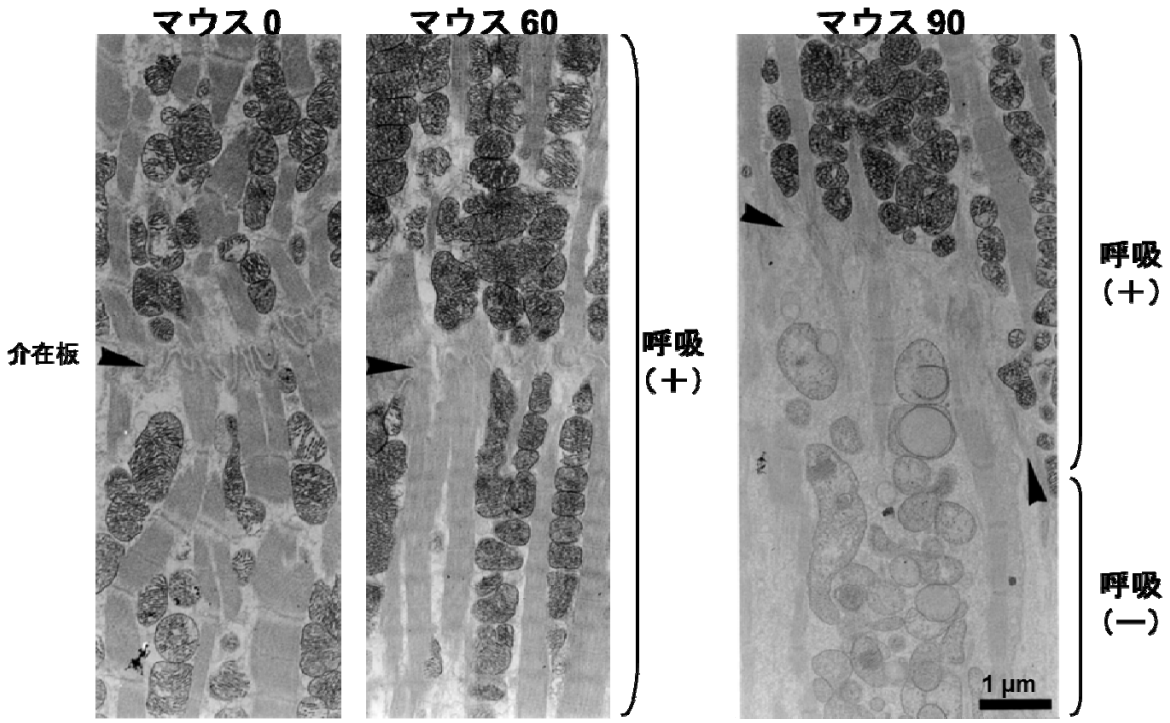

図 11　心筋細胞におけるミトコンドリア間相互作用
心筋細胞内の個々のミトコンドリアの呼吸活性。マウス 0 とマウス 60 では、全ての心筋細胞の全てのミトコンドリアが呼吸（+）（黒色で可視化されている）であった。これに対し 90%マウスでは呼吸（+）ミトコンドリアのみを持つ細胞と COX-ミトコンドリアのみを持つ細胞が存在し、決して呼吸（+）と呼吸（-）ミトコンドリアの両方が同一細胞内に混在することはなかった。マウス 90 において、呼吸（+）と呼吸（-）の心筋細胞の細胞質に含まれる欠失型 mtDNA の割合を定量すると、呼吸（+）の心筋細胞では 76.3±2.0%、COX-の心筋細胞では 91.6±2.2%であった。矢尻は介在板の位置を示している。介在板によって個々の心筋細胞が連結され、繊維状の構造をとっている。したがって、介在板の上下では別々の心筋細胞の細胞質が観察される。

この実験系において、呼吸（+）のミトコンドリアは受容体となった野生型 mtDNA のみを含有するマウス胚にのみ含まれており、呼吸（+）のミトコンドリアは野生型 mtDNA のみを含有するはずである。しかし、ミトマウスにおいて呼吸（+）のミトコンドリアのみを有している細胞であっても、欠失型 mtDNA をもつ外来性ミトコンドリアが含まれているにもかかわらず、呼吸（-）と呼吸（+）のミトコンドリアがモザイクに共存することはなかっ

たのである（図 10、図 11)。

これらの結果は、外来性の呼吸（-）ミトコンドリアと内在性の呼吸（+）ミトコンドリアの融合と、それに続く物質の交換、すなわちミトコンドリア間相互作用を想定して初めて説明することができる。欠失型 mtDNA はその欠失部位に 7 種の tRNA 遺伝子を含んでいるので（図 10)、欠失型 mtDNA 分子単独では、mtDNA にコードされている 13 種の構造遺伝子を翻訳することができない。例えば、細胞に含まれる欠失型 mtDNA の割合が 80～90%の場合は、20%程度存在する野生型 mtDNA から転写される tRNA 群を借りることで（分裂・融合で遺伝子産物を交換するため)、細胞内の全てのミトコンドリアは翻訳を正常に行うことが可能で、それによって呼吸機能も正常に保つことができる（図 12：正のミトコンドリア間相互作用)。ところが、欠失型 mtDNA が 80%を越えると、野生型 mtDNA から転写される tRNA 群と競合するようになり、急激にミトコンドリアの翻訳活性が低下し、欠失型 mtDNA が 90%を超えてしまうと、そのような細胞に存在する全てのミトコンドリアの呼吸機能が失われてしまう（図 12：負のミトコンドリア間相互作用)。この細胞における全てのミトコンドリアの機能喪失こそが、様々な病態発症を引き起こす原因になっているのだ。このように、ミトコンドリアはミトコンドリア間相互作用を介して、細胞内の個々のミトコンドリアを”one for all, all for one（個は全てのために、全ては個のために）”で存在させていると言える。そして、この個々のミトコンドリアにおける相互作用によって、細胞にとって致命的な突然変異が mtDNA に生じたとしてもそれを打ち消し、そして、結果として安定的にエネルギーを供給していると言える。ミトコンドリアにとってわれわれの細胞はその起源を辿れば宿主となる。この宿主との安定的な共生関係を構築する上で、ミトコンドリアはこの相互作用を進化させ、われわれの健康に重要な役割を果たすようになったのだろう。重要なことは、ミトコンドリアはただただ宿主にエネルギーを供給するだけの存在でなく、その安定的な供給をも、自らの進化によって約束してくれているのだ。

6.10　ミトコンドリア相互作用からミトコンドリア老化原因説を再考する

われわれがどんなに頑張っても老化という現実的な未来から逃れることはできない。この老化というプロセスにミトコンドリアが大きく関与しているという仮説、すなわち「老化ミトコンドリア原因説」が提唱されていることはあまり知られていないかもしれない。この「老化ミトコンドリア原因説」では、1）酸素呼吸の過程で発生してしまうROSが酸化ストレスとしてmtDNAに多様な体細胞突然変異を生じさせ、2）このような変異型mtDNA分子集団がミトコンドリア呼吸機能の異常を誘導し、3）この呼吸機能異常がさらなるROSの大量発生を誘発し、4）多量なROSの発生がmtDNAへのさらなる突然変異を引き起こす、という悪循環の形成が、老化という複雑な現象の原因となるとしている。確かに、老化個体では、その組織のミトコンドリア呼吸機能は低下傾向にあり、そして、多様な後天的な突然変異がmtDNA分子に生じているようである。だから、後者を原因、そして前者を結果と考えれば、「ミトコンドリア老化原因説」は説得力のある仮説である。

ごく最近、この仮説を立証するマウスモデルが2004年のネイチャー誌の表紙を飾り、「老化ミトコンドリア原因説」があらためて脚光をあびるようになった。この老化モデルマウスでは、mtDNA分子に後天的で多様な突然変異が急速に誘導されるように、核遺伝子を改変してある。その素晴らしい科学的発想を紹介したい。

DNAの複製に関わる酵素は、鋳型のDNAの塩基配列の相補鎖を合成する機能と、鋳型の塩基とは異なる塩基を複製してしまった場合その塩基を正しい塩基に置換する機能を有している。スウェーデンのカロリンスカ研究所のラーション教授が率いる研究グループが、この後者の機能に着目し、mtDNA専用のDNA複製因子（ポリメラーゼγ：PolG）の校正機能のみを破壊したマウス（PolG-mut/mutマウス）を作製したのである。このようなマウスではPolGの複製機能は正常なため、mtDNAを複製すればするほど後天的な突然変異（体細胞突然変異）がmtDNA分子にランダムに発生し、結果として全身性に多様な点変異型mtDNAや欠失型mtDNAの分子種が蓄積してしまう。PolG-mut/mutマウスの組織ではミトコンドリ

ア呼吸機能の低下がみられ、そして、初期老化（寿命短縮、脱毛、脊柱彎曲、生殖機能低下、心疾患など）の表現型を呈するというのだ。これらの結果から、ラーション教授らは、この PolG-mut/mut マウスは「老化ミトコンドリア原因説」を実証する個体モデルであると報告している。

マウスの臓器に蓄積した多様な変異型 mtDNAs がミトコンドリア呼吸機能を低下させ、老化という表現型の原因となっているのであろうか？この問いに関してはわれわれの先行研究が極めて重要になってくる。前述のようにミトコンドリア間相互作用を考慮すると、特定の変異型 mtDNA が閾値を超えて蓄積した場合のみ、ミトコンドリアは呼吸欠損となり病態が誘発されるが、多様な変異型 mtDNA が細胞内に蓄積したとしても、ミトコンドリア呼吸機能は正常に保たれるはずである（図 9)。事実、ミトマウスにおいても、欠失型 mtDNA がおおよそ 80%以上蓄積しない限り、ミトコンドリア呼吸機能異常どころか、病態すらも発症しない（図 12)。健康なのである。ラーションらが作製したマウスの臓器には多様な変異型 mtDNAs の蓄積が見られるものの、個々の変異型 mtDNA が閾値を超えるほど蓄積していないのである。つまり、老化とともに多様な突然変異が mtDNA に生じたとしても、ある特定の mtDNA 分子のみが蓄積しない限り、呼吸欠損にはならないのである。なぜなら、ある変異型 mtDNA において、変異によって失われた遺伝子産物は、同じ変異をもたない別の変異型 mtDNA から供給されるからである（図 9)。このように、mtDNA 分子集団にたとえ多様な突然変異が起ったとしても、ミトコンドリア呼吸機能は正常に保たれると言える。

では、「老化ミトコンドリア原因説」において重要なキャスティングである ROS が PolG-mut/mut マウスの早期老化という表現型に関与しているのであろうか？多様な突然変異を有する変異型 mtDNA から転写翻訳された呼吸鎖酵素複合体は活性酸素を放出しやすく、これが多様な機能物質を変性させ、老化に寄与するという可能性である。確かに老化とともに、ROS の発生量は増加すると言われている。しかし残念ながら、PolG-mut/mut マウスにおいて ROS は上昇していなかったのである。つまり、PolG-mut/mut マウスのミトコ

ンドリア呼吸機能異常や早期老化の誘導に ROS も関与していないと結論できる。

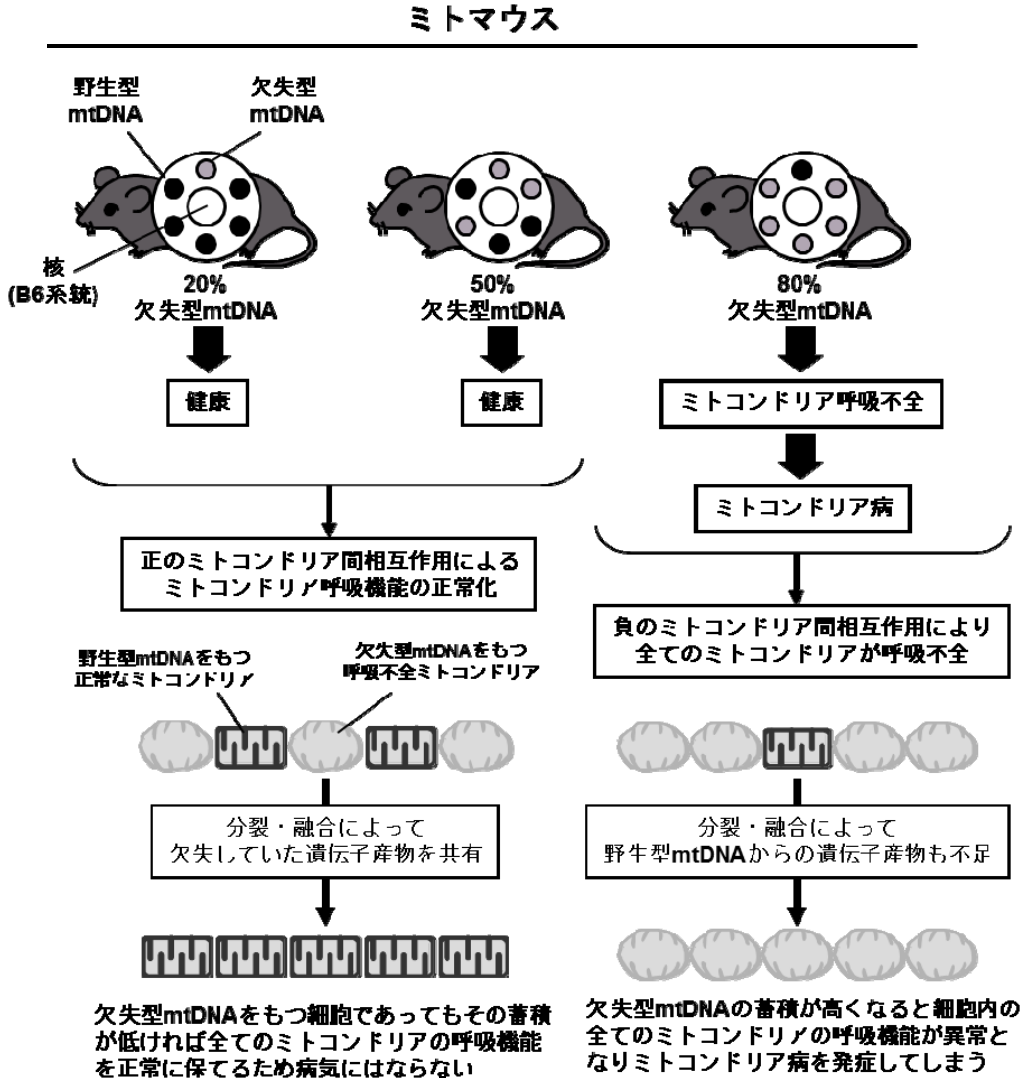

図 12　ミトコンドリア間相互作用による病態発症調節
ミトマウスおいて 欠失型 mtDNA を 80%以上含有する個体では、低体重、全身性のミトコンドリア呼吸機能異常、高乳酸血症、貧血、運動障害、ミオパチー、難聴、心伝導障害、腎不全､雄性不妊などが観察される｡このような個体は生後 6 ヶ月程度で死亡してしまう。興味深いことに、欠失型 mtDNA が大量に蓄積していない個体では、臨床症状は観察されない。ミトマウスの病態発症は細胞内の正のミトコンドリア間相互作用と負のミトコンドリア間相互作用によって調節されている。

さらに、興味深いのは、PolG-mut/mut マウスにおいて初期老化という表現型を呈するのは機能破壊のホモ個体（mut/mut）で、ヘテロ個体（mut/+）は全く正常なのである。ところが、若いヘテロ個体（mut/+）は老化した正常マウス（+/+）より点変異型 mtDNA 分子種

を明らかに多含しているにもかかわらず、表現型は正常なのである。これは、PolG-mut/mut マウスにおける多様な点変異型 mtDNA 分子種の蓄積は早期老化という表現型の原因にならないことを示している。

では、いったい何が PolG-mut/mut マウスに早期老化という表現型をもたらしたのだろうか？　PolG-mut/mut マウスでは、老化とともに臓器や組織の mtDNA に多様な突然変異が生じることは間違いない。しかし、ミトコンドリア間相互作用によって、個々の多様な変異型 mtDNA 分子種の病原性は打ち消されてしまう。そこで、現在考えられているのが、「クローナル・エクスパンジョン仮説」である。この仮説では、突然変異を生じた mtDNA 分子は個々の細胞において単一のものしか増えることができない、もしくは、残らないのではないか？と仮定されている。つまり、PolG-mut/mut マウスの細胞には多様な突然変異が mtDNA に生じるが、単一細胞にはそのうちの特定（1 種類）の変異型 mtDNA 分子種のみがクローナルに蓄積するというのである。したがって、PolG-mut/mut マウスのある単一の細胞には、ミトコンドリア呼吸機能を低下させるだけの、つまり病原性を発揮することのできる閾値を超えた特定の病原性変異型 mtDNA 種が存在する。そして、他の細胞には他の病原性変異型 mtDNA が閾値を超えて蓄積しているというのだ。だから、組織として変異型 mtDNA を解析すると多様な変異型 mtDNA が検出されるが、それらの含有率は、みかけ上閾値以下になっていると考えられている。この仮説なら、ミトコンドリア相互作用が存在していても、PolG-mut/mut マウスにおける早期老化の誘導の原因を多様な変異型 mtDNA 分子種の蓄積として説明できるのである。しかし、ランダムに生じてしまう突然変異でありながら、それらを有する mtDNA 分子が細胞内でクローナルに蓄積できるというアイデアは、どのような機構を想定すればよいのだろう？　今後の研究展開が楽しみである。

最近、興味深いアイデアが発表された。PolG-mut/mut マウスにおける早期老化の誘導の原因は、mtDNA に生じた特定の致死変異（death mutation）によるのではないか？という考察である。すなわち、PolG の校正機能の破壊によって、時間とともに多様な突然変異が

生じてしまう。その突然変異のうち、理由はともかく、細胞を死に追いやってしまう変異があるのではないかという可能性を想定しているのである。確かに、PolG-mut/mut マウスでは細胞死が増加しているため、このような mtDNA の致死変異という可能性もあるのかもしれない。しかし、どのような機構で、細胞内のある特定の mtDNA の突然変異が、それもその細胞にはそのような致死変異をもたない mtDNA がたくさんあるにも関わらず、その細胞を死に追いやるのだろうか？

このように「老化ミトコンドリア原因説」は PolG-mut/mut マウスによって実験的に立証されたかに思われたが、実のところは、PolG-mut/mut マウスの登場によって新たな謎が増えてしまったといえる。しかし、老化とともにミトコンドリアの呼吸活性は低下していくことは事実であるため、老化という現象に、原因なのか結果なのかはともかく、ミトコンドリアの機能が何らかのかたちで関与していることは間違いないだろう。

6.11　ミトコンドリア病の出生前治療

ミトマウスの解析を通して、われわれは、欠失型 mtDNA は含有率 80％という閾値以下であれば、その病原性を発揮できないという重要な知見を得た（図 12）。この知見は、ミトコンドリア病の出生前治療の可能性を示唆していた。

mtDNA は母性遺伝様式に従って次世代に遺伝するため、変異型 mtDNA を保有する母親から生まれる子供は変異型 mtDNA を含有する可能性だけでなく、将来的にミトコンドリア病を発症する可能性がある。しかし、もしこのような受精卵において変異型 mtDNA の割合を減らすことができれば、生まれてくる子供のミトコンドリア病の発症を抑制できるかも知れない。つまり、卵の時点で変異型 mtDNA の含有率を病態発症閾値以下に低下させることができれば、その個体は変異型 mtDNA を含有していたとしてもミトコンドリア病を発症しないと思われる。

そこで、受精卵治療の可能性を、ミトマウスを用いて検証したのである。ミトマウス受

精卵に含有される欠失型 mtDNA の割合を低下させる方法としては、野生型 mtDNA を含有するミトコンドリア（正常なマウス卵の細胞質）をミトマウス受精卵に移植する方法も考えられるが、この方法では微量なミトコンドリアしか導入できない。そのため、このような方法では欠失型 mtDNA の存在量を病態発症閾値以下にすることは不可能に近い。このため、除核した正常なマウス卵（野生型 mtDNA のみを含有する）にミトマウス受精卵の核を移植する方法をとった（図 13）。核移植の際には核の周囲の欠失型 mtDNA を含むミトコンドリアも同時に持ち込まれることになるが、その割合は卵全体のミトコンドリアの約 6%であり、呼吸活性の低下を引き起こすことはないと予想された。さらに、前述のように、細胞内の個々のミトコンドリアは互いに分裂・融合を繰り返し内容物を交換すること（ミトコンドリア間相互作用）が可能ため、もち込まれた約 6%のミトコンドリアは正常なミトコンドリア（野生型 mtDNA を含有するミトコンドリア）と相互作用し、正常なミトコンドリア呼吸機能を取り戻すと考えられた。

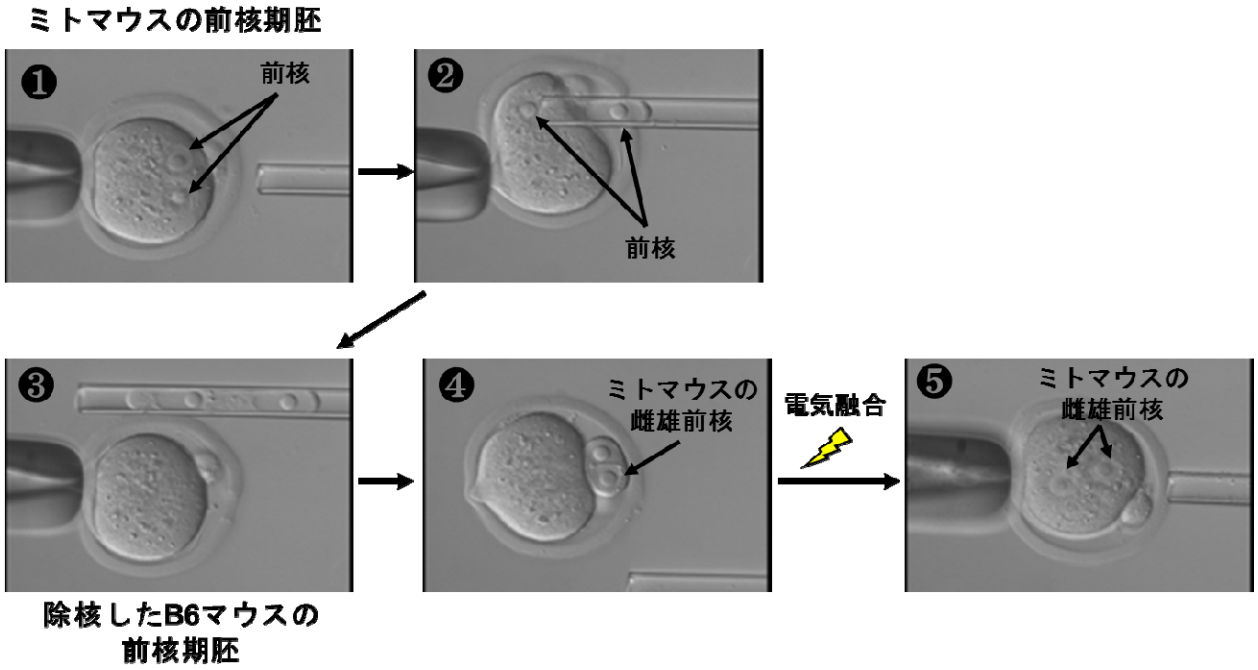

図 13　受精卵核移植による出生前治療
ミトマウスの前核期胚（❶）から雌雄前核を取り出す（❷）。除核しておいた B6 マウスの

前核期胚(❸)にミトマウスの前核期胚から取り出した雌雄前核を囲卵腔に移植する(❹)。電気融合操作によって、ミトマウスの雌雄前核を除核した B6 マウスの前核期胚に導入する（❺）正常の B6 マウスの卵には $5x10^5$ コピー程度の mtDNA 分子が含まれている。雌雄前核の移植に際して B6 マウスの前核期胚に持ち込まれるミトマウス由来の mtDNA 分子(野生型+欠失型）は $3x10^4$ コピー程度である。

欠失型mtDNAを35%程度含有するミトマウスの受精卵をそのまま発生させると、欠失型mtDNAは出生時に65%に増加し、8ヶ月齢には80%を超え、ミトコンドリア病を発症し、死亡してしまう。欠失型mtDNAは野生型のそれと比べ、分子サイズが小さいため複製の効率が良い。そのため、時間（発生）とともに欠失型mtDNAの含有率は増加してしまうのである。一方、欠失型mtDNAを35%程度含有するミトマウスの受精卵の核を正常マウスの受精卵に移植すると、欠失型mtDNAは出生時に11%程度にまで減少し、その後、1年を超えても 20%程度にしか増加しなかった。また、このような個体ではミトコンドリア病に特徴的な臨床症状は全く観察されず、正常マウスと同様の寿命を有していた。つまり、核移植による受精卵における欠失型mtDNAの減少によって、ミトマウスに特徴的なミトコンドリア病の諸症状は完全に抑制されることが分かった。

6.12　核移植を用いた出生前治療の生物学的な問題点

ミトマウスでの成果を受け、現在では、出生前治療法がヒトに応用されつつある。しかし、倫理的な問題はもとより、解決しなくてはならない生物学的問題も残されている。

哺乳類の mtDNA は母性遺伝するため、個体に含まれる mtDNA は単一な分子集団である（個々の分子には異なる体細胞突然変異が生じていることはある）。しかし、核移植治療によって誕生した個体には元の受精卵由来と移植先の受精卵由来の2種のmtDNA分子種が混在してしまうことになる。先行研究において、われわれは、分子識別可能な 2 種類の mtDNA 分子を導入した新たなミトマウスを作製し、ミトコンドリア間相互作用を介した mtDNA 分子間の組換え現象の存在を発見していた。したがって、核移植治療を行った場合、

異なる卵由来の 2 種の mtDNA 分子だけでなく、それらの組換えよって生じた新たな分子種が多様に形成される可能性がある。このような複数の mtDNA 分子種の混在による病原性の検証が今後の大きな研究課題である。

では、実際、mtDNA の分子種の違いはわれわれの生命活動に重要なのであろうか？　一般的に「賢い」や「愚か」という形質は核ゲノムと環境要因の相互作用によって決まると考えられている。しかし興味深いことに、CBA と NZB という 2 種のマウスを用いた学習実験において、mtDNA 分子種がマウスの行動や学習を変化させるという先行研究がある。前述のように mtDNA は母性遺伝するため、雄 CBA と雌 NZB で交配すると、核ゲノムの半分は CBA 由来、残り半分は NZB 由来、mtDNA は NZB 由来という F1 が誕生する。この F1 の雌に雄 CBA を交配し、得られた F2 の雌に雄 CBA を交配し、というような戻し交配を繰り返していくと、結果として核ゲノムは CBA で mtDNA は NZB というマウス（CBA-NZB マウス）を得ることができる。逆に、核ゲノムは NZB で mtDNA は CBA というマウス（NZB-CBA マウス）も得ることができる。

まず、CBA マウスと NZB マウスの学習解析を行い、両者を比較すると、CBA マウス（CBA の核ゲノム、CBA の mtDNA）は賢く、NZB マウス（NAB の核ゲノム、NZB の mtDNA）は愚かであった。ところが、CBA-NZB マウスは賢い CBA の核ゲノムをもっているにも関わらず CBA マウスより愚かに、逆に、NZB-CBA マウスは愚かな NZB の核ゲノムをもっているにも関わらず NZB より賢くなったというのである。このような結果は、mtDNA のタイプ（ハプロタイプ）が学習能力に関与している可能性を強く示唆している。この他にも、マウスの mtDNA のタイプが難聴に、ヒトの mtDNA のタイプが男性不妊症や寿命にそれぞれ関与している可能性も示唆されている。

前述のように、受精卵核移植によるミトコンドリア病の出生前治療では由来の異なる mtDNA 分子種が共存する子供が誕生する。ということは、このような複数の mtDNA 種の混在によって、生まれた子供の本来の形質が乱される可能性も充分に考えられるのだ。例え

ば、本来は「賢い」タイプの mtDNA だったにも関わらず、移植先の受精卵が「愚か」なタイプの mtDNA だったため、学習能力が低下してしまった、などということが起るかも知れない。さらには、難聴や男性不妊症になりやすいなどという病気の発症に繋がる可能性も否定できない。このような点をふまえ、mtDNA のタイプによる表現型の違いや、それらが混在する場合の新たな病原性の発現機構などを解明していく必要性がでてきている。

6.13　私が研究者を続けられている理由

研究活動において、林教授はめったに私を褒めない。褒められたのはこれまで 3 度である。13 年で 3 回である。だから、何に対して、どのように賞賛されたのかを、ハッキリ憶えている。もっとも印象深かったのは、ミトコンドリア間相互作用に関する成果が Nature Genetics と Nature Medicine に掲載された後であった。賞賛の仕方は表面的な言葉などではない。一枚のイラストを手渡された（図 14)。そのイラストには 2 つのミトコンドリアが融合している様が描かれ、それぞれのミトコンドリアのマトリクスは JIH、KN と見ることができた。JIH は Jun-Ichi Hayashi の頭文字、KN は Kazuto Nakada の頭文字である。

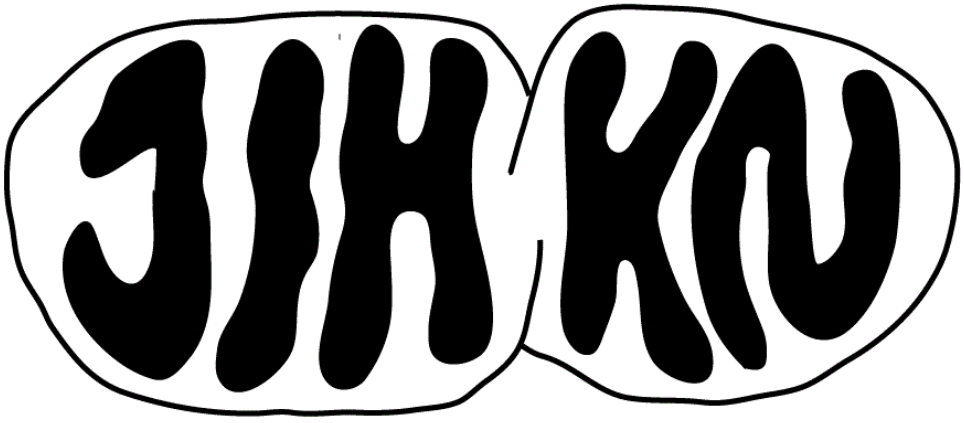

図 14　林-中田のミトコンドリア間相互作用

彼の意図は、ミトコンドリアの相互作用のように、自分と私が互いに足りないものを相補・補完しながら、今後の研究活動で新たな歴史を創っていこうという意味である。とても「にくい」ことをする上司である。私にとってこのイラストは、どんなに過酷な実験であろうと、どんなに辛い状況に陥っても、諦めず、前に進む活力源になっている。これまで、何度このイラストに助けられたか分からない。研究活動では、なかなか結果を出せなかったり、自分の仮説が間違っていることを認識するまで数年かかってみたりと、体力と精神力が極限状態になることも多々ある。また、自分より優れた人間性や科学的思考をもった研究者も山ほどいる。だから、現実から逃避したいと思ったことは何度もあるのだ。そんな時、このイラストは、「もう一歩踏み出そう」、そう思わせてくれる。

「これは、林先生と君が分裂するところだね？」なんて、からかわれることもある。それもありだと思っている。時には、分裂してでも互いが自分の考えを貫く。そしてそこから得た成果や考えを互いにもちより、融合させ、新たな研究視点を創出する。これが 13 年経った現在のイラストの解釈であり、われわれの状況でもある。今後、このイラストの解釈がどのように進化していくのか、私自身、とても楽しみにしている。

ところで、林先生はこのイラストのことを憶えているのだろうか？　そして、こんなにも私の動機づけ材料になるだろうことを想定していたのだろうか？　こんなことを想定してイラストを描いていないあたりが林先生らしいところではある。

6.14　おわりに

私は 40 才代という立派な年齢に突入し、筑波大学には教授として勤務させてもらっている。大学院終了後の研究歴ももう 13 年になる。そして、数年前には日本学術振興会賞や文部科学大臣表彰若手科学者賞という、若手科学者にとって名誉ある賞を受賞している。だから、表面的には、大学人としても研究者としても優れている部類に映ってしまうだろう。

しかし、名誉ある賞を受賞すれば受賞するほど、私自身には現状の自分の情けなさが増

幅してしまう。もちろん、受賞すれば嬉しいに決まっている。しかし、その嬉しさには悔しさもまた共存する。なぜなら、受賞業績の多くは、自分の研究コンセプト、すなわち、少なくとも私の場合、うちなる自分から湧いた興味や創造性に由来するものではないからだ。受賞業績のメインの部分の研究コンセプトは 1990 年代にすでに林先生の論文の中に展開されている。もちろん、自分自身から湧いてきたコンセプトから得た成果も多少なりとも含まれてはいるが、多く見積もっても全体の 1 割程度であろう。そして、私のこれまでの研究業績は林先生によってすでに打ち立てられていたコンセプトを実験的に証明したに過ぎないのである。だから、独創性と創造性で勝負する研究者としての評価から言えば、「他人のふんどしで相撲を取った」と言える。これが、私の現実である。

　でも、私はこの現実を受け止めることで、どうなりたいのか？そして、今、そうなるためには何が足りないのか？を吟味し、なりたい自分像に向かっている真っただ中である。その答えは恐らく、私が林先生と同じ年齢になった時、そこにいる後輩に今の私と同じような気持ちを持たせることができれば、私は、目指す自分になれたことを実感するだろう。そして、このような気持ちになっている後輩もまた、目指す自分像を追い求めるに違いない。このような「時を超えた相互作用」がこれからの私の大学人としての大きなテーマになっている。

謝辞

ミトコンドリア研究に関する研究成果は林研究室に所属した大学院生や共同研究を引き受けて下さった多くの研究者の皆さまのご協力、ご指導によって得られたものです。この場をお借りしてお礼申し上げます。

著者紹介

著者近影

氏名：中田　和人　（なかだ　かずと）

1969 年生まれ

学歴及び職歴：

1994 年　筑波大学第二学群生物学類卒業

1994 年　筑波大学大学院生物科学研究科入学

1998 年～2000 年　日本学術振興会特別研究員（DC2～PD）

1999 年　筑波大学大学院生物科学研究科修了　博士（理学）

2000 年　筑波大学生物科学系講師

2001 年～2005 年　（独）科学技術振興機構　さきがけ研究員（兼任）

2004 年　筑波大学大学院生命環境科学研究科准教授

2010 年　筑波大学生命環境系教授

受賞歴：

2006 年　文部科学大臣表彰若手科学者賞 受賞

2008 年　第４回 日本学術振興会賞 受賞

2009 年　第 20 回 つくば奨励賞（若手研究者部門） 受賞

無断転載禁止