

## 平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：人工多能性幹細胞（iPS 細胞）作製・制御等の医療基盤技術
2. 研究開発課題名：核エピゲノムとミトコンドリアゲノムの化学的制御とその応用
3. 研究開発代表者：吉田 稔

（国立研究開発法人理化学研究所 吉田化学遺伝学研究室 主任研究員）

## 4. 研究開発の成果

本研究では、エピジェネティクスを制御する化合物を多数開発し、分化多能性や分化誘導を促進する化合物として利用するとともに、将来のミトコンドリア病治療を視野に、iPS 誘導によっては初期化されないミトコンドリアゲノムの初期化にも挑戦しようと考えてプロジェクトをスタートした。とりわけ、固有のゲノムを持つミトコンドリアは、細胞あたり数千コピー存在し、核ゲノムの複製・分配とは独立に複製を繰り返す。一方、酸素呼吸で生じる活性酸素種により核ゲノムに比べて 10 倍以上もの頻度で変異が蓄積することも知られている。その結果、健常新生児は通常正常型ミトコンドリア DNA (mtDNA) のみを持つのに対し、その後加齢とともに変異 mtDNA が蓄積し、ヘテロプラスミー（正常型と変異型が混在した状態）となり、老化現象としての細胞機能低下につながると考えられている。一方、遺伝性疾患である MELAS などのミトコンドリア病患者では、生来ヘテロプラスミーであり発症の主因は混在する変異 mtDNA の増加であるが、未だその機序が不明で根本的治療法はない。ヒトの mtDNA は全て母親に由来し、卵形成時に仮想的な「遺伝的ボトルネック」で正常型にホモプラスミー化されるといわれている。しかし、その分子機構は謎に包まれている。こうした背景のもと、わが国における患者数数万人とも言われるミトコンドリア病患者の細胞移植治療等のために、残存する本人の正常型 mtDNA をホモプラスミー化して健全なミトコンドリア集団に誘導することができれば画期的である。そこで本研究では、ヒトにおける遺伝的ボトルネックの分子機構を解明するとともに、核ゲノムにダメージを与えずに mtDNA のみホモプラスミー化を引き起こす新たな方法論を開拓することにより、ミトコンドリアゲノムをも初期化し、細胞移植治療等における革新技術を開発することを目的とした。

本プロジェクトを推進した結果、第一にエピゲノムを調節することのできる多数の新規活性物質の同定に成功した。一方、それらの化合物単独、あるいは既存化合物との組合せでは iPS 誘導に有意な効果は認められなかった。第二に、酵母で観察された ROS によるミトコンドリア DNA のローリングサークル型複製の誘導がヒト細胞でも証明され、適正なレベルの ROS を誘導することにより、ヘテロプラスミーの MELAS 細胞をホモプラスミーへと誘導可能なことを示した。第三にミトコンドリア病患者由来の iPS 細胞を多数樹立したところ、同一患者の細胞の中に 100%健常型、100%変異型のクローンが混在しており、それらの isogenic な iPS 細胞クローンの解析から変異型ミトコンドリアを持つ iPS 細胞は分化不全の表現型を示すことを明らかにした。すなわち、ミトコンドリア患者由来 100%健常型 iPS 細胞の取得は将来の自家細胞移植治療に道を拓き、一方、100%変異型の iPS 細胞は、創薬スクリーニングのための疾患モデルとなることを明確に示したといえる。さらに本研究では、エネルギー代謝を解糖系から酸化的リン酸化へシフトさせる化合物を見だし、その化合物が 100%変異型ミトコンドリアを持つ iPS 細胞の分化不全の表現型を回復し、正常な成熟神経細胞、拍動心筋細胞へ分化させることを示した。以上の結果は、今後のミトコンドリア病治療法の基盤構築に大きく貢献するものであると考えている。