

粒線體與癌症

李新城¹

¹陽明大學醫學院藥理學研究所，台北，台灣

摘要

由於癌細胞的生長快速，癌細胞必須整合能量供給的機制以提供其快速生長之所需。早在西元1930年以前，德國的生化學家Otto Warburg即發現癌細胞具有異常的粒線體（mitochondria）呼吸作用，而且有較旺盛的有氧醣解作用（aerobic glycolysis）。癌細胞的這項特性被稱為Warburg效應（Warburg effect）。最新的研究顯示，很多因素都可能參與造成Warburg效應的機制，包括：與粒線體結合的己糖激酶-2（hexokinase 2; HK-2）的過量表現；造成腫瘤細胞的低氧壓（hypoxia）或發炎（inflammation）的微環境；致癌基因（oncogene）如HIF-1、SRC、RAS、c-MYC及AKT等的活化，抑瘤基因（tumor suppressor gene）如TP53的異常；與粒線體生源作用（biogenesis）、檸檬酸循環（citric acid cycle）或能量生成有關的核基因發生異常；粒線體DNA（mitochondrial DNA; mtDNA）的變異。其中，粒線體DNA的變異或粒線體呼吸功能異常，可能是藉由粒線體至細胞核的逆向訊息傳遞（retrograde signaling），誘發癌細胞產生抗藥性（drug resistance）或增進其侵犯轉移（metastasis）的能力。因此，將癌細胞粒線體視為化學治療（chemotherapy）的標靶或許可成為未來癌症治療的新策略。本文整理生物醫學領域在粒線體於癌細胞中的變異及其所扮演的角色之研究進展，以闡明粒線體在癌症預防與治療上提供的新方向。（生醫 2008;1(2):158-172）

關鍵字：癌症（cancer）、粒線體（mitochondrion）、有氧醣解作用（aerobic glycolysis）、逆向訊息傳遞（retrograde signaling）

前言

粒線體（mitochondrion）是細胞內重要的胞器（organelle），在細胞內的多種生理機制方面，如生成細胞能量一腺嘌呤核苷三磷酸（adenosine triphosphate; ATP）、產生活性氧化物（reactive oxygen species; ROS）、調控細胞凋亡（apoptosis）與轉換代謝各種生化反應的中間

物質等，扮演重要的角色¹。粒線體具雙層膜，為動態（dynamic）的胞器，其形態、長短與數量會隨著粒線體融合（fusion）與分裂（fission）而發生變化。此外，粒線體在細胞中的分佈位置與粒線體的內部結構也會隨著細胞的生理狀況與能量需求不同而轉變²。粒線體是動物細胞內除了細胞核外，唯一具有DNA的胞器。每個細胞含有數百至上千個不等的粒線體DNA（mitochondrial DNA;

通訊作者：李新城副教授

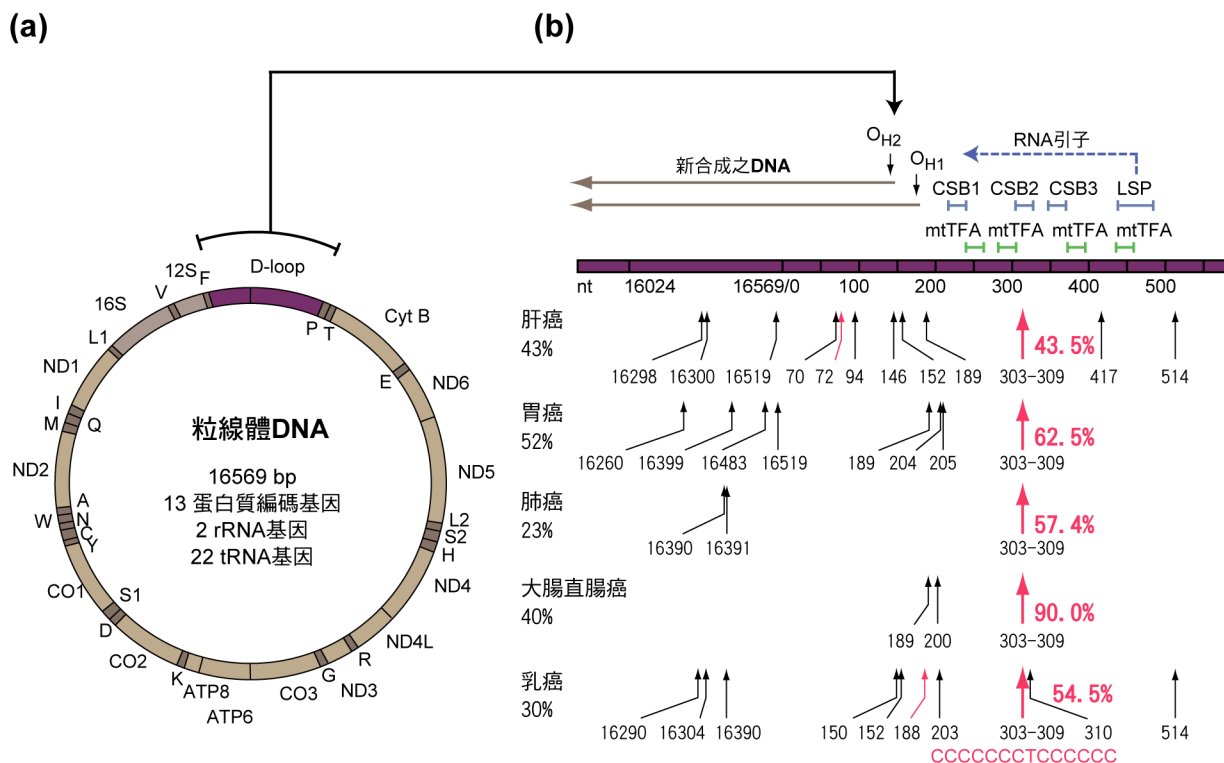
電話：886-2-2826-7327

傳真：886-2-2826-4372

地址：112台北市北投區立農街二段155號陽明大學醫學院藥理學研究所

電子郵件：hcleee2@ym.edu.tw

2008年5月15日來稿；2008年6月13日同意刊登

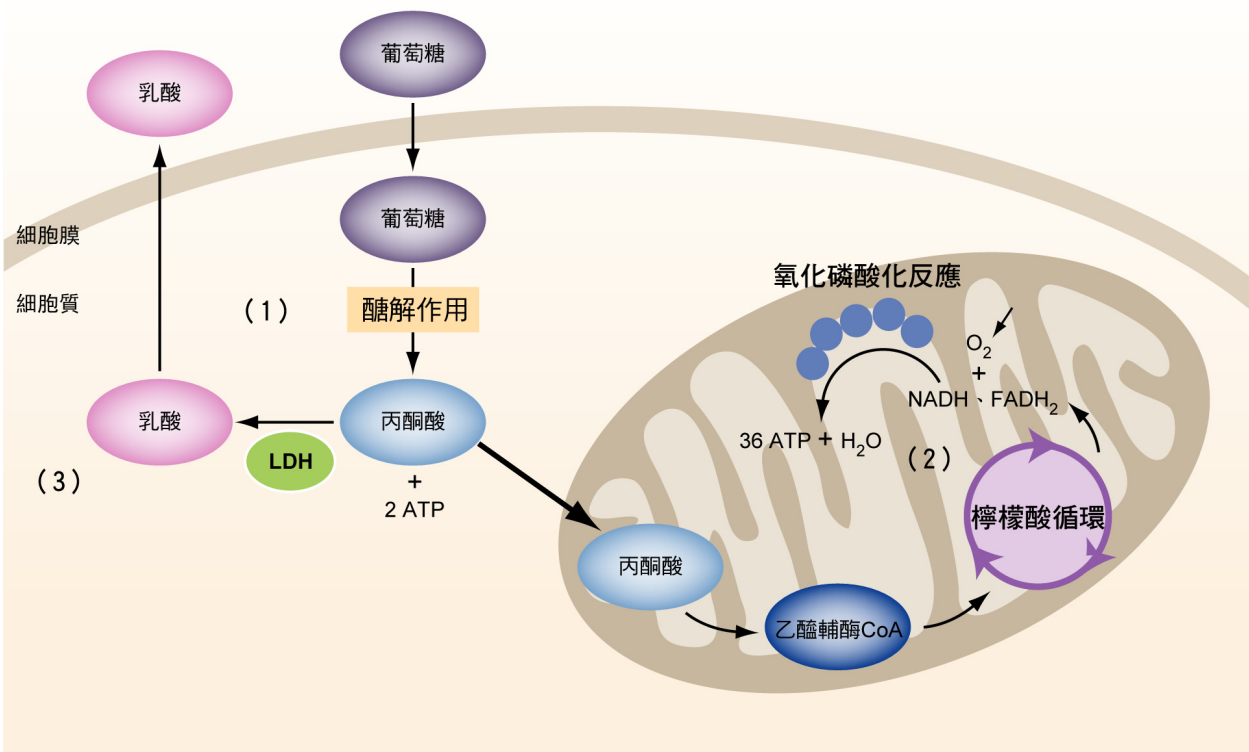


圖一、粒線體DNA (mitochondrial DNA; mtDNA) 及台灣常見癌症組織中，粒線體DNA替代環區 (displacement loop; D-loop) 發生突變 (mutation) 的位置與發生率。

(a) 人類的粒線體DNA是長約為16.6 kb的雙股環形分子，攜帶的基因組有13個粒線體呼吸鏈 (respiratory chain) 蛋白質基因，以及進行粒線體內蛋白質合成所需的RNA系統，包括2個核醣體核醣核酸 (ribosomal RNA; rRNA) 和22個轉運核醣核酸 (transfer RNA; tRNA)。其中D-loop為掌控、調節粒線體DNA複製或轉錄的區域。(b) 台灣常見癌症組織中，粒線體DNA D-loop發生突變的位置與發生率。圖中箭頭標示處為突變發生位置，核苷酸位置 (nts) 303-309粗箭頭標示之百分比為此位置突變所佔的比例。圖左各種癌症名稱下方的百分比為該種癌組織的突變發生率。O_{H1}及O_{H2}為粒線體DNA的複製起始點 (replication origin) 位置，新合成DNA為剛進行複製之DNA，而粒線體DNA複製所需之起始引子 (primer) 為RNA引子。mtTFA指出粒線體轉錄因子A (Mitochondrial transcription factor A; mtTFA) 的結合位，CSB1-3指出各conserved sequence box的位置，LSP為輕股促進子 (light strand promoter)。(彩圖詳見本刊網頁)

mtDNA)。人類的粒線體DNA是長約為16.6 kb的雙股環形分子，攜帶的基因組有13個粒線體呼吸鏈 (respiratory chain) 蛋白質基因，以及進行粒線體內蛋白質合成所需的RNA系統，包括2個核醣體核醣核酸 (ribosomal RNA; rRNA) 和22個轉運核醣核酸 (transfer RNA; tRNA) (圖一 a)³。雖然粒線體具有自己的DNA，但是許多參與其DNA複製 (replication)、轉錄 (transcription) 和轉譯 (translation) 作用的蛋白質，與上千種其他粒線體蛋白質仍須由核基因負責製造⁴。

人體藉由血液運輸供給細胞葡萄糖 (glucose) 和氧氣 (oxygen)。細胞藉由醱解作用 (glycolysis) 將攝入的葡萄糖分解成丙酮酸 (pyruvate)。在粒線體功能與氧氣供給正常的情形下，丙酮酸會進入粒線體內進行檸檬酸循環 (citric acid cycle) 與氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation) 反應⁵。藉由這些反應，每分子的葡萄糖約可產生36分子的ATP (圖二)。然而，若是細胞處於低氧壓 (hypoxia) 的狀況或是粒線體功能發生異常時，醱解作用所產生



圖二、細胞能量供應。

(1) 細胞藉由糖解作用 (glycolysis) 將攝入的葡萄糖分解成丙酮酸 (pyruvate)，並產生2分子的腺嘌呤核苷三磷酸 (adenosine triphosphate; ATP)；(2) 在粒線體功能與氧氣供給正常的情形下，丙酮酸會進入粒線體內進行檸檬酸循環 (citric acid cycle) 與氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation) 反應。藉由這些反應，每分子的葡萄糖約可產生36分子的ATP；(3) 但若是細胞處於低氧壓 (hypoxia) 的狀況或是粒線體功能發生異常時，糖解作用產生的丙酮酸會在細胞質中被乳酸脫氫酶 (lactate dehydrogenase; LDH) 轉變成乳酸 (lactic acid) 排出細胞外。此時，每分子的葡萄糖只能產生2分子的ATP。名詞解釋：乙醯輔酶CoA, acetyl CoA。(彩圖詳見本刊網頁)

的丙酮酸會在細胞質中被乳酸脫氫酶 (lactate dehydrogenase; LDH) 轉變成乳酸 (lactic acid) 排出細胞外。此時，每分子的葡萄糖只能產生2分子的ATP (圖二)^{5,6}。由此可知，粒線體在細胞能量供給上的重要性。由於癌細胞的生長快速，癌細胞必須整合能量供給的機制以提供其快速生長之所需。因此，從能量的角度來看，粒線體在癌症中應扮演著重要的角色。以下整理生物醫學領域對粒線體於癌細胞中的變異與其所扮演的角色之研究進展，以闡明粒線體在癌症預防與治療上提供的新方向。

Warburg效應 (Warburg effect) 及其可能的機轉

早在西元1930年以前，德國的生化學家Otto Warburg即發現癌細胞具有異常的粒線體，而且此異常可能促使癌細胞藉由提升糖解作用來提供生長所需的能量⁷。然而，後來進一步的研究顯示，部分的癌細胞粒線體仍保有呼吸作用，而且產生ATP^{8,9}。姑且不論其粒線體呼吸效率是否下降，癌細胞這種即使在正常氧氣濃度下仍具有較高糖解作用的特性，被稱為Warburg效應。而癌細胞此一「愛吃糖」的特性也在臨床上被廣泛應用在利用正子攝影技術 (positron emission tomography;

PET) 追蹤癌細胞¹⁰。然而，在過去很長一段時間裡，由於致癌基因 (oncogene) 與抑癌基因 (tumor suppressor gene) 的發現，癌症研究的焦點偏離癌細胞能量代謝的相關領域。不過近幾年來此領域再度受到重視。

當某些生長因子 (growth factor) 在誘發正常細胞快速生長時，會採取下列動作促使細胞生長與分裂，包括：(1) 提升細胞對外攝取養分的能力；(2) 提升細胞內能量產生機制 (如醱解作用) 的活性；(3) 增加將代謝中間產物轉換合成核酸 (nuclear acid)、氨基酸 (amino acid) 與脂質 (lipid) 等機制的活性，以提供DNA複製、蛋白質合成及細胞膜新生之所需¹¹。而這些動作牽涉的訊息傳遞路徑 (signaling pathway) 也廣泛存在於多種癌細胞中¹¹。因此，透過相關的研究，目前對造成癌細胞「愛吃糖」的機制，已提出下列數種的可能解釋：

與粒線體結合的己糖激酶-2 (hexokinase 2; HK-2) 過量表現

研究發現，癌細胞中與粒線體結合型式的HK-2過量表現會增進癌細胞展現較高的醱解作用活性¹²。其中，與HK-2結合的粒線體電位差依賴型陰離子通道 (voltage dependent anion channel; VDAC) 可快速將粒線體內生成的ATP傳送給HK-2使用¹²。藉此機制使得癌細胞更有效率地進行醱解作用。

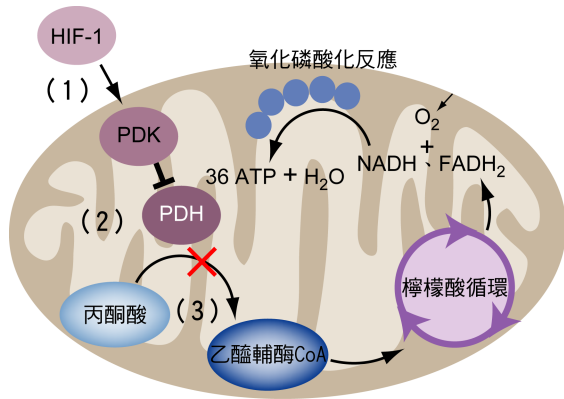
癌細胞所處微環境的誘發

例如腫瘤生長時若距離血管太遠，會導致低氧壓的環境。低氧壓除了直接降低粒線體的呼吸之外，還會使細胞中的低氧誘導因子-1 α (hypoxia-inducible factor 1 α ; HIF-1 α) 不易被降解 (degradation)，而穩定地在細胞核中與HIF-

1 β 共同活化與醱解作用相關的基因表現^{5,13}。近年來的研究發現，HIF-1可藉由活化其下游基因 (downstream gene) 中的丙酮酸脫氫酶激酶-1 (pyruvate dehydrogenase kinase-1; PDK-1)，抑制丙酮酸脫氫酶 (pyruvate dehydrogenase; PDH) 的活性。丙酮酸脫氫酶是催化丙酮酸轉換成乙醯輔酶CoA (acetyl CoA)，以進入粒線體進行檸檬酸循環 (citric acid cycle) 的酵素。當其活性被抑制，會減少ATP生成所需的原料而抑制粒線體的呼吸及ATP的生成 (圖三)^{14,15}。然而，HIF也會促使LON蛋白酶 (LON protease) 分解細胞色素氧化酶 (cytochrome oxidase; COX) 的次單元 (subunit) — COX4-1，而生成COX4-2，使粒線體在低氧壓下能更有效率地利用低濃度的氧氣，並且減少ROS的產生¹⁶。在某些癌細胞中，HIF還可能藉由抑制MYC的作用來抑制粒線體的生源作用 (biogenesis)¹⁷。由於低氧壓或其他基因異常而持續被活化的HIF不但會提升癌細胞的醱解作用活性，同時也會抑制癌細胞的粒線體呼吸。除了腫瘤組織因遠離血管造成低氧壓的情況，臨床上常發現腫瘤組織附近常會伴隨發炎 (inflammation) 細胞的浸潤。發炎細胞產生的ROS可能會破壞癌細胞的粒線體呼吸酵素，影響癌細胞的呼吸，因而迫使癌細胞利用醱解作用來提供能量¹⁸。

致癌訊息的活化

研究顯示，RAS¹⁹、SRC¹⁹、c-MYC^{20,21}及AKT²²等致癌基因的過度表現會導致細胞增加對葡萄糖的攝取或提升醱解作用的活性。此外，抑癌基因—TP53的突變除了會降低SCO2 (synthesis of cytochrome c oxidase 2) 的表現而降低粒線體呼吸的能力²³，也可能會降低TP53誘導醱解作用和細胞凋亡調節因子 (TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator; TIGAR) 的作用而促進醱解作用的活性²⁴。



圖三、低氧誘導因子-1 (hypoxia-inducible factor 1; HIF-1) 抑制粒線體 (mitochondria) 呼吸。

(1) 低氧誘導因子-1 (hypoxia-inducible factor 1; HIF-1) 活化其下游基因 (downstream gene) 中的丙酮酸脫氫酶激酶-1 (pyruvate dehydrogenase kinase-1; PDK-1)；(2) 丙酮酸脫氫酶激酶-1 可將丙酮酸脫氫酶 (pyruvate dehydrogenase; PDH) 磷酸化 (phosphorylation) 因而抑制其活性；(3) 丙酮酸脫氫酶是催化丙酮酸轉換成乙醯輔酶 CoA (acetyl CoA)，以進入粒線體進行檸檬酸循環 (citric acid cycle) 的酵素。當其活性被抑制，會減少 ATP 生成所需的原料而抑制粒線體的呼吸及 ATP 的生成。(彩圖詳見本刊網頁)

與粒線體能量代謝相關的核基因發生變異

有研究在一些腫瘤細胞中發現粒線體蛋白質—琥珀酸脫氫酶 (succinate dehydrogenase) 及富馬酸水合酶 (fumarate hydratase) 的基因發生變異，導致此兩酵素異常，而使粒線體內的琥珀酸 (succinate) 被釋出^{25,26}，抑制細胞質中的脯氨酰羟化酶 (prolyl hydroxylase; PHD) 之活性。PHD 是負責將 HIF-1 α 進行氫氧化 (hydroxylation) 的酵素，一旦它被抑制，會造成 HIF-1 α 即使在有氧的情況下仍然無法被分解，而能進入細胞核中活化 HIF 下游相關的基因表現，造成癌細胞醱解作用活性的提升，並抑制粒線體的呼吸 (圖四)。

除了琥珀酸脫氫酶與富馬酸水合酶之外，在多種癌細胞中，也常見參與粒線體 ATP 合成之 β -F₁-腺苷三磷酸酶 (β -F₁-ATPase) 表現減少的異常情況^{27,28}。另有研究證實，在肝癌組織中，粒線體呼吸鏈複合體 (respiratory chain complex) II 及 III 的蛋白表現量顯著低於非癌化之肝組織²⁹。此外，在肝癌、乳癌及大腸直腸癌 (colorectal cancer) 中亦發現，掌控粒線體生合成的過氧化物酶體增殖因子活化受體 γ 配體 (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha; PGC-1 α) 之表現有顯著下降的現象²⁹⁻³¹。上述之核基因的變異都可能降低粒線體的呼吸作用，迫使癌細胞提升醱解作用的活性。

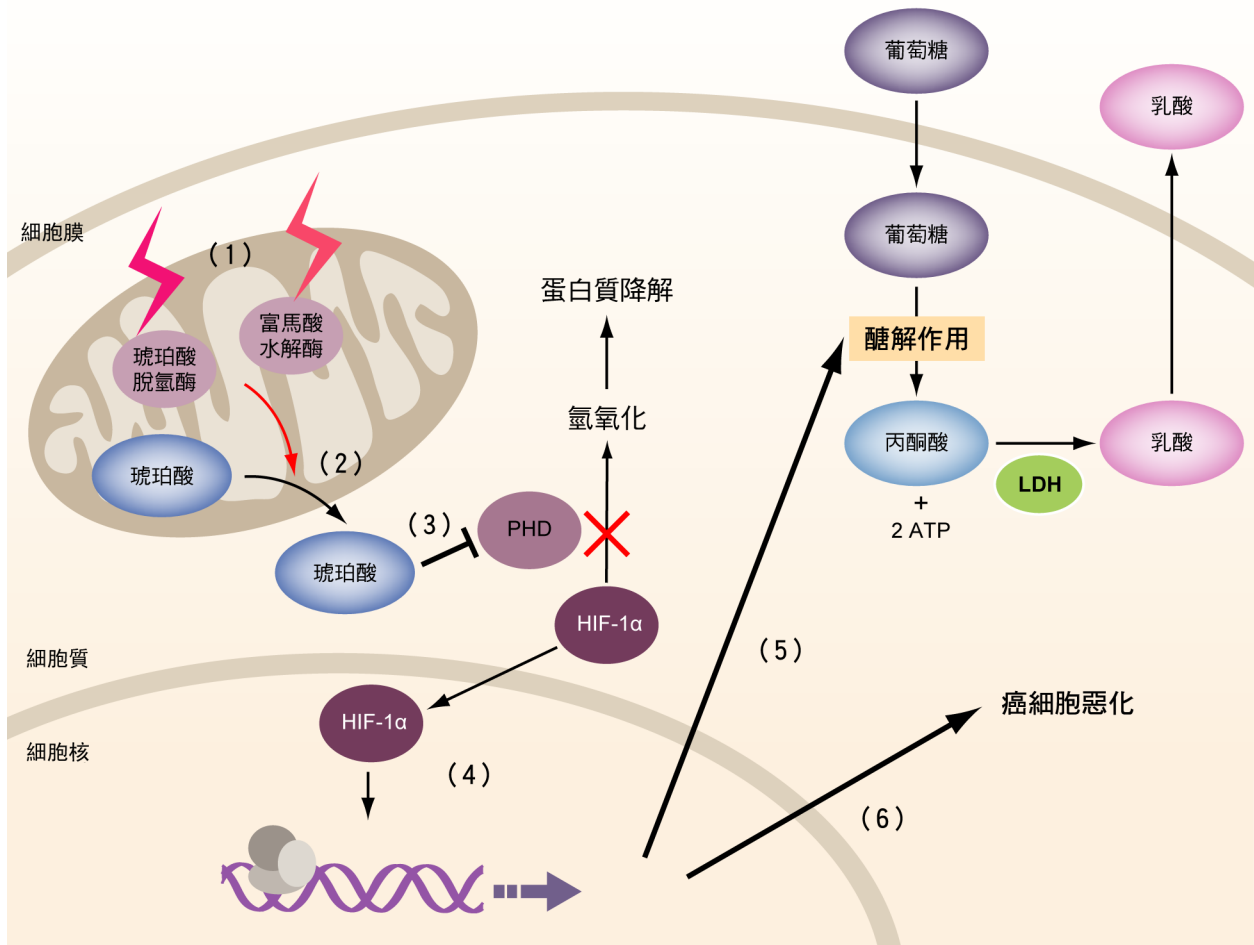
粒線體 DNA 質與量的變異

近幾年的研究發現，人類腫瘤組織中常可偵測到粒線體 DNA 的變異^{32,33}，種類包括點突變 (point mutation)、佚失 (deletion)、插入 (insertion) 及粒線體 DNA 拷貝數的變化。這些粒線體 DNA 的變異可能會影響粒線體的呼吸作用，增加 ROS 的產生及降低 ATP 的生成。增加的 ROS 可能會破壞粒線體的活性，進一步降低 ATP 的生成。一旦 ATP 的生成降低，癌細胞便被迫轉而依賴醱解作用產生 ATP。

癌細胞粒線體 DNA 的異常

由於粒線體 DNA 鄰近容易產生 ROS 的電子傳遞鏈 (electron transport system; ETS)，而且粒線體 DNA 不像核 DNA 有組織蛋白 (histones) 保護，再加上缺乏完善的 DNA 修復 (DNA repair) 系統，使粒線體 DNA 非常容易受到傷害並形成突變^{1,3}。自從 1998 年³⁴於大腸直腸癌組織發現粒線體 DNA 突變開始，至今已在多種癌症證實，癌細胞常具有粒線體 DNA 的異常^{32,33}。

在粒線體 DNA 的點突變方面，若突變發生



圖四、琥珀酸脫氫酶 (succinate dehydrogenase) 及富馬酸水合酶 (fumarate hydratase) 的基因變異能提升有氧糖解作用 (aerobic glycolysis) 及使癌細胞惡化。

(1) 在一些腫瘤細胞中發現，粒線體蛋白質—琥珀酸脫氫酶 (succinate dehydrogenase) 及富馬酸水合酶 (fumarate hydratase) 的基因發生變異，導致此兩酵素異常；(2) 這種異常會使粒線體內的琥珀酸 (succinate) 被釋出；(3) 在細胞質中，琥珀酸會抑制脯氨醯脲化酶 (prolyl hydroxylase; PHD) 之活性。PHD是負責將HIF-1 α 進行氫氧化 (hydroxylation) 的酵素；(4) 一旦脯氨醯脲化酶的活性受到抑制，會造成HIF-1 α 即使在有氧的情況下仍然無法被分解，而能進入細胞核中活化HIF下游相關的基因表現；(5) 造成癌細胞糖解作用活性的提升；(6) 促使癌細胞惡化。(彩圖詳見本刊網頁)

於編碼區 (coding region)，很可能造成電子傳遞鏈蛋白質結構或功能的異常；若突變發生於掌控、調節粒線體DNA複製或轉錄的替代環區 (displacement loop; D-loop)，就可能改變粒線體DNA的拷貝數或影響其基因表現量^{1,3}。此外，研究顯示，發生在腫瘤粒線體DNA的體突變 (somatic mutation) 常為同質型 (homoplasmy)，即細胞中只存在同一型之粒線體DNA，同為正常

或同為突變)³²⁻³⁴，這不同於發生在老化或粒線體疾病患者組織的粒線體DNA突變，它們常為異質型 (heteroplasmy，即細胞中正常的粒線體DNA與突變的粒線體DNA並存)³⁵。此一現象可能暗示，發生在腫瘤粒線體DNA的體突變可能經歷細胞內與細胞間層層的篩選，最後保留於癌細胞中的常為較為優勢 (dominant) 的粒線體DNA突變³⁶。

研究顯示，發生於粒線體DNA編碼區的突變並沒有被發現特別好發於哪一個粒線體基因上，也尚未被發現有組織特異性的情形。但是若將腫瘤組織粒線體DNA編碼區所發現的體突變與人類種族之間存在的粒線體基因變異相比較，會發現有七成的一致性。此一現象可能暗示，癌細胞可能藉由獲得某些與人類遷移時，適應新環境所獲得相同功能的粒線體DNA突變來適應新的環境³²。除了體突變之外，某些粒線體DNA的基因多型性（polymorphism）可能與特定人種罹患某些癌症或其癌症之惡化有相關性³²，例如粒線體基因上的G10398A基因多型性即與非裔美國婦女罹患侵犯性乳癌具有相關性³⁷。因此，癌細胞粒線體基因型本身擁有的粒線體功能，或是藉由獲得某些粒線體功能的體突變，可能有助於癌細胞的生長及適應惡劣的環境，並且有利於惡化的轉變。

而粒線體DNA的D-loop區域則是腫瘤組織中最常發生點突變的位置，其中又以在核苷酸位置（nts）303附近，連續數個C的重複次數之增加或減少最為常見³⁸。在台灣地區常見的癌症中，43%的肝癌^{39,40}、52%的胃癌^{39,41}、23%的肺癌³⁹、40%的大腸直腸癌³⁹及30%的乳癌⁴²之腫瘤組織中，皆被偵測到具有粒線體D-loop的點突變。其中，發生在nts 303的突變佔了44-90%³⁹，為最常發生變異的位置（圖一 b）。而D-loop外的點突變發生率約為D-loop的一半。這些證據顯示，粒線體的D-loop是腫瘤組織中突變的好發區。在體外培養（*in vitro*）的細胞實驗中發現，這可能與D-loop較粒線體DNA的其他區域容易受到親電子性（electrophile）或氧化性（oxidative）的傷害，卻又較不易被修復的特性有關⁴³。

在腫瘤組織中，粒線體DNA佚失及插入突變的發生比例較低。以老化組織中常見的4977 bp佚失突變為例，在同一病患的腫瘤組織偵測出此一佚失突變的比例遠低於腫瘤附近非癌化的組織^{29,41,42,44-46}。這可能是由於癌細胞生長快速所造成的稀釋效應，或是此類長片段基因的喪失會嚴重

抑制癌細胞的生長所造成⁴⁷。此外，發生在D-loop的小片段（約260 bp）重複插入性突變在台灣地區腫瘤組織的發生率不到5%，較為罕見^{39,41,48}。

至於粒線體DNA拷貝數的變化方面，有研究指出，在台灣地區常見的癌症腫瘤組織中可以偵測到粒線體DNA拷貝數有顯著減少的現象，如57%的肝癌^{29,39,40}、55%的胃癌^{39,41}及63%的乳癌組織⁴²都有此現象。但也有研究指出，粒線體DNA拷貝數在腫瘤組織中有顯著增加的現象，如40%的肺癌³⁹及48%的大腸直腸癌³⁹組織有此現象。此外，國外的研究也指出⁴⁹，大部分的乳癌組織中粒線體DNA拷貝數有顯著減少的現象；而大多數的甲狀腺乳頭狀癌（papillary thyroid carcinoma）之粒線體DNA拷貝數有顯著增加的現象。這些結果顯示，腫瘤組織中粒線體DNA拷貝數的變化可能有個體或組織的特異性。然而，造成腫瘤組織粒線體DNA拷貝數變化的機制未明。研究顯示，在肝癌中參與粒線體生合成機制的異常可能是造成粒線體DNA拷貝數減少的重要原因²⁹。其次，癌細胞粒線體DNA之D-loop區域的突變，特別在粒線體DNA複製起始點附近的突變，可能也是造成粒線體DNA拷貝數減少的重要原因⁴⁰。

癌細胞粒線體DNA異常之臨床相關性

最近一篇關於腎瘤細胞瘤（renal oncocytoma）的研究指出，在這類腫瘤中，常見的粒線體呼吸鏈複合體 I 基因突變與腫瘤組織失去呼吸鏈複合體 I 的活性相關⁵⁰。此結果進一步直接證實，在腫瘤組織中，粒線體DNA的突變可能造成粒線體呼吸作用異常。而一個針對非小細胞肺癌（non-small cell lung cancer）粒線體DNA點突變的研究顯示，愈後期的癌組織有愈高的比例可以偵測到粒線體DNA的突變，而且在同為第三或第四期的患者中，其肺癌組織具有粒線體DNA點突變者之存活率顯著低於不具粒線體DNA點突

變者⁵¹。而另一個針對大腸直腸癌的D-loop點突變研究亦顯示，同為接受化學治療的第三期患者中，癌組織具有粒線體DNA點突變者的存活率顯著低於不具粒線體DNA點突變者⁵²。台灣地區乳癌D-loop點突變的研究顯示，D-loop點突變常發生在較不表現雌激素受體（estrogen receptor）及黃體激素受體（progesterone receptor）的乳癌組織中。且乳癌組織中具有D-loop點突變的患者之五年存活率顯著低於不具D-loop點突變的患者⁴²。

至於粒線體DNA拷貝數變異方面，乳癌組織中粒線體DNA拷貝數的減少並未見有顯著的臨床相關性⁴²。然而，在大陸地區的相關研究卻發現，乳癌組織中粒線體DNA拷貝數的下降與患者的低存活率相關⁵³。而台灣地區的胃癌研究亦指出⁴¹，粒線體DNA拷貝數的減少較常出現在Borrmann胃癌分類中的第三及第四型組織，而這兩類患者常有較差的預後發展。還有相關研究顯示，腫瘤組織中粒線體DNA拷貝數的減少與腎癌的惡化程度成正相關⁵⁴。肝癌組織中粒線體DNA拷貝數的減少與患者的存活率下降相關⁵⁵。但也有研究顯示，卵巢癌中的粒線體DNA拷貝數顯著高於正常卵巢組織，但是在較惡化的卵巢癌中，粒線體DNA拷貝數會顯著下降⁵⁶。相反的，頭頸部癌組織中粒線體DNA拷貝數的增加則與其惡化程度成正相關⁵⁷。

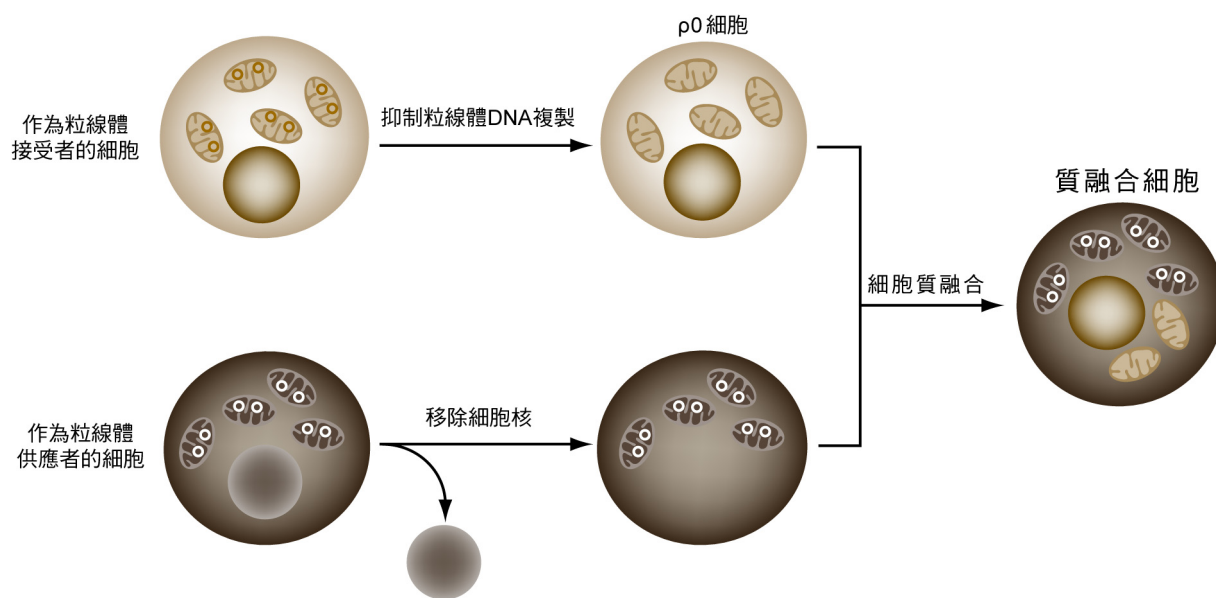
以上的臨床相關性研究說明，腫瘤組織中粒線體DNA的變異具有作為研判患者預後的生物性指標之潛力，也暗示腫瘤組織中粒線體DNA的變異可能在癌症惡化與抗藥性（drug resistance）的發展過程中扮演重要的角色。

粒線體異常在癌症惡化進展扮演的角色

細胞質融合（cytoplasmic hybrid）技術常被應用於研究粒線體DNA異常對細胞的影響。在該技術中，會先利用抑制粒線體DNA複製的藥物，

如低濃度的溴化乙錠（ethidium bromide），預先處理作為粒線體接受者的細胞，使其粒線體DNA完全喪失，成為所謂的 ρ^0 細胞。另一方面，再以細胞鬆馳素B（cytochalasin B）處理作為粒線體供應者的細胞，經離心後移去其細胞核，接著利用聚乙二醇（polyethylene glycol; PEG）將其與 ρ^0 細胞融合，融合後的細胞稱為質融合細胞（cybrid cells）（圖五），即可拿來研究粒線體DNA變異對細胞的影響。Petros等人利用細胞質融合技術獲得具有粒線體DNA T8993G點突變的前列腺癌細胞，他們將這種癌細胞與不具T8993G的前列腺癌細胞植入老鼠體內，發現前者比後者生長快速⁵⁸。利用相似的細胞質融合技術所獲得之具T8993G的HeLa癌細胞也證實，在被植入老鼠體內時，具T8993G的癌細胞會比不具此突變的癌細胞生長快速且更不易死亡⁵⁹。此外，若將具T8993G的癌細胞與不具此突變的癌細胞以相同比例混合後植入老鼠體內，長出來的腫瘤中，具T8993G的粒線體DNA之比例會隨腫瘤的生長而逐漸增加，最後甚至完全取代其他的粒線體DNA⁵⁹。這些結果顯示，T8993G可能賦予癌細胞更有利於生長的優勢。這也可能解釋了在癌細胞中所測得的粒線體DNA突變常為同質性（homoplasmy）的特異現象³⁵。

van Waveren等人在體外細胞培養的研究指出，利用低濃度的溴化乙錠降低癌細胞的粒線體DNA拷貝數後，可增強癌細胞的侵犯能力⁶⁰，而粒線體DNA拷貝數的減少甚至可能誘發原本不具侵犯性的癌細胞轉變成具有侵犯能力⁶¹，甚至增加其對化學治療藥物的抗藥性⁶²⁻⁶⁴，以及改變乳癌細胞對tamoxifen治療的感受性（susceptibility）⁶⁵。此外，研究也證實，利用粒線體呼吸鏈的抑制劑（inhibitor）、去耦合劑（uncoupler）或腺苷三磷酸酶（ATPase）抑制劑造成粒線體代謝性壓迫（metabolic stress），會導致部分癌細胞的抗藥性^{62,66,67}。在另一方面，利用細胞質融合技術將具有轉移（metastasis）能力的癌細胞之粒線體與不具轉移能力的癌細胞（其粒線體DNA已喪失）融合後，證實來自具轉移能力的癌細胞之粒線體常有



圖五、細胞質融合 (cytoplasmic hybrid) 技術。

在細胞質融合技術中，先利用抑制粒線體DNA複製之藥物，如低濃度的溴化乙錠 (ethidium bromide)，處理作為粒線體接受者的細胞，使其粒線體DNA完全喪失，成為 ρ^0 細胞。在另一方面，先以細胞鬆馳素B (cytochalasin B) 處理作為粒線體供應者的細胞，再經離心後移去細胞核。接著利用聚乙二醇 (polyethylene glycol; PEG) 將失去核的細胞質與 ρ^0 細胞進行融合，融合後的細胞稱為質融合細胞 (cybrid cells)。(彩圖詳見本刊網頁)

粒線體DNA突變，且會讓原本不具轉移能力的癌細胞轉變成具有轉移能力⁶⁸。

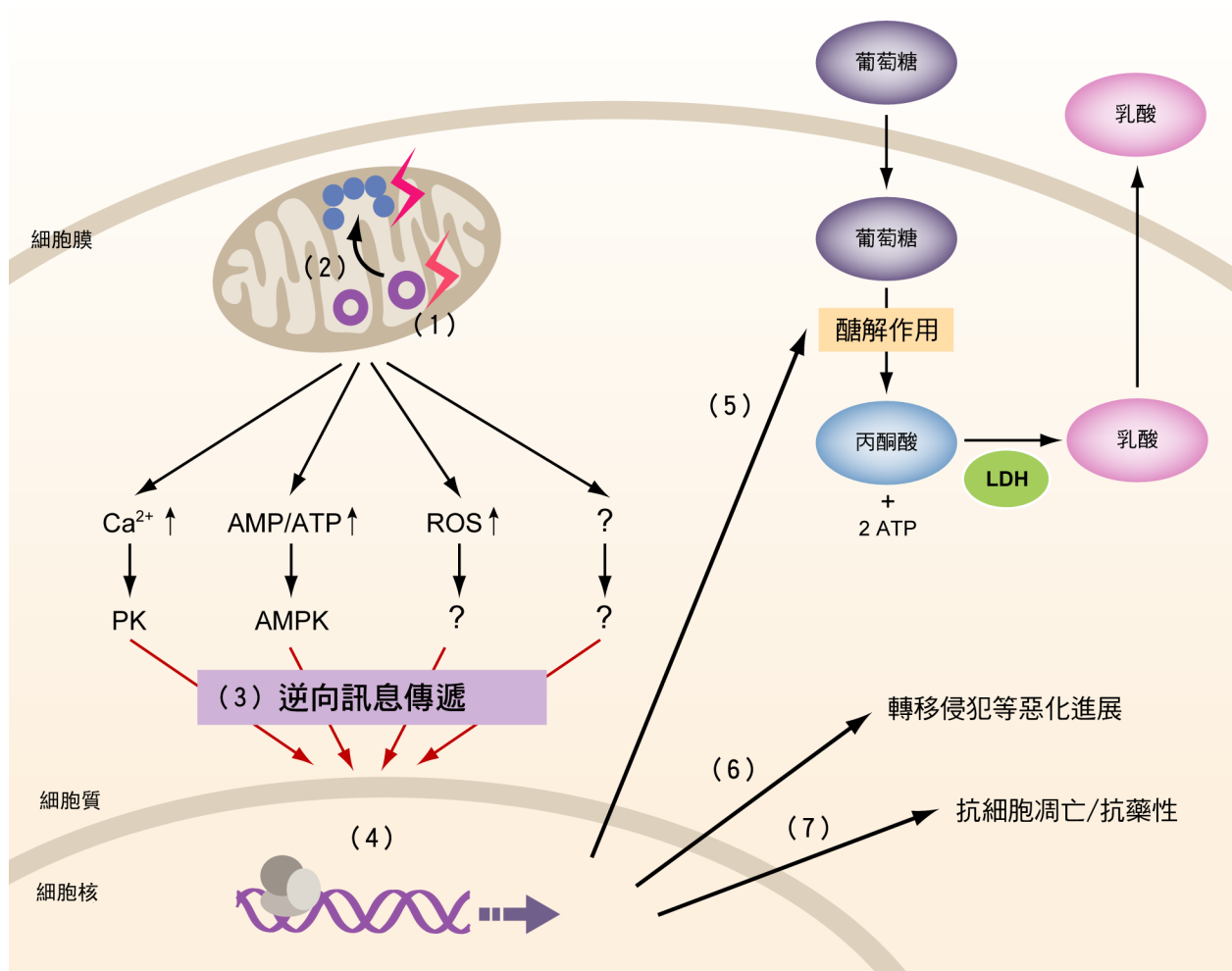
以上的研究結果更進一步支持癌細胞粒線體DNA的變異或粒線體功能的異常，在癌症惡化與抗藥性發展過程中扮演重要角色的可能性(圖六)。

由粒線體至細胞核的逆向訊息傳遞 (retrograde signaling)

粒線體DNA或粒線體功能的變異是如何讓癌細胞變得具有抗藥性？或是變得更具侵犯性？研究顯示，粒線體的異常會造成核基因表現的變化^{4,69}。因此，由粒線體至細胞核的逆向訊息傳遞可能參其中。所謂「逆向訊息傳遞」是指由粒線體傳向細胞核的訊息傳遞機制^{4,69,70}。目前這種訊息傳遞在酵母菌 (yeast) 中被研究得較為透徹，但

是在哺乳動物 (mammal) 細胞中卻仍未能找到具有相同功能的同源的 (homologus) 分子⁷⁰。目前對哺乳動物細胞中粒線體向細胞核的訊息傳遞機制之瞭解，主要來自癌細胞粒線體DNA變異或粒線體功能異常誘發癌細胞抗藥性或增加轉移及侵犯能力的研究。研究發現，利用溴化乙錠降低癌細胞的粒線體DNA拷貝數，或利用粒線體呼吸鏈的抑制劑，可能會導致鈣離子 (Ca^{2+}) 由粒線體釋出而提高細胞質中的鈣離子濃度，並進一步活化鈣離子媒介之鈣調磷酸酶路徑 (Ca^{2+} -dependent calcineurin pathway)、鈣離子媒介之蛋白質激酶C路徑 (Ca^{2+} -dependent protein kinase C pathway)、鈣離子媒介之MAP激酶路徑 (Ca^{2+} -dependent MAP kinase) 等訊息傳遞途徑，而活化某些核基因的表現，促使細胞展現抗藥性⁶²或更具侵犯能力的特性⁶¹。

粒線體DNA變異或粒線體功能異常也可能會



圖六、粒線體DNA變異 (mitochondrial DNA; mtDNA) 或粒線體 (mitochondria) 功能異常誘發癌症惡化的可能機制。

(1) 粒線體DNA變異造成基因性壓力 (genetic stress)；(2) 粒線體DNA變異可能造成粒線體的代謝功能異常；(3) 粒線體DNA變異所造成的基因性壓力，或粒線體代謝功能異常所造成的代謝性壓力 (metabolic stress)，可能藉由以下幾種方式活化粒線體至細胞核的逆向訊息傳遞 (retrograde signaling)，包括：鈣離子 (Ca^{2+}) 釋出進而活化一連串蛋白激酶 (protein kinase; PK)；腺嘌呤核苷三磷酸 (adenosine triphosphate; ATP) 生成減少，如增加腺嘌呤核苷單磷酸 (adenosine monophosphate; AMP) /ATP的比例，進而活化腺嘌呤核苷單磷酸依賴性蛋白激酶 (AMP-dependent protein kinase; AMPK)；活性氧化物 (reactive oxygen species; ROS) 的產生；其他尚未確認的分子；(4) 逆向訊息傳遞改變核基因的表現；(5) 造成癌細胞旺盛的有氧醣解作用 (aerobic glycolysis)；(6) 增進轉移 (metastasis) 及侵犯的惡性進展；(7) 抑制細胞凋亡 (apoptosis) 及抗藥性 (drug resistance) 的變化。(彩圖詳見本刊網頁)

導致ROS增加而提高細胞內的氧化壓力 (oxidative stress)。一篇利用細胞質融合技術的研究證實⁶⁸，當一不具轉移能力的癌細胞 (原本的粒線體DNA已喪失) 與來自具有轉移能力癌細胞，且具基因突變的粒線體融合後，會產生較多的ROS，並

且會讓原本不具轉移能力的癌細胞轉變成具有轉移能力。此時，若利用抗氧化劑 (antioxidant) 可降低因融合粒線體而提升之癌細胞的轉移能力⁶⁸。此結果顯示，藉由ROS的產生可能增加腫瘤細胞的轉移能力。

此外，有研究證實，粒線體DNA拷貝數的減少會造成癌細胞中的還原型輔酶（reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide; NADH）濃度增加，並且藉由抑制抑癌基因—*PTEN*而導致AKT的活化，進而增進癌細胞在抗癌藥物處理下存活的能力⁶⁶。而在琥珀酸脫氫酶及富馬酸水合酶基因發生變異的腫瘤細胞中，粒線體內的代謝中間產物—琥珀酸可能由粒線體釋出，抑制細胞質中的HIF-1 α 之分解，造成HIF-1 α 進入細胞核內活化HIF下游相關的基因表現而促進癌細胞的惡化（圖四）^{25,26}。

這些證據顯示，粒線體DNA突變及粒線體功能異常可能是藉由鈣離子釋出、ROS的增加、或影響細胞質中的NADH或琥珀酸等的濃度，進而活化相關的訊息傳遞途徑，改變核基因的表現，因而導致癌細胞的惡化轉變（圖六）。至於其他參與逆向訊息傳遞的機制，如腺嘌呤核苷單磷酸（adenosine monophosphate; AMP）/ATP比例增加等^{69,70}是否可能在癌細胞中誘發癌細胞的惡化轉變，仍須進一步研究。

以粒線體作為癌症治療標靶之潛力

由於大部分的癌細胞常有較高的醣解作用活性與較低的粒線體呼吸作用，旺盛醣解作用下的產物—丙酮酸便由乳酸脫氫酶轉化成乳酸。基於此特性，有研究發現，利用反股（antisense）或short hairpin RNA（shRNA）技術抑制癌細胞的乳酸脫氫酶基因表現時，可促進癌細胞粒線體的呼吸作用及粒線體ATP之生成，且癌細胞中會有較高的ROS產生，並抑制癌細胞的增生及促進其死亡^{71,72}。這些結果顯示，藉由抑制乳酸脫氫酶強迫癌細胞使用粒線體呼吸產生ATP，將不利於癌細胞的生長及存活。一研究粒線體frataxin蛋白質的實驗更支持此想法。研究發現，粒線體frataxin蛋白質參與Fe/S簇合物（clusters）的生成，若將

其基因大量表現於癌細胞中，不僅可以增加粒線體的呼吸作用及氧化代謝作用，且會抑制癌細胞的生長，並抑制此癌細胞在老鼠體內形成腫瘤的能力⁷³。相反地，若專一性地破壞老鼠肝臟的frataxin基因，會讓老鼠肝臟粒線體的功能異常並有較低的氧化磷酸化活性，且此老鼠的壽命較短並長出多發性肝腫瘤⁷⁴。這些結果顯示，活化癌細胞粒線體的氧化代謝可造成抑癌的作用。

臨床上發現，肝癌、乳癌及大腸直腸癌的組織中，負責掌控粒線體生合成的PGC-1 α 表現量較少²⁹⁻³¹。這可能與癌細胞粒線體呼吸作用減緩有關。研究發現，在肝癌細胞大量表現PGC-1 α 基因時，會增加粒線體蛋白質的表現量，且此肝癌細胞的轉移能力會受到抑制⁷⁵。此結果說明，藉由提升癌細胞粒線體的生源作用可抑制癌細胞的轉移或惡化。

綜合上述的研究，若將癌細胞之Warburg效應逆轉，強迫癌細胞使用粒線體的氧化代謝作用，可能可以抑制癌細胞的生長或惡化。因此，若能找到足以強化或提升癌細胞粒線體呼吸作用的機轉或藥物，將可能可以被應用於癌症的治療。

在另一方面，粒線體DNA的突變常使粒線體產生較多的ROS，造成癌細胞中累積較高的氧化壓力^{58,68}。有研究指出，利用粒線體呼吸鏈的抑制劑或抗氧化酵素的抑制劑引發更高的氧化壓力，將有助於增加此類癌細胞對抗癌藥物的感受性⁷⁶。然而，由於此策略亦可能同時對正常細胞造成毒性，缺乏臨床應用的發展性。此外，有研究指出，因粒線體DNA異常而增加的ROS可能參與癌細胞的轉移，利用抗氧化劑可降低此類癌細胞的轉移能力⁶⁷。因此，抗氧化劑可能只能應用在遏止癌細胞轉移。

另有研究發現，在一些過量表現人類表皮生長因子受體（human epidermal growth factor receptor 2; HER-2）或RAS的癌細胞中，常有較

高的粒線體膜電位 (mitochondrial membrane potential)，此特性將能吸引且累積較多的帶正電毒性分子，如F16，進入癌細胞的粒線體，因而較能專一性地毒殺此類癌細胞⁷⁷。

近年來的研究成果增加了我們對癌細胞粒線體的瞭解，如粒線體DNA突變或其拷貝數異常、粒線體呼吸作用的缺陷、粒線體ROS增加或粒線體膜電位增加等異常變化。因此，利用癌細胞粒線體作為毒殺癌細胞的標靶可能成為治療癌症的新方向。

結語

早在1930年，德國的生化學家Otto Warburg即提出癌細胞具有異常的粒線體呼吸作用，而且有較旺盛的醱解作用活性。最近在腫瘤組織中所發現的粒線體DNA變異替Warburg的觀察提供了更強而有力的證據。在另一方面，許多致癌基因，如*HIF-1*、*SRC*、*RAS*、*c-MYC*及*AKT*等的活化，與抑癌基因，如*TP53*的異常，亦被證實可能參與造成Warburg效應的機制。目前，粒線體DNA變異如何影響癌細胞惡化與抗藥性的分子機轉相關研究已經陸續展開，利用癌細胞粒線體作為化學治療標靶的治療策略也被提出，相信更瞭解粒線體變異對人類腫瘤扮演的角色以後，將為癌症的預防與治療帶來新的希望。

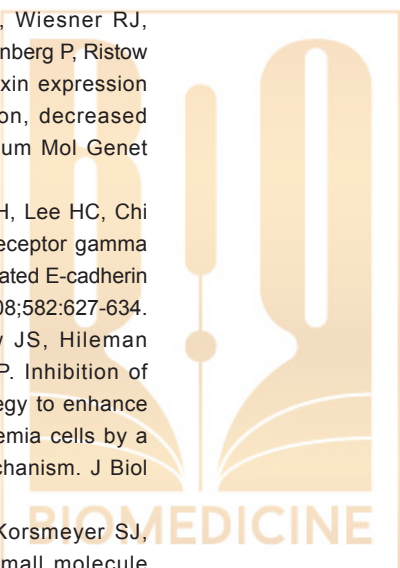
引用文獻

- Wallace DC. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu Rev Genet* 2005;39:359-407.
- Detmer SA, Chan DC. Functions and dysfunctions of mitochondrial dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8:870-879.
- Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat Rev Genet* 2005;6:389-402.
- Ryan MT, Hoogenraad NJ. Mitochondrial-nuclear communications. *Annu Rev Biochem* 2007;76:701-722.
- Gatenby RA, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer* 2004;4:891-899.
- Assaily W, Benchimol S. Differential utilization of two ATP-generating pathways is regulated by p53. *Cancer Cell* 2006;10:4-6.
- Warburg O. *The Metabolism of Tumors*. London: Arnold Constable, 1930:254-270.
- Zu XL, Guppy M. Cancer metabolism: facts, fantasy, and fiction. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;313:459-465.
- Moreno-Sánchez R, Rodríguez-Enríquez S, Marín-Hernández A, Saavedra E. Energy metabolism in tumor cells. *FEBS J* 2007;274:1393-1418.
- Busk M, Horsman MR, Kristjansen PE, van der Kogel AJ, Bussink J, Overgaard J. Aerobic glycolysis in cancers: implications for the usability of oxygen-responsive genes and fluorodeoxyglucose-PET as markers of tissue hypoxia. *Int J Cancer* 2008;122:2726-2734.
- DeBerardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G, Thompson CB. The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab* 2008;7:11-20.
- Pedersen PL. Warburg, me and Hexokinase 2: Multiple discoveries of key molecular events underlying one of cancers' most common phenotypes, the "Warburg Effect", i.e., elevated glycolysis in the presence of oxygen. *J Bioenerg Biomembr* 2007;39:211-222.
- Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003;3:721-732.
- Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL, Dang CV. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab* 2006;3:177-185.
- Papandreou I, Cairns RA, Fontana L, Lim AL, Denko NC. HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively downregulating mitochondrial oxygen consumption. *Cell Metab* 2006;3:187-197.
- Fukuda R, Zhang H, Kim JW, Shimoda L, Dang CV, Semenza GL. HIF-1 regulates cytochrome oxidase subunits to optimize efficiency of respiration in hypoxic cells. *Cell* 2007;129:111-122.
- Zhang H, Gao P, Fukuda R, Kumar G, Krishnamachary B, Zeller KI, Dang CV, Semenza GL. HIF-1 inhibits mitochondrial biogenesis and cellular respiration in VHL-deficient renal cell carcinoma by repression of C-MYC activity. *Cancer Cell* 2007;11:407-420.
- Chen Z, Lu W, Garcia-Prieto C, Huang P. The Warburg effect and its cancer therapeutic implications. *J Bioenerg Biomembr* 2007;39:267-274.
- Birnbaum MJ, Haspel HC, Rosen OM. Transformation of rat fibroblasts by FSV rapidly increases glucose transporter gene transcription. *Science* 1987;235:1495-1498.
- Shim H, Dolde C, Lewis BC, Wu CS, Dang G, Jungmann

- RA, Dalla-Favera R, Dang CV. c-Myc transactivation of LDH-A: implications for tumor metabolism and growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:6658-6663.
21. Osthus RC, Shim H, Kim S, Li Q, Reddy R, Mukherjee M, Xu Y, Wonsey D, Lee LA, Dang CV. Deregulation of glucose transporter 1 and glycolytic gene expression by c-Myc. *J Biol Chem* 2000;275:21797-21800.
 22. Elstrom RL, Bauer DE, Buzzai M, Karnauskas R, Harris MH, Plas DR, Zhuang H, Cinalli RM, Alavi A, Rudin CM, Thompson CB. Akt stimulates aerobic glycolysis in cancer cells. *Cancer Res* 2004;64:3892-3899.
 23. Matoba S, Kang JG, Patino WD, Wragg A, Boehm M, Gavrilova O, Hurley PJ, Bunz F, Hwang PM. p53 regulates mitochondrial respiration. *Science* 2006;312:1650-1653.
 24. Bensaad K, Tsuruta A, Selak MA, Vidal MN, Nakano K, Bartrons R, Gottlieb E, Vousden KH. TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. *Cell* 2006;126:107-120.
 25. Selak MA, Armour SM, MacKenzie ED, Boulahbel H, Watson DG, Mansfield KD, Pan Y, Simon MC, Thompson CB, Gottlieb E. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF- α prolyl hydroxylase. *Cancer Cell* 2005;7:77-85.
 26. Gottlieb E, Tomlinson IP. Mitochondrial tumour suppressors: a genetic and biochemical update. *Nat Rev Cancer* 2005;5:857-866.
 27. Cuezva JM, Krajewska M, de Heredia ML, Krajewski S, Santamaría G, Kim H, Zapata JM, Marusawa H, Chamorro M, Reed JC. The bioenergetic signature of cancer: a marker of tumor progression. *Cancer Res* 2002;62:6674-6681.
 28. Isidoro A, Martínez M, Fernández PL, Ortega AD, Santamaría G, Chamorro M, Reed JC, Cuezva JM. Alteration of the bioenergetic phenotype of mitochondria is a hallmark of breast, gastric, lung and oesophageal cancer. *Biochem J* 2004;378:17-20.
 29. Yin PH, Lee HC, Chau GY, Wu YT, Li SH, Lui WY, Wei YH, Liu TY, Chi CW. Alteration of the copy number and deletion of mitochondrial DNA in human hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2004;90:2390-2396.
 30. Jiang WG, Douglas-Jones A, Mansel RE. Expression of peroxisome-proliferator activated receptor- γ (PPAR γ) and the PPAR γ co-activator, PGC-1, in human breast cancer correlates with clinical outcomes. *Int J Cancer* 2003;106:752-757.
 31. Feilchenfeldt J, Bründler MA, Soravia C, Tötsch M, Meier CA. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and associated transcription factors in colon cancer: reduced expression of PPAR γ -coactivator 1 (PGC-1). *Cancer Lett* 2004;203:25-33.
 32. Brandon M, Baldi P, Wallace DC. Mitochondrial mutations in cancer. *Oncogene* 2006;25:4647-4662.
 33. Chatterjee A, Mambo E, Sidransky D. Mitochondrial DNA mutations in human cancer. *Oncogene* 2006;25:4663-4674.
 34. Polyak K, Li Y, Zhu H, Lengauer C, Willson JK, Markowitz SD, Trush MA, Kinzler KW, Vogelstein B. Somatic mutations of the mitochondrial genome in human colorectal tumours. *Nat Genet* 1998;20:291-293.
 35. Chinnery PF, Samuels DC, Elson J, Turnbull DM. Accumulation of mitochondrial DNA mutations in ageing, cancer, and mitochondrial disease: is there a common mechanism? *Lancet* 2002;360:1323-1325.
 36. Fliss MS, Usadel H, Caballero OL, Wu L, Buta MR, Eleff SM, Jen J, Sidransky D. Facile detection of mitochondrial DNA mutations in tumors and bodily fluids. *Science* 2000;287:2017-2019.
 37. Canter JA, Kallianpur AR, Parl FF, Millikan RC. Mitochondrial DNA G10398A polymorphism and invasive breast cancer in African-American women. *Cancer Res* 2005;65:8028-8033.
 38. Sanchez-Cespedes M, Parrella P, Nomoto S, Cohen D, Xiao Y, Esteller M, Jeronimo C, Jordan RC, Nicol T, Koch WM, Schoenberg M, Mazzarelli P, Fazio VM, Sidransky D. Identification of a mononucleotide repeat as a major target for mitochondrial DNA alterations in human tumors. *Cancer Res* 2001;61:7015-7019.
 39. Lee HC, Yin PH, Lin JC, Wu CC, Chen CY, Wu CW, Chi CW, Tam TN, Wei YH. Mitochondrial genome instability and mtDNA depletion in human cancers. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1042:109-122.
 40. Lee HC, Li SH, Lin JC, Wu CC, Yeh DC, Wei YH. Somatic mutations in the D-loop and decrease in the copy number of mitochondrial DNA in human hepatocellular carcinoma. *Mutat Res* 2004;547:71-78.
 41. Wu CW, Yin PH, Hung WY, Li AF, Li SH, Chi CW, Wei YH, Lee HC. Mitochondrial DNA mutations and mitochondrial DNA depletion in gastric cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2005;44:19-28.
 42. Tseng LM, Yin PH, Chi CW, Hsu CY, Wu CW, Lee LM, Wei YH, Lee HC. Mitochondrial DNA mutations and mitochondrial DNA depletion in breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2006;45:629-638.
 43. Mambo E, Gao X, Cohen Y, Guo Z, Talalay P, Sidransky D. Electrophile and oxidant damage of mitochondrial DNA leading to rapid evolution of homoplasmic mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:1838-1843.
 44. Pang CY, Lee HC, Yang JH, Wei YH. Human skin mitochondrial DNA deletions associated with light exposure. *Arch Biochem Biophys* 1994;312:534-538.
 45. Lee HC, Yin PH, Yu TN, Chang YD, Hsu WC, Kao SY, Chi CW, Liu TY, Wei YH. Accumulation of mitochondrial DNA deletions in human oral tissues -- effects of betel quid chewing and oral cancer. *Mutat Res* 2001;493:67-74.
 46. Yang JH, Lee HC, Chung JG, Wei YH. Mitochondrial DNA

- mutations in light-associated skin tumors. *Anticancer Res* 2004;24:1753-1758.
47. Dani SU, Dani MA, Simpson AJ. The common mitochondrial DNA deletion Δ mtDNA(4977): shedding new light to the concept of a tumor suppressor mutation. *Med Hypotheses* 2003;61:60-63.
 48. Hung WY, Lin JC, Lee LM, Wu CW, Tseng LM, Yin PH, Chi CW, Lee HC. Tandem duplication/triplication correlated with poly-cytosine stretch variation in human mitochondrial DNA D-loop region. *Mutagenesis* 2008;23:137-142.
 49. Mambo E, Chatterjee A, Xing M, Tallini G, Haugen BR, Yeung SC, Sukumar S, Sidransky D. Tumor-specific changes in mtDNA content in human cancer. *Int J Cancer* 2005;116:920-924.
 50. Mayr JA, Meierhofer D, Zimmermann F, Feichtinger R, Kögler C, Ratschek M, Schmeller N, Sperl W, Kofler B. Loss of complex I due to mitochondrial DNA mutations in renal oncocytoma. *Clin Cancer Res* 2008;14:2270-2275.
 51. Matsuyama W, Nakagawa M, Wakimoto J, Hirotsu Y, Kawabata M, Osame M. Mitochondrial DNA mutation correlates with stage progression and prognosis in non-small cell lung cancer. *Hum Mutat* 2003;21:441-443.
 52. Lievre A, Chapusot C, Bouvier AM, Zinzindohoue F, Piard F, Roignot P, Arnould L, Beaune P, Faivre J, Laurent-Puig P. Clinical value of mitochondrial mutations in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:3517-3525.
 53. Yu M, Zhou Y, Shi Y, Ning L, Yang Y, Wei X, Zhang N, Hao X, Niu R. Reduced mitochondrial DNA copy number is correlated with tumor progression and prognosis in Chinese breast cancer patients. *IUBMB Life* 2007;59:450-457.
 54. Simonnet H, Alazard N, Pfeiffer K, Gallou C, Beroud C, Demont J, Bouvier R, Schagger H, Godinot C. Low mitochondrial respiratory chain content correlates with tumor aggressiveness in renal cell carcinoma. *Carcinogenesis* 2002;23:759-768.
 55. Yamada S, Nomoto S, Fujii T, Kaneko T, Takeda S, Inoue S, Kanazumi N, Nakao A. Correlation between copy number of mitochondrial DNA and clinico-pathologic parameters of hepatocellular carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2006;32:303-307.
 56. Wang Y, Liu VW, Xue WC, Cheung AN, Ngan HY. Association of decreased mitochondrial DNA content with ovarian cancer progression. *Br J Cancer* 2006;95:1087-1091.
 57. Kim MM, Clinger JD, Masayeva BG, Ha PK, Zahurak ML, Westra WH, Califano JA. Mitochondrial DNA quantity increases with histopathologic grade in premalignant and malignant head and neck lesions. *Clin Cancer Res* 2004;10:8512-8515.
 58. Petros JA, Baumann AK, Ruiz-Pesini E, Amin MB, Sun CQ, Hall J, Lim S, Issa MM, Flanders WD, Hosseini SH, Marshall FF, Wallace DC. mtDNA mutations increase tumorigenicity in prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:719-724.
 59. Shidara Y, Yamagata K, Kanamori T, Nakano K, Kwong JQ, Manfredi G, Oda H, Ohta S. Positive contribution of pathogenic mutations in the mitochondrial genome to the promotion of cancer by prevention from apoptosis. *Cancer Res* 2005;65:1655-1663.
 60. van Waveren C, Sun Y, Cheung HS, Moraes CT. Oxidative phosphorylation dysfunction modulates expression of extracellular matrix-remodeling genes and invasion. *Carcinogenesis* 2006;27:409-418.
 61. Amuthan G, Biswas G, Zhang SY, Klein-Szanto A, Vijayasarathy C, Avadhani NG. Mitochondria-to-nucleus stress signaling induces phenotypic changes, tumor progression and cell invasion. *EMBO J* 2001;20:1910-1920.
 62. Biswas G, Guha M, Avadhani NG. Mitochondria-to-nucleus stress signaling in mammalian cells: nature of nuclear gene targets, transcription regulation, and induced resistance to apoptosis. *Gene* 2005;354:132-139.
 63. Lee W, Choi HI, Kim MJ, Park SY. Depletion of mitochondrial DNA up-regulates the expression of MDR1 gene via an increase in mRNA stability. *Exp Mol Med* 2008;40:109-117.
 64. Park SY, Chang I, Kim JY, Kang SW, Park SH, Singh K, Lee MS. Resistance of mitochondrial DNA-depleted cells against cell death: role of mitochondrial superoxide dismutase. *J Biol Chem* 2004;279:7512-7520.
 65. Naito A, Carcel-Trullols J, Xie CH, Evans TT, Mizumachi T, Higuchi M. Induction of acquired resistance to antiestrogen by reversible mitochondrial DNA depletion in breast cancer cell line. *Int J Cancer* 2008;122:1506-1511.
 66. Pelicano H, Xu RH, Du M, Feng L, Sasaki R, Carew JS, Hu Y, Ramdas L, Hu L, Keating MJ, Zhang W, Plunkett W, Huang P. Mitochondrial respiration defects in cancer cells cause activation of Akt survival pathway through a redox-mediated mechanism. *J Cell Biol* 2006;175:913-923.
 67. Li CH, Tzeng SL, Cheng YW, Kang JJ. Chloramphenicol-induced mitochondrial stress increases p21 expression and prevents cell apoptosis through a p21-dependent pathway. *J Biol Chem* 2005;280:26193-26199.
 68. Ishikawa K, Takenaga K, Akimoto M, Koshikawa N, Yamaguchi A, Imanishi H, Nakada K, Honma Y, Hayashi J. ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis. *Science* 2008;320:661-664.
 69. Butow RA, Avadhani NG. Mitochondrial signaling: the retrograde response. *Mol Cell* 2004;14:1-15.
 70. Liu Z, Butow RA. Mitochondrial retrograde signaling. *Annu Rev Genet* 2006;40:159-185.
 71. Jeong DW, Kim TS, Cho IT, Kim IY. Modification of

- glycolysis affects cell sensitivity to apoptosis induced by oxidative stress and mediated by mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;313:984-991.
72. Fantin VR, St-Pierre J, Leder P. Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. *Cancer Cell* 2006;9:425-434.
73. Schulz TJ, Thierbach R, Voigt A, Drewes G, Mietzner B, Steinberg P, Pfeiffer AF, Ristow M. Induction of oxidative metabolism by mitochondrial frataxin inhibits cancer growth: Otto Warburg revisited. *J Biol Chem* 2006;281:977-981.
74. Thierbach R, Schulz TJ, Isken F, Voigt A, Mietzner B, Drewes G, von Kleist-Retzow JC, Wiesner RJ, Magnuson MA, Puccio H, Pfeiffer AF, Steinberg P, Ristow M. Targeted disruption of hepatic frataxin expression causes impaired mitochondrial function, decreased life span and tumor growth in mice. *Hum Mol Genet* 2005;14:3857-3864.
75. Lee HJ, Su Y, Lui WY, Chau GY, Yin PH, Lee HC, Chi CW. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha (PGC-1alpha) upregulated E-cadherin expression in HepG2 cells. *FEBS Lett* 2008;582:627-634.
76. Pelicano H, Feng L, Zhou Y, Carew JS, Hileman EO, Plunkett W, Keating MJ, Huang P. Inhibition of mitochondrial respiration: a novel strategy to enhance drug-induced apoptosis in human leukemia cells by a reactive oxygen species-mediated mechanism. *J Biol Chem* 2003;278:37832-37839.
77. Fantin VR, Berardi MJ, Scorrano L, Korsmeyer SJ, Leder P. A novel mitochondriotoxic small molecule that selectively inhibits tumor cell growth. *Cancer Cell* 2002;2:29-42.



生物醫學
BIOMEDICINE JOURNAL

粒線體—癌症的阿基里斯腱 (Achilles' heel)

高淑慧助理教授 (臺北醫學大學醫學檢驗暨生物技術學系)

粒線體 (mitochondria) 被稱為細胞的發電場 (power house)，不僅調節細胞內的能量代謝，同時也在細胞凋亡 (apoptosis) 路徑扮演重要的角色。大部分的癌細胞被發現具有較高的醣解作用 (glycolysis) 活性與較低的粒線體呼吸作用，並且在細胞凋亡路徑的調控出現異常。癌細胞必須重新整合能量供給的機制以提供其生長之所需，進而改變細胞的生存模式¹。

首先是能量代謝作用的改變，早在1924年，德國的生化學家Otto Warburg即發現癌細胞具有異常的粒線體，而且此異常可能促使癌細胞藉由提升醣解作用來提供生長所需的能量。在「粒線體與癌症」一文中，作者探討了癌細胞改變能量供給的可能機制，如：(1) 己糖激酶-2 (hexokinase 2; HK-2) 的過量表現使細胞展現較高的醣解作用活性；(2) 低氧環境促使低氧誘導因子-1 α (hypoxia-inducible factor 1 α ; HIF-1 α) 不易被降解，進而抑制粒線體呼吸；(3) 與粒線體能量代謝相關的核基因發生變異；(4) RAS、SRC、c-MYC、AKT等致癌基因 (oncogene) 過度表現，進而增加細胞對葡萄糖的攝取或提升醣解作用的活性；(5) 抑瘤基因 (tumor suppressor gene) —TP53的突變 (mutation)，除了會降低SCO2 (synthesis of cytochrome c oxidase 2) 的表現，而降低粒線體呼吸的能力，也會降低TP53誘導醣解作用和細胞凋亡調節因子 (TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator; TIGAR) 的作用，而促進醣解作用的活性。由此可知，癌細胞內的能量代謝以醣解作用取代了正常的粒線體氧化磷酸化作用 (oxidative phosphorylation)。

粒線體的異常被推測與癌症的形成有關，並且在遺傳性副神經腫瘤 (hereditary paraganglioma)

被直接證實²。在遺傳性副神經瘤中發現，此腫瘤的形成是由於粒線體呼吸鏈複合體II (respiratory chain complex II) —琥珀酸脫氫酶 (succinate dehydrogenase) 的基因—SDHD發生變異所致。然而，粒線體DNA的變異與癌症臨床相關性一直存在不同的見解。2006年，Salas等人認為，粒線體DNA的變異與癌症形成之間的關係仍無法確定³。但是近年來更多的研究支持粒線體DNA質與量的變異與癌症臨床的相關性。在這篇文章中，作者從癌細胞粒線體DNA的異常及粒線體DNA拷貝數的改變，探討粒線體DNA變異在癌症形成所扮演的角色。人類腫瘤組織中常可偵測到粒線體DNA的變異，種類包括點突變 (point mutation)、缺失 (deletion)、插入 (insertion) 及粒線體DNA拷貝數的變化。這些粒線體DNA的變異可能會影響粒線體的呼吸作用，增加活性氧化物 (reactive oxygen species; ROS) 的產生及降低腺嘌呤核苷三磷酸 (adenosine triphosphate; ATP) 的生成。增加的ROS可能會破壞粒線體的活性，進一步降低粒線體ATP的生成能力，癌細胞便被迫轉而依賴醣解作用產生ATP。而細胞質融合 (cytoplasmic hybrid) 技術的應用，有助於進一步釐清粒線體DNA的異常在癌症惡化進展扮演的角色。利用細胞質融合技術將帶有T8993G點突變的粒線體送入癌細胞後，發現該癌細胞比不具T8993G突變粒線體的癌細胞有生長優勢。利用低濃度的溴化乙錠 (ethidium bromide) 降低癌細胞的粒線體DNA拷貝數後，可能誘使原本不具侵犯性的癌細胞轉變成具有侵犯能力，甚至增加其對化學治療藥物的抗藥性 (drug resistance)。由此可知，粒線體DNA質 (粒線體DNA點突變) 與量 (粒線體DNA拷貝數) 的變異可以影響癌細胞的生長及侵犯能力。

粒線體DNA或粒線體功能的變異是如何使癌細胞產生抗藥性或侵犯性？研究顯示，粒線體的異常會造成核基因表現的變化，進而影響由粒線體至細胞核的逆向訊息傳遞（retrograde signaling）。粒線體DNA變異造成基因性壓力（genetic stress）或代謝功能異常，可能藉由（1）鈣離子（Ca²⁺）釋出進而活化一連串蛋白激酶（protein kinase; PK）；（2）ATP生成減少，增加腺嘌呤核苷單磷酸（adenosine monophosphate; AMP）/ATP的比例，進而活化腺嘌呤核苷單磷酸依賴性蛋白激酶（AMP-dependent protein kinase; AMPK）；（3）活性氧化物（reactive oxygen species; ROS）增加等途徑，產生逆向訊息傳遞，造成癌細胞旺盛的有氧（aerobic）醱解作用，抑制細胞凋亡，增進轉移（metastasis）及侵犯能力，並產生抗藥性的變化。

最近的研究指出，若能抑制癌細胞醱解作用，或將癌細胞醱解作用逆轉，恢復粒線體氧化磷酸化的效能，可以抑制癌細胞的生長或惡化³。研究指出，若是避免醱解作用形成乳酸（lactic acid），並將代謝路徑再度導向丙酮酸（pyruvate）的代謝，如抑制丙酮酸脫氫酶激酶-1（pyruvate dehydrogenase kinase-1; PDK-1），或活化丙酮酸脫氫酶（pyruvate dehydrogenase; PDH），可增進粒線體的氧化功能，能有效抑制癌細胞生長。2006年，哈佛醫學院（Harvard Medical School, Boston, MA）的研究人員Fantin等人證明，利用RNA干擾技術（RNA interference; RNAi）能抑制乳酸脫氫酶-A（lactate dehydrogenase-A; LDH-A），並因此將癌細胞的生長率降低100倍⁴。缺乏LDH-A的腫瘤細胞生長得更為緩慢，且與LDH-A呈陽性（positive）的腫瘤相比，前者使小鼠死亡的時間平均延長了2.5倍。抑制癌細胞的乳酸脫氫酶基因表現時，可促進癌細胞粒線體的呼吸作用及粒線體ATP之生成，且癌細胞中會有較高的ROS產生，並抑制癌細胞的增生及促進其死亡。因此，以粒線體作為癌症治療標靶是非常具有潛力的。利用癌細胞粒線體作

為毒殺癌細胞的標靶可能成為治療癌症的新方向。

引用文獻

1. Kroemer G, Pouyssegur J. Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. *Cancer Cell* 2008;13:472-482.
2. Baysal BE, Ferrell RE, Willett-Brozick JE, Lawrence EC, Myssiorek D, Bosch A, van der Mey A, Taschner PE, Rubinstein WS, Myers EN, Richard CW 3rd, Cornilisse CJ, Devilee P, Devlin B. Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science* 2000;287:848-851.
3. Salas A, Yao YG, Macaulay V, Vega A, Carracedo A, Bandelt HJ. A critical reassessment of the role of mitochondria in tumorigenesis. *PLoS Med* 2005;2:e296.
4. Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B. Mitochondria in cancer cells: what is so special about them? *Trends Cell Biol* 2008;18:165-173.
5. Fantin VR, St-Pierre J, Leder P. Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. *Cancer Cell* 2006;9:425-434.