

Krebs als mitochondriale Stoffwechselerkrankung

Thomas N. Seyfried*

Fachbereich Biologie, Boston College, Chestnut Hill, MA, USA

Krebs wird weithin als eine genetische Krankheit angesehen, die mit Kernmutationen in Onkogenen und Tumorsuppressorgenen einhergeht. Diese Ansicht hält sich trotz der zahlreichen Ungereimtheiten, die mit der Theorie der somatischen Mutation verbunden sind. Im Gegensatz zur somatischen Mutationstheorie deuten neue Erkenntnisse darauf hin, dass es sich bei Krebs um eine mitochondriale Stoffwechselerkrankung im Sinne der ursprünglichen Theorie von Otto Warburg handelt. Die Ergebnisse von Kern-Zytoplasma-Transfer-Experimenten, die sich auf die Entstehung von Krebs beziehen, werden überprüft. Die Beweise aus diesen Experimenten lassen sich nur schwer mit der Theorie der somatischen Mutation vereinbaren, stimmen aber mit der Vorstellung überein, dass Krebs in erster Linie eine mitochondriale Stoffwechselerkrankung ist.

OPEN ACCESS

Bearbeitet von:
Vasu D. Appanna,
Laurentian Universität, Kanada

Rezensiert
von: Radu Silaghi-Dumitrescu,
Universitatea Babeş-Bolyai,
Rumänien
Raman Chandrasekar,
Kansas State University, USA

* Korrespondenz:
Thomas N. Seyfried,
Fachbereich Biologie, Boston College,
140 Commonwealth Ave, Chestnut
Hill, MA 02467, USA
thomas.seyfried@bc.edu

Fachlicher Teil:
Dieser Artikel wurde bei
Molecular Medicine
eingereicht,
eine Sektion der
Zeitschrift Frontiers in Cell and
Developmental Biologie

Empfangen: 04. April 2015
Angenommen: 15. Juni 2015
Veröffentlicht: 07. Juli 2015

Zitat: Seyfried TN (2015) Cancer as a
mitochondrial metabolic disease. *Front.
Cell Dev. Biol.* 3:43. doi: 10.3389/
fcell.2015.00043

Schlüsselwörter: Warburg-Effekt, Fermentation, oxidative Phosphorylierung, Mitochondrien, Mikroumgebung, Zybride, Tumorigenese, Karzinogenese

Einführung

Die vorherrschende Meinung ist heute, dass Krebs eine genetische Erkrankung ist, die mit Kernmutationen in Onkogenen und Tumorsuppressorgenen einhergeht (Hanahan und

Weinberg, 2011). Man geht davon aus, dass ein typischer Tumor zwei bis acht sogenannte "Treibergene" enthält, die den tumorerzeugenden Phänotyp regulieren (Vogelstein et al., 2013; Hou und Ma, 2014). Die nukleare genomische Instabilität, die bei fast allen Arten von Tumorzellen zu beobachten ist, wird als Hauptursache für die charakteristischen Merkmale des Krebses angesehen, zu denen eine anhaltende proliferative Signalübertragung, die Umgehung Wachstumssuppressoren, Resistenz gegen den Zelltod, replikative Unsterblichkeit,

verstärkte Angiogenese und die Aktivierung von Invasion und Metastasierung gehören (Hanahan und Weinberg, 2011). Die somatischen Mutationen, von denen angenommen wird, dass sie der Ursprung von Krebs sind, entstehen zufällig während der DNA-Replikation in normalen, nicht krebsartigen Stammzellen (Tomasetti und Vogelstein, 2015). Die Theorie der somatischen Mutation ist die am weitesten akzeptierte Ansicht über den Ursprung von Krebs und rechtfertigt die Entwicklung personalisierter Gentherapien zur Behandlung der verschiedenen Formen der Krankheit (Vaux, 2011; McLeod, 2013; Hou und Ma, 2014).

Trotz zahlreicher Ungereimtheiten im Zusammenhang mit der Theorie der somatischen Mutation (Rous, 1959; Sonnenschein und Soto, 2000; Soto und Sonnenschein, 2004; Baker und Kramer, 2007; Burgio und Migliore, 2015), wird die Theorie in den meisten aktuellen College-Lehrbüchern für Genetik, Biochemie und Zellbiologie wie ein Dogma dargestellt und ist die Hauptstütze des National Cancer Institute bei der Aussage, dass "Krebs eine genetische Krankheit ist - das heißt, er wird durch Veränderungen an Genen verursacht, die die Funktionsweise unserer Zellen steuern, insbesondere wie sie wachsen und sich teilen" (<http://www.cancer.gov/cancertopics/what-is-cancer>).

Normales Zytoplasma unterdrückt die Tumorentstehung in Zellzybriden

Als Alternative zur Theorie der somatischen Mutation gibt es zunehmend Hinweise darauf, dass Krebs in erster Linie eine mitochondriale Stoffwechselerkrankung ist (Seyfried und Shelton, 2010; Hu et al., 2012; Verschoor et al., 2013; Seyfried et al., 2014). Die Auffassung, dass Krebs eine Stoffwechselerkrankung ist, geht auf die Experimente von Otto Warburg zurück (Warburg, 1956a,b; Burk et al., 1967). Nach Warburgs Theorie ist die Atemwegsinsuffizienz der Ursprung von Krebs. Alle anderen Phänotypen der Krankheit, einschließlich der somatischen Mutationen, entstehen entweder direkt oder indirekt durch unzureichende Atmung (Warburg, 1956a; Seyfried, 2012a; Seyfried et al., 2014). Warburgs Stoffwechselformel stand auch im Einklang mit den Konzepten von C. D. Darlington und anderen, die zeigten, dass Krebs weitgehend eine zytoplasmatische mitochondriale

Krankheit (Woods und Du Buy, 1945; Darlington, 1948). Befürworter der somatischen Mutationstheorie betrachten den abnormen Energiestoffwechsel von Tumorzellen jedoch einfach als einen weiteren Phänotyp, der "durch proliferationsfördernde Onkogene und defekte Tumorsuppressorgene programmiert wird" (Hanahan und Weinberg, 2011). Angesichts der überwältigenden Akzeptanz der somatischen Mutationstheorie wäre es gut, die Daten aus den Kerntransferexperimenten, die mit der somatischen Mutationstheorie unvereinbar sind, zu überdenken.

Mit den Kerntransfer-Experimenten soll festgestellt werden, ob das Genom somatischer Zellen die normale Entwicklung steuern kann (Gurdon und Wilmut, 2011). Dieselbe Art von Experimenten kann auch verwendet werden, um die Theorie der somatischen Mutation bei Krebs zu testen. Wenn somatische Kernmutationen der Ursprung von Krebszellen sind, dann sollte der charakteristische Krebsphänotyp, *dysregulierte Zellproliferation*, nach dem Transfer eines Tumorkerns in ein normales Zellzytoplasma auftreten. Mit anderen Worten: Die somatischen Mutationen im Tumorzellkern sollten den tumorigenen Phänotyp des abnormen Zellwachstums bestimmen. Wenn andererseits die mitochondriale Dysfunktion der Ursprung der Krebszellen ist, dann sollte der tumorigene Phänotyp dem Typ der Mitochondrien in der Zelle folgen. Mit anderen Worten: Mitochondrien aus nicht krebsartigen Zellen sollten die Tumorentstehung unterdrücken, während Mitochondrien von Tumorzellen die Tumorentstehung fördern sollten, unabhängig davon, ob der vorhandene Zellkern von einer normalen Zelle oder einer Tumorzelle stammt. Es wäre daher wichtig, die Ergebnisse der Studien zum Kern-Zytoplasma-Transfer zu berücksichtigen, wie ich bereits beschrieben habe (Seyfried, 2012d).

Eine Unterdrückung der Tumorigenität wurde beobachtet, als das Zytoplasma entkernter normaler Zellen mit entkernten Tumorzellen zur Bildung von Zybriden verschmolzen wurde (Seyfried, 2012d). Zybride enthalten einen einzigen Zellkern mit einer Mischung aus Zytoplasma von zwei verschiedenen Zellen. Um den Einfluss des Zytoplasmas auf die Ausprägung der Tumorigenität in Zybriden zu untersuchen, fusionierte Koura intakte B16-Mausmelanom-Krebszellen mit Zytoplasten (ohne Kern) aus nicht-tumorigen Rattenmyoblasten (Koura et al., 1982). Die rekonstituierten Zybride wiesen eine einzigartige Morphologie und zelluläre Anordnung auf, die sich von der der Elternzellen unterschied. Die Tumorigenität ging bei allen rekonstituierten Klonen und Zybriden kurz nach ihrer Isolierung zurück, aber bei einigen Klonen trat die Tumorigenität nach längerer Kultivierung der Zellen *in vitro* wieder auf (Koura et al., 1982; Seyfried, 2012d). Die Auswirkungen der unnatürlichen Zellkulturumgebung auf die mitochondriale Atmung könnten zum Teil für die bei einigen Klonen beobachtete Rückkehr zur Tumorigenität verantwortlich sein (Warburg, 1956a; Kiebish et al., 2009). Die Ergebnisse von Koura et al. zeigten, dass normales Zytoplasma,

das Mitochondrien von nicht-tumorigenen Zellen enthält, den malignen Phänotyp von Tumorzellen unterdrücken kann (Seyfried, 2012d). Obwohl diese Beobachtungen nicht mit der Warburg-Theorie in Verbindung gebracht wurden, stellen die Ergebnisse die dominante Rolle des Zellkerns bei der Entstehung von Tumoren in Frage.

In einer umfassenderen Versuchsreihe wiesen Israel und Schaeffer nach, dass die Unterdrückung von Malignität konnte bei Zybriden, die tumorigene Kerne und normales konnte bei Zybriden, die tumorigene Kerne und normales

Zytoplasma enthielten, 100 % erreichen (Israel und Schaeffer, 1987). Andererseits bildeten sich bei 97 % der Mäuse, denen Cybridzellen implantiert wurden, die durch Fusion von Zytoplasten bösartiger Zellen (ohne Kern) mit Karyoplasten normaler Zellen (mit Kern) entstanden waren, Tumore. Das wichtige Merkmal ihrer Studie war, dass die nicht transformierten und die transformierten Zellen alle von einer ursprünglichen geklonten Vorläuferzelle mit einem gemeinsamen Kern- und Zytoplasmahintergrund abstammten (Israel und Schaeffer, 1988; Seyfried, 2012d). Diese Ergebnisse zeigten, dass normale Zellkerne die Tumorentstehung nicht unterdrücken können, wenn sie in das Zytoplasma von Tumorzellen eingebracht werden. Mit anderen Worten: Die normale Genexpression im Zellkern, zu der vermutlich auch Tumorsuppressorgene gehören, war nicht in der Lage, Malignität zu unterdrücken. Eine alternative Sichtweise ist, dass das Zytoplasma der Tumorzelle den Kern so umprogrammieren könnte, dass er tumorerzeugend wird. Diese Ergebnisse stimmen mit der Auffassung von Darlington überein, der zeigte, dass das Zytoplasma und nicht der Zellkern den tumorigenen Zustand der Zellen bestimmt (Darlington, 1948). Israel und Schaeffer konnten die molekulare Grundlage für die zytoplasmatische Kontrolle der Tumorentstehung nicht identifizieren, aber sie schlugen vor, dass epigenetische Veränderungen der Genexpression im Zellkern für das Phänomen verantwortlich sein könnten (Seyfried, 2012d).

Es ist offensichtlich, dass die Ergebnisse von Israel und Schaeffer nicht mit der somatischen Mutationstheorie übereinstimmen, aber ihre Beobachtungen würden die Konzepte der Warburg-Theorie unterstützen. Diese Forscher haben ihre Beobachtungen jedoch nicht mit der Warburg-Theorie in Verbindung gebracht. Stattdessen brachten sie ihre Beobachtungen mit einem möglichen epigenetischen Phänomen in Verbindung (Israel und Schaeffer, 1988). Es ist wichtig zu erkennen, dass Mitochondrien ein leistungsfähiges epigenetisches System außerhalb des Kerns sind, das die Genexpression im Kern über das retrograde Signalsystem steuern kann (Minocherhomji et al., 2012; Seyfried, 2012e). Ein persönlicher Bericht über die Studien von Israel und Schaeffer im Hinblick auf die konkurrierenden Krebstheorien ist erschienen (Christofferson, 2014).

Die Erkenntnisse von Israel und Schaeffer, dass normales Zytoplasma die Tumorigenität unterdrücken kann, stimmen auch mit den Beobachtungen von Shay und Werbin überein (Shay und Werbin, 1988; Shay et al., 1988; Seyfried, 2012d). Shay und Werbin identifizierten mehrere Faktoren, die das Ergebnis von Cybrid-Experimenten zur Aufdeckung zytoplasmatischer Suppressoren der Tumorigenität beeinflussen könnten. Zu diesen Einflussfaktoren gehören (1) die relativen Mengen an nicht-tumorigenem und tumorigenem Zytoplasma in den Zybriden; (2) das Zeitintervall, in dem die Zybride vor dem Testen ihrer Tumorigenität in der Kultur passagiert werden; (3) ob Mutagenese mit Karzinogenen verwendet wurde, um genetische Marker in die Zellen einzuführen; und (4) die Art der verwendeten Zellkombinationen. Es wäre daher nicht verwunderlich, wenn bei den Cybridexperimenten unterschiedliche Ergebnisse erzielt werden könnten, wenn die Störvariablen nicht kontrolliert werden. Im Allgemeinen stimmten die Beobachtungen von Shay und Werbin jedoch mit den Ergebnissen der Versuche von Israel und Schaeffer überein.

Obwohl Shay und Werbin eine mögliche Rolle der Mitochondrien bei den unterdrückenden Effekten des Zytoplasmas auf die Tumorentstehung erwähnten, haben sie ihre Ergebnisse auch nicht im Lichte der Warburgschen Stoffwechselftheorie betrachtet (Seyfried, 2012d).

Howell und Sager waren sich jedoch des Zusammenhangs zwischen der Theorie von Warburg und den Ergebnissen der verschiedenen Cybridstudien bewusst

(Howell und Sager, 1978; Seyfried, 2012d). Diese Forscher spekulierten, dass die Ergebnisse der Cybrid-Experimente dazu beitragen könnten, zu unterscheiden, ob das Zytoplasma oder der Zellkern für die Tumorigenität verantwortlich ist. Sie zeigten, dass das Zytoplasma nicht-tumorigener normaler Zellen die Rate und das Ausmaß der Tumorbildung in Nacktmäusen unterdrückte, wenn es mit kernhaltigen tumorigenen Gegenständen fusioniert wurde (Seyfried, 2012d). Howell und Sager erklärten: *"Wenn die Mitochondrien von Tumorzellen defekt sind, wie Warburg postulierte, dann könnte die Unterdrückung durch die Einführung von Mitochondrien aus normalen Zellen in die Zybride erfolgen"* (Howell und Sager, 1978). Diese Ergebnisse wie auch die von Koura, Israel und Schaeffer sowie Shay und Werbin stützen Warburgs Theorie und sind mit der Theorie der somatischen Mutation nur schwer zu erklären (Seyfried, 2012d).

Um die Rolle des Zytoplasmas und des Zellkerns bei der Kontrolle der Bösartigkeit weiter zu untersuchen, führten Jonasson und Harris mehrere interessante Studien an Hybriden aus Mensch und Maus durch. Sie untersuchten *in vivo* die Bösartigkeit von Tumoren bei einer Reihe von Hybridklonen, die aus Fusionen eines malignen Mausmelanoms mit diploiden menschlichen Fibroblasten und Lymphozyten entstanden (Jonasson und Harris, 1977). Sie stellten fest, dass die menschlichen diploiden Zellen bei der Unterdrückung der Bösartigkeit der Mäusemelanomzellen ebenso wirksam waren wie die diploiden Zellen der Maus, obwohl die menschlichen Chromosomen in den Hybridklonen bevorzugt eliminiert wurden. Die Bösartigkeit wurde auch bei einem Hybridklon unterdrückt, der nur ein einziges menschliches X-Chromosom enthielt. Jonasson und Harris zeigten, dass dieser Klon auch nach der Rückselektion, bei der sie das verbleibende X-Chromosom entfernten, nur wenige Tumore produzierte. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass kein menschliches Kerngenmaterial für die Unterdrückung der Bösartigkeit verantwortlich ist. Diese Ergebnisse würden eine epigenetische Erklärung für die Unterdrückung der Tumorentstehung im Kern ausschließen, nicht aber eine epigenetische Erklärung außerhalb des Kerns (Mitochondrien).

Jonasson und Harris konstruierten auch Hybride zwischen den Melanomzellen und menschlichen Fibroblasten, die vor der Zellfusion bestrahlt wurden (Jonasson und Harris, 1977). Sie zeigten, dass die Häufigkeit der Tumorentstehung in Nacktmäusen bei Kreuzungen zwischen den Melanomzellen der Maus und den bestrahlten menschlichen Fibroblasten größer war als bei Kreuzungen zwischen den Melanomzellen und den unbestrahlten menschlichen Fibroblasten (Jonasson und Harris, 1977). Diese Forscher kamen zu dem Schluss, dass an der Unterdrückung der Bösartigkeit ein strahlenempfindliches extrachromosomales Element beteiligt ist. Die Ergebnisse der Studien von Jonasson und Harris waren aus mehreren Gründen interessant (Seyfried, 2012d). Erstens stimmten ihre Beobachtungen mit denen mehrerer anderer Cybrid-Studien überein, die nahelegen, dass Faktoren im normalen Zytoplasma die Tumorigenität unterdrücken könnten. Zweitens war kein menschliches genetisches Kernmaterial für die unterdrückende Wirkung verantwortlich. Und schließlich konnte hochdosierte Gammastrahlung den zytoplasmatischen Faktor zerstören, der für die Tumorsuppression verantwortlich war. Diese letzte

Beobachtung stand im Einklang mit den Erkenntnissen von Warburg und Darlington, die gezeigt hatten, dass hochdosierte Strahlung die mitochondriale Atmung und das zytoplasmatische Plasmagen, das mehrere Merkmale der Mitochondrien aufweist, zerstört (Darlington, 1948; Warburg, 1956a). Niedrig dosierte Strahlung kann Kernmutationen, aber keinen Krebs verursachen, während hoch dosierte Strahlung schädigt sowohl den Zellkern als auch die Mitochondrien und kann Krebs verursachen.

Interessant ist, dass Jonasson und Harris die Mitochondrien als Ursache für die unterdrückende Wirkung des Zytoplasmas auf die Tumorentstehung ausschlossen (Jonasson und Harris, 1977). Ihre Meinung stützte sich weitgehend auf die Ergebnisse anderer Forscher, die zeigten, dass in den Mensch-Maus-Zybriden keine menschliche mitochondriale DNA oder Proteine nachgewiesen wurden. Neuere Studien bei übertragbaren Krebsarten zeigen jedoch, dass Tumormitochondrien in einigen Tumoren mit normalen Mitochondrien integriert werden können (Rebeck et al., 2011). Ich schlug vor, dass diese Integration die Atmungsinsuffizienz in den Mitochondrien der Tumorzellen verringern oder teilweise korrigieren und so die Tumorigenität unterdrücken könnte (Seyfried, 2012d). Auch die Arbeiten von King und Attardi unterstützen diese Möglichkeit, indem sie zeigten, dass exogene mtDNA die Atmung in Zellen ohne funktionelle mtDNA verbessern kann (King und Attardi, 1988, 1989). Die neueren Ergebnisse von Tan et al. unterstützen diese Möglichkeit ebenfalls, da sie zeigen, dass mtDNA horizontal von Wirtszellen auf Tumorzellen in der Mikroumgebung übertragen werden kann (Tan et al., 2015). Insgesamt betrachtet stehen diese Beobachtungen in allgemeiner Übereinstimmung mit der ursprünglichen Theorie von Warburg.

Es ist jedoch nicht möglich, jeglichen Einfluss des Kerngenoms auf die Unterdrückung der Tumorigenität auszuschließen. Saxon und Mitarbeiter zeigten, dass der Mikrozelltransfer von Chromosom 11 die Tumorigenität in HeLa-Zellen unterdrückte (Saxon et al., 1986). Sie vermuteten, dass auf Chromosom 11 ein Tumorsuppressor-Gen vorhanden sein könnte. Diese Ergebnisse deuten auch auf eine Interaktion zwischen Chromosom 11 und Mitochondrien hin (Seyfried, 2012d). Ist es möglich, dass ein Gen auf Chromosom 11 die mitochondriale Atmung fördert und damit die Tumorigenität in den HeLa-Zellen unterdrückt (Seyfried, 2012d). Interessant ist auch, dass Defekte auf Chromosom 11 mit dem Wilms-Nierentumor und dem kindlichen Neuroblastom in Verbindung gebracht wurden. Weitere Studien werden erforderlich sein, um festzustellen, ob die Tumorunterdrückung mit Wechselwirkungen zwischen der mitochondrialen Atmung und Genen auf Chromosom 11 verbunden ist.

Beweise von rho⁰ Zellen, die einen mitochondrialen Ursprung der Tumorentstehung unterstützen

Singh und Mitarbeiter zeigten, dass der exogene Transfer von Wildtyp-Mitochondrien in Zellen mit verarmter Mitochondrien-DNA (rho⁰-Zellen) die veränderte Expression des APE1-DNA-Reparaturproteins und den tumorigenen Phänotyp umkehren kann, und lieferten damit Beweise für die Rolle der Mitochondrien bei der Unterdrückung der Tumorigenität (Singh et al., 2005). Die mitochondriale Atmung scheint für die Effizienz der APE1-vermittelten DNA-Reparatur verantwortlich zu sein. Die Zellen von rho⁰ haben eine gestörte Atmung, da ihnen die mtDNA fehlt, die für eine normale Zellatmung unerlässlich ist. Ich bin der Ansicht, dass der Transfer von normaler mtDNA in die rho⁰ Zellen die

Atmung wiederherstellt, die mitochondriale/nukleare retrograde Reaktion ausschaltet und die genomische Instabilität des Kerns verhindert (Seyfried, 2012d). Diese Ergebnisse legen nahe, dass eine effiziente mitochondriale Atmung Krebs verhindert. Die neueren Studien von Cruz-Bermudez unterstützen diese Beobachtungen (Cruz-Bermúdez

et al., 2015). Ich habe auch beschrieben, wie Therapien zur Verbesserung der Mitochondrien Krebs verhindern könnten (Seyfried, 2012b).

Wallace und Kollegen haben auch die Bedeutung der Atmung bei der Entstehung von Prostatakrebs nachgewiesen (Petros et al., 2005). Diese Forscher schleusten die pathogene mtDNA-Mutation T8993G durch Cybrid-Transfer in PC3-Prostatakrebszellen ein, um festzustellen, ob die mutierten Bauchspeicheldrüsentumore erhöhte ROS-Werte und eine erhöhte Wachstumsrate aufweisen. Die veränderten PC3-Prostatakrebszellen wurden dann in Nacktmäusen auf Tumorwachstum getestet. Die daraus resultierenden mutierten T8993G-Zybride erzeugten Tumore, die siebenmal größer waren als die der Wildtyp-Zybride. Im Gegensatz zum schnellen Wachstum der mutierten Zybride wuchsen die Wildtyp-Zybride in den Mäusen sehr langsam. In den Tumoren aus den mutierten T8993G-Zybriden wurden auch deutlich mehr ROS produziert als in den Tumoren ohne diese Mutation. Die karzinogene und mutagene Wirkung von ROS schädigt die Atmung und führt zu genomischer Kerninstabilität (Waris und Ahsan, 2006; Klaunig et al., 2010; Seoane et al., 2011). Weitere Experimente der Wallace-Gruppe und in jüngerer Zeit von Cruz-Bermudez und Mitarbeitern zeigten, dass die Einführung von mtDNA-Mutationen die tumorhemmende Wirkung normaler Mitochondrien in Cybriden umkehren kann (Petros et al., 2005; Cruz-Bermúdez et al., 2015). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass einige mtDNA-Mutationen eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Krebs spielen können und dass Krebs am besten als eine Art mitochondrialer Stoffwechselerkrankung definiert werden kann. Diese Ergebnisse stehen auch eher im Einklang mit der Warburg-Theorie als mit der Theorie der somatischen Mutation.

Normales Zytoplasma unterdrückt die Tumorigenese *in Vivo*: Der Nierentumor des Lucke-Frosches

Es liegen umfangreiche Informationen vor, die zeigen, dass die Kerne von Tumorzellen umprogrammiert werden können, um normales Gewebe zu bilden, wenn sie in normales Zytoplasma transplantiert werden, obwohl die tumorassoziierten genomischen Defekte in den Zellen des abgeleiteten Gewebes weiterhin vorhanden sind (Seyfried, 2012d). McKinnell, Deggins und Labat zeigten, dass Zellkerne aus Nierentumoren von Fröschen nach Transplantation des Nierentumor-Zellkerns in eine entkernte normale Eizelle die normale Froschentwicklung steuern können (McKinnell et al., 1969). Bei den Experimenten wurden Zellkerne, die aus Nierentumoren des Frosches Lucke isoliert worden waren, in befruchtete, entkernte Eizellen normaler diploider Frösche implantiert. Wichtig ist, dass die Zellen des Nierentumors triploid waren, da sie drei Kopien aller Chromosomen enthielten. Triploide Kaulquappen entwickelten sich normal aus den triploiden Tumorzellkernen und wiesen funktionelle Gewebe vieler Typen auf. Diese Versuchsstrategie ermöglichte es, die durch den transplantierten Zellkern eingeleitete Entwicklung von der Entwicklung zu unterscheiden, die durch einen versehentlich zurückbehaltenen diploiden mütterlichen Zellkern beeinflusst

wurde (McKinnell et al., 1969). *"Die Forscher zeigten, dass Flimmerepithelien die Kaulquappen in den Kulturschalen antrieben. Die Kaulquappen schwammen, wenn sie stimuliert wurden. Die Kaulquappen verfügten über funktionsfähige Rezeptoren, Nervengewebe und quergestreifte Muskeln, die für das Schwimmen erforderlich waren. Der Herzmuskel pumpte Blutzellen durch die Kiemen. Die Saugnäpfe sonderten reichlich*

Schleim. Deutlich zu erkennen waren der Pronephralkamm, die Augenanlage, die Nasengrube und das offene Maul, ebenso wie die Unterscheidung von Kopf, Körper und Schwanz. Die Schwanzflosse regenerierte sich, nachdem sie für Chromosomenuntersuchungen abgeschnitten worden war. Darüber hinaus zeigten Schnitte von Embryonen, die sich aus transplantierten triploiden Tumorkernen entwickelt hatten, eine offensichtlich normale Entwicklung von Gehirn, Rückenmark, Sehnervenkopf mit Linse, Hörblase, Somiten, Pronephrintubuli, Pharynx, Mitteldarm und Notochord. In keinem der untersuchten Organe oder Gewebe wurden Anzeichen für ein abnormales Zellwachstum festgestellt" (Seyfried, 2012d). Diese Ergebnisse zeigen, dass die aus Tumorzellen stammenden Kerne eine normale Entwicklung steuern können und kein dysreguliertes Zellwachstum, den charakteristischen Phänotyp der Tumorentstehung, hervorrufen. Interessant ist, dass die Kaulquappen, die Tumorkerne enthielten, ihre Entwicklung zu normalen erwachsenen Fröschen nicht abschließen konnten. Es bleibt unklar, ob die tumorbedingten Kerndefekte für die Verhinderung der Spätentwicklung der Frösche verantwortlich waren.

Die Ergebnisse der Lucke-Frosch-Experimente stehen im Einklang mit der mitochondrialen Stoffwechselftheorie, sind aber nur schwer mit der somatischen Mutationstheorie von Krebs zu vereinbaren (Seyfried, 2012d). Die entkernte Eizelle würde die Mitochondrien aus dem Zytoplasma der normalen Eizelle enthalten. Diese Mitochondrien würden die normale Energiehomöostase während der Entwicklung steuern. Meiner Ansicht nach *unterdrückt eine normale Energiehomöostase die Tumorentstehung trotz des Vorhandenseins des Tumorkerns und somatischer Mutationen*" (Seyfried, 2012d). Spätere Studien legten nahe, dass der Verlust des Lucke-Tumorherpesvirus mit dem Verlust der Tumorigenität in Verbindung steht (Carlson et al., 1994). Dieses Virus wurde als der ätiologische Erreger angesehen, der für die Entstehung der Nierentumoren verantwortlich ist. Inzwischen ist jedoch bekannt, dass das Herpesvirus die Mitochondrienfunktion verändern kann, um die Tumorigenese zu fördern (D'agostino et al., 2005; Seyfried, 2012c). Ackermann und Kurtz haben gezeigt, dass Herpesviren sich eng an Mitochondrien anlagern, was zu einer gestörten Atmung führt (Ackermann und Kurtz, 1952). Daher könnte der Ersatz von virusgeschädigten Mitochondrien durch normale Mitochondrien des Wirts die Tumorigenese trotz der Anwesenheit des Nierentumorkerns unterdrücken (Seyfried, 2012d). Die Ergebnisse aus dem Frosch-Nierentumor ähneln den oben beschriebenen Ergebnissen aus den Zell-Cybrid-Experimenten und lassen Zweifel an der somatischen Mutationstheorie als Erklärung für diese Art von Krebs aufkommen.

Normales Zytoplasma kann tumorerzeugende Phänotypen bei Mäusen unterdrücken

Ähnliche Ergebnisse wie beim Nierentumor des Frosches Lucke wurden auch nach dem Kerntransfer bei Mäusetumoren erzielt. Morgan und Kollegen zeigten, dass Kerne aus einem Gehirntumor der Maus, der aus Kleinhirn-Körnerzellen (Medulloblastom) entstanden war, die normale Entwicklung steuern konnten, wenn die Tumorkerne in entkernte somatische Zellen transplantiert wurden (Li et al., 2003). **Abbildung 1** aus dieser Studie zeigt, dass sich aus Zellen, die Tumorkerne enthalten, normale embryonale Gewebe und Keimzellenschichten bilden können. Diese Forscher zeigten, dass der Transfer des Tumorzellkerns in normales Zytoplasma den tumorigenen Phänotyp unterdrückte, obwohl das mutierte Kerngen (*Patched*), von dem man annahm, dass es sich um eine Mutation handelt, weiterhin vorhanden war.

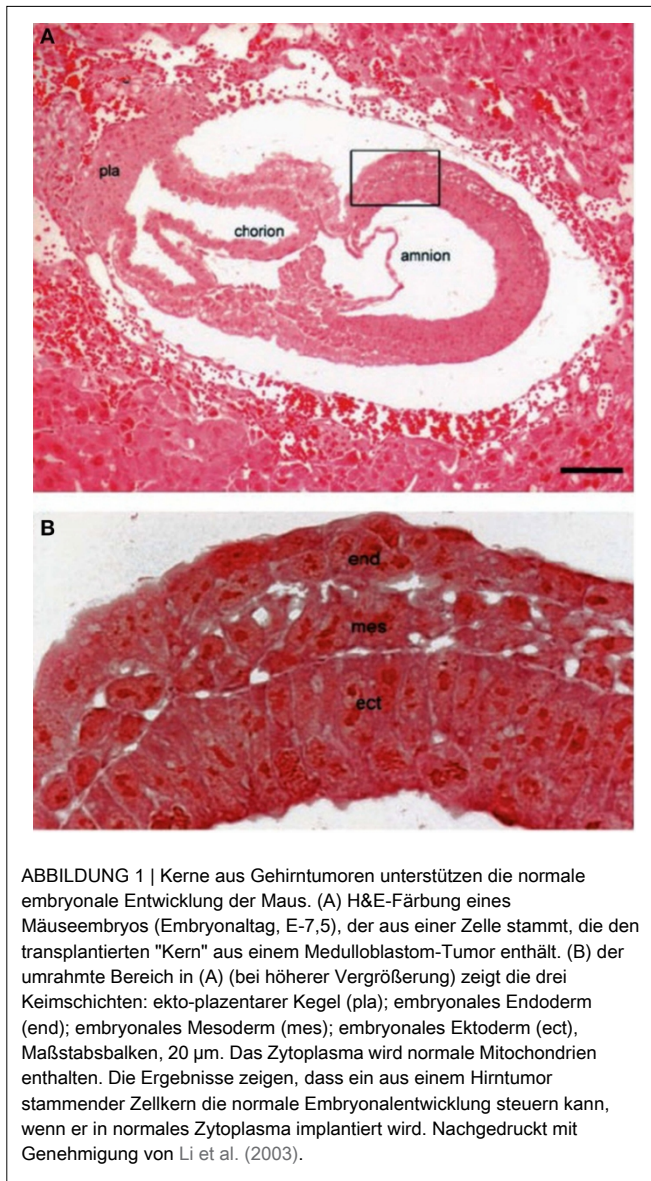


ABBILDUNG 1 | Kerne aus Gehirntumoren unterstützen die normale embryonale Entwicklung der Maus. (A) H&E-Färbung eines Mäuseembryos (Embryonaltag, E-7,5), der aus einer Zelle stammt, die den transplantierten "Kern" aus einem Medulloblastom-Tumor enthält. (B) der umrahmte Bereich in (A) (bei höherer Vergrößerung) zeigt die drei Keimschichten: ekto-plazentarer Kegel (pla); embryonales Endoderm (end); embryonales Mesoderm (mes); embryonales Ektoderm (ect), Maßstabsbalken, 20 µm. Das Zytoplasma wird normale Mitochondrien enthalten. Die Ergebnisse zeigen, dass ein aus einem Hirntumor stammender Zellkern die normale Embryonalentwicklung steuern kann, wenn er in normales Zytoplasma implantiert wird. Nachgedruckt mit Genehmigung von Li et al. (2003).

die für den ursprünglichen tumorigenen Phänotyp verantwortlich sind (Li et al., 2003; Seyfried, 2012d). Die transplantierten Medulloblastomkerne erzeugten nach der Implantation Embryonen, die eine normale Gewebedifferenzierung und Organogenese im Frühstadium durchliefen. Wichtig ist, dass bei keiner der Empfängermause Malignität oder abnormales Zellwachstum festgestellt wurde. In kultivierten Blastozysten wurde eine normale Proliferationskontrolle beobachtet, was darauf hindeutet, dass somatische Kernmutationen allein wahrscheinlich nicht für den ursprünglichen tumorigenen Phänotyp verantwortlich waren (Li et al., 2003).

Li und Mitarbeiter schlugen vor, dass die tumorerzeugende Patched-Mutation, die das Medulloblastom verursacht, im Zusammenhang mit der Kleinhirn-Körnerzelllinie wirken muss und dass die Mutation die bösartige Zellvermehrung außerhalb des Kleinhirns nicht unterstützt (Li et al., 2003). Obwohl eine epigenetische Umprogrammierung der Medulloblastomkerne als Erklärung für ihre Beobachtungen angeboten wurde, ist es auch möglich, dass ihre Beobachtungen aus dem Ersatz dysfunktionaler Mitochondrien durch normal funktionale

Mitochondrien resultieren, die in der Empfängerstammzelle vorhanden wären (Seyfried, 2012d). Die Ergebnisse

in diesem Maus-Hirntumormodell stimmen mit denen überein, die bei dem Nierentumor des Frosches Lucke beobachtet wurden. Die Ergebnisse von Li et al. unterstützen auch die früheren Beobachtungen von Mintz und Illmensee, die zeigten, dass normal aussehende Mäuse aus Tumorzellkernen geklont werden konnten, die aus bösartigen Teratomen gewonnen wurden, und dass "strukturelle Mutationen im Kerngenom nicht für die Tumorbildung verantwortlich sein können" (Mintz und Illmensee, 1975). Zusammengefasst deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass Kerngenommutationen allein nicht für die Entstehung von Tumoren verantwortlich sein können. Obwohl diese Beobachtungen die mögliche Rolle der Mitochondrien bei der Modulation der Tumorentstehung aufzeigen, lassen sie sich nur schwer mit der Theorie der somatischen Mutation erklären.

Die Arbeit von Hochedlinger, Jaenisch und Kollegen unterstützte auch die Ergebnisse der Experimente mit dem Lucke-Frosch und dem Maus-Medulloblastom (Hochedlinger et al., 2004). Diese Forscher fanden heraus, dass die Kerne von Melanomzellen der Maus normal aussehende Blastozysten ohne Anzeichen einer dysregulierten Zellproliferation erzeugen können. Sie zeigten auch, dass normale Blastozysten aus *p53*^{-/-}-Brustkrebszellen gebildet werden können und dass normale Blastozysten und embryonale Zelllinien aus Melanomkernen gebildet werden können. **Abbildung 2** zeigt ein Bild aus ihrer Studie eines Mausembryos, der aus dem Kern eines Melanoms geklont wurde. Diese Forscher schlugen vor, dass die Eizellenumgebung den bösartigen Phänotyp der verschiedenen Tumorarten unterdrücken könnte und dass Tumorkerne die normal erscheinende Entwicklung in frühen Mausembryonen steuern könnten (Hochedlinger et al., 2004; Seyfried, 2012d). Man würde erwarten, dass das Zytoplasma der Eizelle normale Mitochondrien enthält. Auf der Grundlage der zuvor erwähnten Studien an Zybriden, Fröschen und Mäusen wäre es vernünftig anzunehmen, dass die normalen Mitochondrien mit Atmungskompetenz die Tumorigenität unterdrücken würden. Man könnte annehmen, dass Tumorkerne die normale Entwicklung steuern würden, solange normal funktionierende Mitochondrien im Zytoplasma vorhanden sind. Die Autoren zeigten jedoch, dass sich in einigen Mäusen, die aus Tumorkernen geklont wurden, Tumore bilden konnten, solange das Ras-Onkogen zusammen mit den tumorassoziierten Mutationen exprimiert wurde. Inzwischen ist bekannt, dass das Ras-Onkogen die Tumorentstehung durch eine hemmende Wirkung auf die oxidative Phosphorylierung in Mitochondrien auslöst (Hu et al., 2012). Daher ist die Schädigung der Atmung eine wesentliche Voraussetzung für die Tumorentstehung.

Die Studien der Gruppe von Hochedlinger und Jaenisch zeigten auch, dass embryonale Stammzellen, die aus geklonten Melanomzellen stammen, sich in mehrere somatische Zelllinien differenzieren können, darunter Fibroblasten, Lymphozyten und Melanozyten (Hochedlinger et al., 2004). *"Bemerkenswerterweise fand eine normale Entwicklung trotz der Persistenz schwerer chromosomaler Veränderungen und Mutationen statt, die durch Array-Comparative Genome Hybridization (CHG) dokumentiert wurden"* (Hochedlinger et al., 2004; Seyfried, 2012d). Die Forscher kamen zu dem Schluss, dass sekundäre Chromosomenveränderungen, die mit Malignität einhergehen, nicht unbedingt die Präimplantationsentwicklung, die Ableitung embryonaler

Stammzellen und ein breites nukleares Differenzierungspotenzial beeinträchtigen (Hochedlinger et al., 2004). Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass Genmutationen im Zellkern allein nicht für die Entstehung von Krebs verantwortlich gemacht werden können und daher nicht mit der Theorie der somatischen Mutation vereinbar sind. Leider haben diese Forscher ihre Ergebnisse auch nicht im Zusammenhang mit der mitochondrialen Funktion oder mit der die Warburg-Theorie, obwohl es Beweise gibt, die mit dieser Theorie übereinstimmen.



ABBILDUNG 2 | Aus einem Tumorzellkern geklonter Mausembryo. Ein E-9.5-Mausembryo, der aus einer vom Melanom stammenden embryonalen Stammzelle R545-1 geklont wurde. Der Embryo zeigte den Verschluss des Neuralrohrs, ein schlagendes Herz und eine normale Entwicklung der Gliedmaßenknospen, die mit einem regulierten Zellwachstum vereinbar ist. Das Ergebnis zeigt, dass der Zellkern eines malignen Melanoms die frühe Entwicklung von Mäusen steuern kann, wenn er in ein normales Zytoplasma mit normalen Mitochondrien eingesetzt wird. Irreversible genetische Veränderungen aus dem Spendergenom des Melanoms führten jedoch zu einer Unterbrechung der vollständigen Entwicklung, ähnlich wie bei den Lucke-Fröschen, die aus Kernen von Nierentumoren geklont wurden

Unterdrückte Tumorigenität in der Mikroumgebung der Leber

Grishman und Mitarbeiter berichteten, dass Lebertumorzelllinien von Ratten, die Aneuploidie exprimieren, aggressive Tumore bildeten, wenn sie subkutan gezüchtet wurden, aber keine Tumore bildeten, wenn sie orthotop in der Leber gezüchtet wurden (Coleman et al., 1993; Seyfried, 2012d). Nach intrahepatischer Transplantation in erwachsene syngene Fischer-344-Ratten differenzierten sich die Tumorzellen morphologisch aus. Die Autoren schlossen daraus, dass enge Zellkontakte oder Faktoren in der hepatischen Mikroumgebung die Tumorigenität unterdrückten. Es ist bekannt, dass in der Leber von Mäusen Zell-Zell-Fusionen auftreten (Faggioli et al., 2008). Könnte es möglich sein, dass die Fusion zwischen normalen Leberzellen und neoplastischen Leberzellen in der einzigartigen Mikroumgebung der Leber die Tumorigenität in ähnlicher Weise unterdrückt, wie dies in den oben erwähnten

Die unterdrückende Wirkung normaler Mitochondrien auf die Tumorgenese verbindet die mitochondriale Funktion mit der langjährigen Kontroverse über zelluläre Differenzierung und Tumorigenität (Harris, 1988; Soto und Sonnenschein, 2004; Seyfried, 2012d; Seyfried und Shelton, 2010). *Die Atmung ist für die Entstehung und Aufrechterhaltung der Differenzierung erforderlich, während der Verlust der Atmung zu Glykolyse, Entdifferenzierung und ungezügelter Proliferation führt* (Seyfried, 2012d). Diese Beobachtung steht im Einklang mit der in dieser Übersicht vorgestellten allgemeinen Hypothese, dass eine anhaltende Beeinträchtigung des mitochondrialen Energiestoffwechsels der Karzinogenese zugrunde liegt (Warburg, 1969; Szent-Gyorgyi, 1977; Seyfried, 2012d). Diese Hypothese würde einen epigenetischen Ursprung der Krankheit im klassischen Sinne darstellen (Nanne, 1958; Holliday, 2006; Seyfried, 2012d). Der Ersatz dysfunktionaler Mitochondrien durch normale Mitochondrien würde die normale Energiehomöostase und den differenzierten Zustand wiederherstellen.

Normale Mitochondrien können die Tumorigenese bei metastasierendem Brustkrebs unterdrücken

Cybrid-Experimenten beobachtet wurde? Die jüngsten Ergebnisse von Tan und Kollegen unterstützen den horizontalen Transfer von mitochondrialer DNA von Wirtszellen auf Tumorzellen (Tan et al., 2015). Weitere Studien sind erforderlich, um die Fragen des horizontalen Transfers mitochondrialer Komponenten in der Mikroumgebung der Leber zu klären.

Jüngste Studien von Kaiparettu, Wong und Kollegen zeigen, dass das Einbringen von nicht kanzerösen Mitochondrien in hochgradig bösartige Brustkrebszellen die Bösartigkeit umkehren und mehrere onkogene Signalwege herunterregulieren könnte, einschließlich derjenigen, die mit unreguliertem Zellwachstum, Lebensfähigkeit unter Hypoxie, anti-apoptischen Eigenschaften, Resistenz gegen Krebsmedikamente, Invasion, Koloniebildung in Weichagar und In-vivo-Tumorstadium in Nacktmäusen zu tun haben (Kaiparettu et al., 2013). Zybride mit normalen Mitochondrien zeigten eine verbesserte Mitochondrienfunktion, einschließlich erhöhter ATP-Synthese, Sauerstoffverbrauch und Aktivitäten der Atmungskette, trotz der Anwesenheit des krebsartigen Kerngenoms. Eine bemerkenswerte Erkenntnis war, dass, obwohl sich die Gene, die für die meisten mitochondrialen Proteine kodieren, im Zellkern befinden, die Einführung von Mitochondrien, die aus einer nicht krebsartigen Zelle stammen, in eine krebsartige Kernumgebung zu einer Unterdrückung der onkogenen Signalwege und des tumorigenen Phänotyps führte. Cruz-Bermúdez et al. berichteten kürzlich über ähnliche Ergebnisse und zeigten, dass die In-vivo-Tumorigenität in Zybriden, die den 143B-Osteosarkom-Zellkern und normale Mitochondrien enthielten, deutlich geringer war als in 143B-Zellen, die Mitochondrien mit verschiedenen Mutationen in der mtDNA enthielten (Cruz-Bermúdez et al., 2015).

Mit anderen Worten, normale Mitochondrien könnten die Tumorigenität unterdrücken, obwohl der tumorigene Zellkern weiterhin vorhanden ist. Die Ergebnisse dieser Studien ergänzen die Ergebnisse der oben genannten Kerntransferexperimente und unterstreichen die wichtige Rolle der Mitochondrien bei der Entstehung und Regulierung der Tumorigenese. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit der Auffassung, dass die Tumorentstehung eher auf mitochondriale Defekte als auf somatische Mutationen im Kerngenom zurückzuführen ist.

Unstimmigkeiten und Schwierigkeiten

Jede Theorie, die versucht, ein komplexes biologisches Phänomen wie Krebs zu erklären, sollte Schwierigkeiten oder Unstimmigkeiten mit der Theorie ansprechen, anstatt sie zu ignorieren. Ich habe versucht, diese Fragen zu klären.

So berichteten Akimoto, Hayashi und Mitarbeiter, dass genomische Chimären-Mausfibroblasten, die Kern-DNA von Tumorzellen und mtDNA von normalen Zellen tragen, Tumorigenität zeigen, während solche, die Kern-DNA von normalen Zellen und mtDNA von Tumorzellen tragen, dies nicht tun (Akimoto et al., 2005). Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass die Kern-DNA, nicht aber die mtDNA, für die Karzinogen-induzierte bösartige Transformation in diesen Mausfibroblasten verantwortlich war. Diese Ergebnisse werfen die Frage nach der Rolle des Zellkerns und der Mitochondrien bei der Entstehung von Tumoren auf und sollten vor dem Hintergrund der in dieser Übersicht berichteten In-vivo-Kerntransfer-Experimente betrachtet werden. Israel und Schaeffer beschrieben die Rolle der verschiedenen In-vitro-Geschichten, die zu einigen Unstimmigkeiten in den Cybrid-Studien beitragen (Israel und Schaeffer, 1988). Weitere Studien werden erforderlich sein, um die Unterschiede zwischen den Ergebnissen einiger In-vivo- und In-vitro-Transferexperimente auszugleichen.

Die Rolle der mitochondrialen DNA (mtDNA) bei der Entstehung und dem Fortschreiten von Krebs ist jedoch umstritten. Wir konnten keine pathogenen mtDNA-Mutationen in einem breiten Spektrum von chemisch induzierten und natürlich entstandenen Gehirntumoren der Maus finden (Kiebish und Seyfried, 2005). Unsere Studien waren insofern umfassend, als wir das gesamte mitochondriale Genom sequenziert haben, nachdem wir zunächst die Mitochondrien aus dem Tumorgewebe isoliert und aufgereinigt hatten. Es wird angenommen, dass viele der in Tumoren gefundenen mtDNA-Mutationen als Artefakte entstehen, möglicherweise durch Amplifikation von in den Kern eingebetteten mtDNA-Sequenzen (NUMTs) (Salas et al., 2005; Schon et al., 2012). Andererseits wird der tumorigene Phänotyp mit abnormen mitochondrialen Lipiden in Verbindung gebracht (Kiebish et al., 2008). In der Tat wurde bisher kein Tumor mit einem normalen Gehalt oder einer normalen Zusammensetzung von Cardiolipin gefunden, dem charakteristischen Lipid der inneren Mitochondrienmembran, das die oxidative Phosphorylierung reguliert (Kiebish et al., 2009; Claypool und Koehler, 2012; Seyfried et al., 2014).

Proteomische Anomalien, die Mitochondrien betreffen, wurden auch bei verschiedenen Tumoren festgestellt (Unwin et al., 2003; Ristow und Cuezva, 2009; Dai et al., 2010; Deighton et al., 2014). Diese Ergebnisse liefern zusätzliche Beweise für die ursprüngliche Theorie von Warburg. Pedersen dokumentierte das breite Spektrum an mitochondrialen Anomalien, die in Tumorzellen zu finden sind (Pedersen, 1978). Daher können mitochondriale Anomalien, die mit Krebs in Verbindung stehen, mehr als nur mtDNA-Mutationen beinhalten. Wir haben kürzlich zusammengefasst, wie die meisten Krebsarten durch Anomalien in der Struktur und Funktion der Mitochondrien entstehen können (Seyfried, 2012a; Seyfried et al., 2014).

Wenn die meisten Krebsarten durch chronische Anomalien der mitochondrialen Atmungskapazität entstehen, warum ist dann Krebs bei einigen Personen, die Mutationen erben, die die mitochondriale Funktion schädigen, selten? Zum Beispiel ist Krebs bei Patienten mit familiärer amyotropher Lateralsklerose (ALS) selten (Vigliani et al., 2000). Bei der familiären ALS liegen

Mutationen im Cu/Zn-Superoxiddismutase-Gen (SOD) vor, die die Atmungsfunktion stören und zur Neurodegeneration führen (Rosen, 1993; Dupuis et al., 2004a,b). Tumore, die in Neuronen des zentralen Nervensystems entstehen, sind jedoch selten, da die Neuronen nicht in der Lage sind, die Fermentation aufrechtzuerhalten, wenn die Atmung beeinträchtigt ist (Allen et al., 2005). Beispielsweise tötet mitochondriales ROS dopaminerge Neuronen bei der Parkinson-Krankheit ab, ohne Krebs zu erzeugen.

(Eng et al., 2003). Auch bei Kindern mit Barth-Syndrom, das mit Anomalien beim Kardiolipin-Umbau und einer Atemstörung einhergeht, ist Krebs selten (Claypool und Koehler, 2012; Clarke et al., 2013). Kinder mit Barth-Syndrom weisen jedoch auch eine Hypoglykämie auf, die die Glukosegärung und den Warburg-Effekt verhindert, der für die Tumorentstehung erforderlich wäre. Die meisten Tumore entstehen in Zellen, die den glykolytischen Weg hochregulieren können, um eine allmähliche und chronische Störung der oxidativen Phosphorylierung zu kompensieren. Zellen, die nicht in der Lage sind, den Energieübergang von der Atmung zur Gärung zu vollziehen, sterben ab und werden nicht zu Tumorzellen, wie Warburg als Erster erwähnte (Warburg, 1956a).

Multiple symmetrische Lipomtumore mit abnormen Mitochondrien wurden bei Trägern des vererbten mitochondrialen Syndroms, der Myoklonus-Epilepsie und der Ragged-Red-Fibers (MERRF), gefunden (Holme et al., 1993). Die Lipome exprimierten Mutationen im mtDNA-Gen, das für tRNA-Lysin kodiert, was darauf hindeutet, dass die Lipome durch die mtDNA-Mutationen entstanden sind. Die mtDNA-Mutationen wurden auch mit einer nukleären genomischen Instabilität in Verbindung gebracht, die mit groben Chromosomenanomalien einherging. Obwohl die Tumoren durch die mtDNA-Mutation entstanden sind, könnte die genomische Instabilität des Kerns eine sekundäre Folge der berichteten mitochondrialen Anomalien sein. Diese Ergebnisse würden mit der Auffassung übereinstimmen, dass die genomische Instabilität in Tumoren als sekundäre Folge einer mitochondrialen Dysfunktion und einer veränderten oxidativen Phosphorylierung entsteht (Seyfried und Shelton, 2010; Chandra und Singh, 2011; Seyfried et al., 2014; Bartesaghi et al., 2015). Jüngste Ergebnisse von Cruz-Burmedez et al. zeigen, dass die Tumorigenität in Verbindung mit mtDNA-Mutationen, die eine weniger schwere mitochondriale Dysfunktion hervorrufen, größer ist als bei mtDNA-Mutationen, die eine schwere Dysfunktion der oxidativen Phosphorylierung hervorrufen (Cruz-Bermúdez et al., 2015). Diese Ergebnisse legen nahe, dass ein gewisses Maß an mitochondrialer oxidativer Phosphorylierung für die Tumorentstehung erforderlich ist. Für das Fortschreiten hochgradig bösartiger Brusttumore, die nur wenige oder gar keine Mitochondrien aufweisen, ist die oxidative Phosphorylierung jedoch wahrscheinlich nicht erforderlich (Elliott et al., 2012). Ich stimme der Ansicht von Eng und Kollegen zu, dass weitere Forschungen zu den genetischen, zellulären und klinischen Aspekten der Mitochondrienfunktion im Zusammenhang mit dem Krebsrisiko erforderlich sind (Eng et al., 2003).

Zusammenfassung der Kern-Zytoplasma-Transfer-Experimente

Insgesamt gesehen liefern die hier besprochenen Ergebnisse überzeugende Beweise dafür, dass somatische Kernmutationen allein nicht für die Entstehung von Tumoren verantwortlich sind und dass normales Zytoplasma, das Mitochondrien enthält, die Tumorigenität unterdrücken kann. Interessant ist, dass die Ergebnisse der Kern-Zytoplasma-Transfer-Experimente im Allgemeinen über ein breites Spektrum von Tumorarten, Tierarten und experimentellen Techniken hinweg konsistent sind.

Diese Studien wurden von mehreren führenden Wissenschaftlern auf dem Gebiet der Genetik und Entwicklungsbiologie durchgeführt (C. D. Darlington, H. Harris, B. Mintz, R. Sager, J. Morgan, R. Jaenisch), was die Validität der Ergebnisse weiter untermauert. Außerdem wurden die meisten dieser Studien nicht durchgeführt, um die Theorie der somatischen Mutation bei Krebs zu testen, sondern

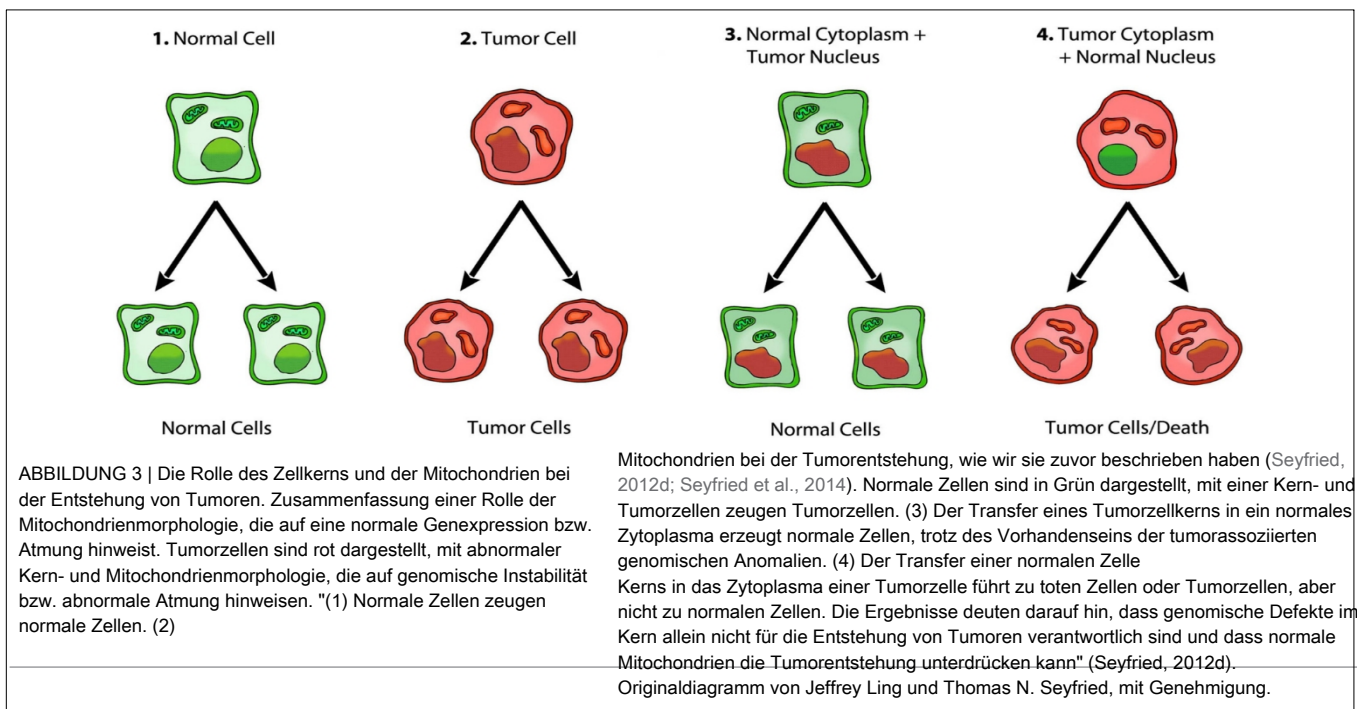
wurden durchgeführt, um die Bedeutung von Kernmutationen bei der Steuerung des tumorerzeugenden Phänotyps zu bestimmen. Folglich war die Interpretation der Daten weitgehend unvoreingenommen. Die allgemeine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist angesichts der jüngsten Bedenken hinsichtlich der Irreproduzierbarkeit wichtiger wissenschaftlicher Ergebnisse bemerkenswert (McNutt, 2014). Obwohl zahlreiche Ungereimtheiten dokumentiert wurden, die die Glaubwürdigkeit der somatischen Mutationstheorie untergraben (Sonnenschein und Soto, 2008; Burgio und Migliore, 2015), ist keine dieser Ungereimtheiten so aussagekräftig wie die hier präsentierten Ergebnisse der Kern-Zytoplasma-Transfer-Experimente. Darüber hinaus haben jüngste Studien von Chernet und Levin gezeigt, dass Veränderungen in der bioelektrischen Membransignalisierung metastatisches Verhalten von *Xenopus*-Melanozyten in Abwesenheit von somatischen Mutationen hervorrufen können, was darauf hindeutet, dass der tumorigene Phänotyp nicht von nukleären Genmutationen abhängig ist (Chernet und Levin, 2014; Chernet et al., 2014). Mit anderen Worten: Kernmutationen allein reichen für die Entstehung von Tumoren nicht aus, während der tumorerzeugende Phänotyp in einigen Zellen auch ohne Kernmutationen entstehen kann. Diese Erkenntnisse stellen die Grundlage der Theorie der somatischen Mutation bei Krebs ernsthaft in Frage.

Obwohl die Kern-Zytoplasma-Transfer-Experimente die somatische Mutationstheorie nicht stützen, stützen die Daten aus diesen Experimenten die Warburg-Theorie von Krebs. Eine normale Mitochondrienfunktion kehrt die Expression und den Warburg-Effekt um, da dieser Effekt auf eine unzureichende Atmung zurückzuführen ist (Burk und Schade, 1956; Kaiparettu et al., 2013; Seyfried et al., 2014). Die aerobe Gärung ist eine Folge unzureichender Atmung. Aussagen über einen "umgekehrten Warburg-Effekt", bei denen es nicht um eine wiederhergestellte Atmung in den Tumorzellen geht, sind angesichts der hier vorgestellten Informationen schwer zu vereinbaren (Pavlides et al., 2009; Seyfried, 2012d). Normale Mitochondrien würden

die Atmung verbessern und so die Expression von Onkogenen und die Tumorigenität unterdrücken, während Mitochondrien aus Krebszellen die Atmung nicht wiederherstellen oder die Tumorigenität unterdrücken können. Nach der Warburg-Theorie wäre zu erwarten, dass das Vorhandensein normaler Mitochondrien in Tumorzellen den zellulären Redox-Zustand wiederherstellt, die mitochondriale Stressreaktion herunterreguliert und letztlich die Notwendigkeit der Fermentation (Warburg-Effekt) zur Aufrechterhaltung der Lebensfähigkeit verringert oder beseitigt (Seyfried et al., 2014). Anders ausgedrückt: Eine normale Mitochondrienfunktion erhält den differenzierten Zustand aufrecht und unterdrückt damit die Karzinogenese, während dysfunktionale Mitochondrien die zelluläre Dedifferenzierung fördern und damit die Karzinogenese erleichtern können (Seyfried, 2012d). Cuezva und Ristow zeigen auch, dass eine normale mitochondriale Atmung die Tumorentstehung unterdrückt (Ristow, 2006; Cuezva et al., 2009; Ristow und Cuezva, 2009). Proliferation ist der Standardzustand von Metazellen, d. h. der Zustand, in dem sich Zellen befinden, wenn sie von jeder aktiven Kontrolle befreit sind (Sonnenschein und Soto, 1999). Mitochondrien können den differenzierten Zustand und die Ruhephase aufrechterhalten. Der Verlust der Mitochondrienfunktion führt schließlich zum Standardzustand der ungezügelten Proliferation, d. h. zum metabolischen Phänotyp, der in allen Zellen während der anoxischen Alpha-Periode der Erdgeschichte vorhanden war (Szent-Gyorgyi, 1977; Seyfried, 2012a). **Abbildung 3** fasst die Rolle der Mitochondrien bei der Tumorentstehung zusammen.

Der Ursprung von Krebs

Es ist bekannt, dass reaktive Sauerstoffspezies (ROS) in defekten Mitochondrien hauptsächlich durch das Coenzym Q-Paar produziert werden (Veech, 2004). ROS sind starke Mutagene der Kern-DNA und können die genomische Instabilität verursachen, die in den meisten Tumorzellen zu beobachten ist (Waris



und Ahsan, 2006; Seoane et al., 2011). Bartesaghi et al. haben kürzlich gezeigt, dass in neuronalen Vorläuferzellen nach einer Schädigung der oxidativen Phosphorylierung eine nukleare genomische Instabilität, eine Inaktivierung von p53 und eine tumorigene Transformation auftreten (Bartesaghi et al., 2015). Ich vertrete die Ansicht, dass die Vielzahl zufälliger somatischer Mutationen, die in Tumoren fast jeder Art zu beobachten sind, letztlich als nachgeschaltete Effekte einer unzureichenden Atmung mit kompensatorischer Fermentation entstehen (Seyfried und Shelton, 2010; Seyfried, 2012a). Inzwischen häufen sich die Belege, die diese Ansicht unterstützen (Waris und Ahsan, 2006; Seoane et al., 2011; Al Mamun et al., 2012; Bartesaghi et al., 2015). Die allmähliche Umstellung der zellulären Energieerzeugung von oxidativer Phosphorylierung auf Phosphorylierung auf Substratebene kann nicht nur die Ansammlung von Zufallsmutationen und die genomische Instabilität in Krebszellen erklären, sondern auch alle von Hanahan und Weinberg beschriebenen Krankheitsmerkmale (Seyfried und Shelton, 2010; Hanahan und Weinberg, 2011; Seyfried, 2012a). Wir haben auch gezeigt, dass das Merkmal der Metastasierung aus einer Schädigung der Atmung von Zellen myeloischen Ursprungs oder deren Fusionshybriden resultiert, die von Natur aus die Fähigkeit besitzen, im Blutkreislauf zu überleben und sich im Körper zu verbreiten (Huysentruyt und Seyfried, 2010; Seyfried und Huysentruyt, 2013). Die Daten, die den Ursprung von Krebs als mitochondriale Stoffwechselerkrankung belegen, sollten mit den Daten verglichen werden, die den "unglücklichen" Ursprung von Krebs durch die Theorie der somatischen Mutation belegen (Tomasetti und Vogelstein, 2015). Den meisten Krebsbiologen sollte klar sein, dass die Entstehung von Krebs als eine Art mitochondrialer Stoffwechselerkrankung die Merkmale der Krankheit besser erklären kann als die Theorie der somatischen Mutation.

Der Mechanismus, durch den ein breites Spektrum an unterschiedlichen Umweltkarzinogenen und seltenen Keimbahnmutationen über einen gemeinsamen Mechanismus Tumore erzeugen könnte, wurde als *onkogenes Paradoxon bezeichnet* (Szent-Gyorgyi, 1977; Cairns, 1981; Seyfried et al., 2014). Vor kurzem haben wir das onkogene Paradoxon erklärt, indem wir beschrieben haben, wie die meisten, wenn nicht sogar alle anerkannten Karzinogene die Zellatmung schädigen und damit die Energieproduktion von der oxidativen Phosphorylierung auf die Phosphorylierung auf Substratebene verlagern könnten (Seyfried und Shelton, 2010; Seyfried, 2012a; Seyfried et al., 2014). Dies würde auch Veränderungen in den morphogenetischen Feldern des Gewebes einschließen. Eine langwierige Umstellung von Atmung auf Gärung führt zu einer Versauerung und Destabilisierung der Mikroumgebung des Gewebes und damit des morphogenetischen Feldes (Sonnenschein und Soto, 1999; Fosslien, 2008; Bissell und Hines, 2011). Die Versauerung der Mikroumgebung fördert die Angiogenese und erleichtert den Weg zur Tumorentstehung (Sonnenschein und Soto, 1999; Gatenby und Gillies, 2004; Soto und Sonnenschein, 2004). Dies steht im Einklang mit der Auffassung, dass der Tumor eine ungeheilte Wunde ist (Dvorak, 1986). Während viele genetische Anomalien durch epigenetische Phänomene entstehen, könnte die Instabilität des Genoms, sobald sie einmal etabliert ist, zu weiteren

Atemwegserkrankungen beitragen.

Beeinträchtigung, Genom-Mutabilität und Tumorprogression (Rubin, 1985; Seyfried, 2001; Seyfried und Shelton, 2010). Irgendwann würde die nukleare genomische Instabilität in den Tumorzellen eine Rückkehr zur normalen zellulären Homöostase verhindern. Was dann entsteht, ist eine eskalierende Situation des biologischen Chaos, in der die intrinsischen Eigenschaften des Immunsystems (Makrophagen und lokales Stroma), Wunden zu heilen, die Proliferation in Gewebestammzellen und ihren Vorläufern verstärken (Seyfried, 2001). Genomische Instabilität und Transformation begleiten das biologische Chaos. Zusammengenommen treiben sich diese mächtigen intrinsischen Eigenschaften gegenseitig zu einem höheren Maß an biologischer Unordnung und Unvorhersehbarkeit an, die alle zunächst aus chronischen Verletzungen der Zellatmung resultieren.

Schlussfolgerung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die hier vorgestellten Informationen die Annahme stützen, dass Krebs durch eine Schädigung der *Mitochondrien* im Zytoplasma und nicht durch eine Schädigung des *Genoms* im Zellkern entsteht. Die Schädigung des Genoms in Tumorzellen folgt den Störungen der Zellatmung und geht ihnen nicht voraus. Diese Ansicht steht auch im Einklang mit den früheren Erkenntnissen von Roskelley et al. (1943), Hu et al. (2012). Es ist unklar, wie viele Forscher auf dem Gebiet des Krebses sich der Beweise für den mitochondrialen Ursprung der Krankheit bewusst sind. Payton

Referenzen

Ackermann, W. W., and Kurtz, H. (1952). The relation of herpes virus to host cell mitochondria. *J. Exp. Med.* 96, 151–157. doi:10.1084/jem.96.2.151

Rous erklärte, dass "die Theorie der somatischen Mutation wie ein Beruhigungsmittel auf diejenigen wirkt, die daran glauben" (Rous, 1959). Rous' Aussage war prophetisch angesichts der gegenwärtigen Akzeptanz der somatischen Mutationstheorie, trotz der eklatanten Ungereimtheiten dieser Theorie. Ich führe die langsamen Fortschritte im "Krieg gegen den Krebs" auf das beharrliche Festhalten an der somatischen Mutationstheorie und auf das Versagen bei der Anerkennung der mitochondrialen Dysfunktion als glaubwürdige alternative Erklärung für die Entstehung der Krankheit zurück (Seyfried, 2012a). Kürzlich haben wir beschrieben, wie die somatischen Mutationen in Tumorzellen die Anpassungsfähigkeit an Stress verringern und damit die Tumorzellen anfällig für die Eliminierung durch "Druckimpuls"-Stoffwechseltherapien mit ungiftigen Medikamenten und ketogenen Diäten machen (Seyfried und Mukherjee, 2005; Seyfried et al., 2014). Ich bin der Meinung, dass echte Fortschritte in der Krebsbehandlung und -prävention erzielt werden können, wenn die Krebsforschung die Theorie der somatischen Mutation aufgibt und die Rolle der Mitochondrien bei der Entstehung, Behandlung und Prävention der Krankheit anerkennt.

Danksagungen

Diese Arbeit wurde zum Teil durch NIH-United States Grants (HD-39722, NS-1080 55195 und CA-102135), einen Grant vom American Institute of Cancer Research, der Single Cause, Single Cause Foundation und dem Boston College Research Expense Fund.

Akimoto, M., Niikura, M., Ichikawa, M., Yonekawa, H., Nakada, K., Honma, Y., et al. (2005). Nuclear DNA but not mtDNA control tumor phenotypes in mouse cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 327, 1028–1035. doi:10.1016/j.bbrc.2004.12.105

- Allen, N. J., Karadottir, R., and Attwell, D. (2005). A preferential role for glycolysis in preventing the anoxic depolarization of rat hippocampal area CA1 pyramidal cells. *J. Neurosci.* 25, 848–859. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4157-04.2005
- Al Mamun, A. A., Lombardo, M. J., Shee, C., Lisewski, A. M., Gonzalez, C., Lin, D., et al. (2012). Identity and function of a large gene network underlying mutagenic repair of DNA breaks. *Science* 338, 1344–1348. doi: 10.1126/science.1226683
- Baker, S. G., and Kramer, B. S. (2007). Paradoxes in carcinogenesis: new opportunities for research directions. *BMC Cancer* 7:151. doi: 10.1186/1471-2407-7-151
- Bartesevich, S., Graziano, V., Galavotti, S., Henriquez, N. V., Betts, J., Saxena, J., et al. (2015). Inhibition of oxidative metabolism leads to p53 genetic inactivation and transformation in neural stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112, 1059–1064. doi: 10.1073/pnas.1413165112
- Bissell, M. J., and Hines, W. C. (2011). Why don't we get more cancer? A proposed role of the microenvironment in restraining cancer progression. *Nat. Med.* 17, 320–329. doi: 10.1073/pnas.1413165112
- Burgio, E., and Migliore, L. (2015). Towards a systemic paradigm in carcinogenesis: linking epigenetics and genetics. *Mol. Biol. Rep.* 42, 777–790. doi: 10.1007/s11033-014-3804-3
- Burk, D., and Schade, A. L. (1956). On respiratory impairment in cancer cells. *Science* 124, 270–272.
- Burk, D., Woods, M., and Hunter, J. (1967). On the significance of glucolysis for cancer growth, with special reference to Morris rat hepatomas. *J. Natl. Cancer Inst.* 38, 839–863.
- Cairns, J. (1981). The origin of human cancers. *Nature* 289, 353–357. doi: 10.1038/289353a0
- Carlson, D. L., Sauerbier, W., Rollins-Smith, L. A., and Mckinnell, R. G. (1994). Fate of herpesvirus DNA in embryos and tadpoles cloned from Lucke renal carcinoma nuclei. *J. Comp. Pathol.* 111, 197–204. doi: 10.1016/S0021-9975(05)80051-9
- Chandra, D., and Singh, K. K. (2011). Genetic insights into OXPHOS defect and its role in cancer. *Biochim. Biophys. Acta* 1807, 620–625. doi: 10.1016/j.bbabi.2010.10.023
- Chernet, B. T., Fields, C., and Levin, M. (2014). Long-range gap junctional signaling controls oncogene-mediated tumorigenesis in *Xenopus laevis* embryos. *Front. Physiol.* 5:519. doi: 10.3389/fphys.2014.00519
- Chernet, B. T., and Levin, M. (2014). Transmembrane voltage potential of somatic cells controls oncogene-mediated tumorigenesis at long-range. *Oncotarget* 5, 3287–3306.
- Christofferson, T. (2014). *Tripping Over the Truth: The Metabolic Theory of Cancer*. North Charleston, SC: Createspace.
- Clarke, S. L., Bowron, A., Gonzalez, I. L., Groves, S. J., Newbury-Ecob, R., Clayton, N., et al. (2013). Barth syndrome. *Orphanet J. Rare Dis.* 8:23. doi: 10.1186/1750-1172-8-23
- Claypool, S. M., and Koehler, C. M. (2012). The complexity of cardiolipin in health and disease. *Trends Biochem. Sci.* 37, 32–41. doi: 10.1016/j.tibs.2011.09.003
- Coleman, W. B., Wennerberg, A. E., Smith, G. J., and Grisham, J. W. (1993). Regulation of the differentiation of diploid and some aneuploid rat liver epithelial (stemlike) cells by the hepatic microenvironment. *Am. J. Pathol.* 142, 1373–1382.
- Cruz-Bermúdez, A., Vallejo, C. G., Vicente-Blanco, R. J., Gallardo, M. E., Fernández-Moreno, M. A., Quintanilla, M., et al. (2015). Enhanced tumorigenicity by mitochondrial DNA mild mutations. *Oncotarget* 6, 13628–13643.
- Cuevas, J. M., Ortega, A. D., Willers, I., Sanchez-Cenizo, L., Aldea, M., and Sanchez-Arago, M. (2009). The tumor suppressor function of mitochondria: translation into the clinics. *Biochim. Biophys. Acta* 1792, 1145–1158. doi: 10.1016/j.bbadi.2009.01.006
- D'agostino, D. M., Bernardi, P., Chieco-Bianchi, L., and Ciminale, V. (2005). Mitochondria as functional targets of proteins coded by human tumor viruses. *Adv. Cancer Res.* 94, 87–142. doi: 10.1016/s0065-230x(05)94003-7
- Dai, Z., Yin, J., He, H., Li, W., Hou, C., Qian, X., et al. (2010). Mitochondrial comparative proteomics of human ovarian cancer cells and their platinum-resistant sublines. *Proteomics* 10, 3789–3799. doi: 10.1002/pmic.200900685
- Darlington, C. D. (1948). The plasmagene theory of the origin of cancer. *Br. J. Cancer* 2, 118–126. doi: 10.1038/bjc.1948.17
- Deighton, R. F., Le Bihan, T., Martin, S. F., Gerth, A. M., McCulloch, M., Edgar, J. M., et al. (2014). Interactions among mitochondrial proteins altered in glioblastoma. *J. Neurooncol.* 118, 247–256. doi: 10.1007/s11060-014-1430-5
- Dupuis, L., Gonzalez de Aguilar, J. L., Oudart, H., de Tapia, M., Barbeito, L., and Loeffler, J. P. (2004a). Mitochondria in amyotrophic lateral sclerosis: a trigger and a target. *Neurodegener. Dis.* 1, 245–254. doi: 10.1159/000085063
- Dupuis, L., Oudart, H., Rene, F., Gonzalez De Aguilar, J. L., and Loeffler, J. P. (2004b). Evidence for defective energy homeostasis in amyotrophic lateral sclerosis: benefit of a high-energy diet in a transgenic mouse model. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 11159–11164. doi: 10.1073/pnas.0402026101
- Dvorak, H. F. (1986). Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N. Engl. J. Med.* 315, 1650–1659. doi: 10.1056/NEJM198612253152606
- Elliott, R. L., Jiang, X. P., and Head, J. F. (2012). Mitochondria organelle transplantation: introduction of normal epithelial mitochondria into human cancer cells inhibits proliferation and increases drug sensitivity. *Breast Cancer Res. Treat.* 136, 347–354. doi: 10.1007/s10549-012-2283-2
- Eng, C., Kiuru, M., Fernandez, M. J., and Aaltonen, L. A. (2003). A role for mitochondrial enzymes in inherited neoplasia and beyond. *Nat. Rev. Cancer* 3, 193–202. doi: 10.1038/nrc1013
- Faggioli, F., Sacco, M. G., Susani, L., Montagna, C., and Vezzoni, P. (2008). Cell fusion is a physiological process in mouse liver. *Hepatology* 48, 1655–1664. doi: 10.1002/hep.22488
- Fosslien, E. (2008). Cancer morphogenesis: role of mitochondrial failure. *Ann Clin Lab Sci* 38, 307–329.
- Gatenby, R. A., and Gillies, R. J. (2004). Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat. Rev. Cancer* 4, 891–899. doi: 10.1038/nrc1478
- Gurdon, J. B., and Wilmut, I. (2011). Nuclear transfer to eggs and oocytes. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 3, 1–14. doi: 10.1101/cshperspect.a002659
- Hanahan, D., and Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646–674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013
- Harris, H. (1988). The analysis of malignancy by cell fusion: the position in 1988. *Cancer Res.* 48, 3302–3306.
- Hochedlinger, K., Blelloch, R., Brennan, C., Yamada, Y., Kim, M., Chin, L., et al. (2004). Reprogramming of a melanoma genome by nuclear transplantation. *Genes Dev.* 18, 1875–1885. doi: 10.1101/gad.1213504
- Holliday, R. (2006). Epigenetics: a historical overview. *Epigenetics* 1, 76–80. doi: 10.4161/epi.1.2.2762
- Holme, E., Larsson, N. G., Oldfors, A., Tulinius, M., Sahlin, P., and Stenman, G. (1993). Multiple symmetric lipomas with high levels of mtDNA with the tRNA(Lys) A→G(8344) mutation as the only manifestation of disease in a carrier of myoclonus epilepsy and ragged-red fibers (MERRF) syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 52, 551–556.
- Hou, J. P., and Ma, J. (2014). DawnRank: discovering personalized driver genes in cancer. *Genome Med.* 6, 56. doi: 10.1186/s13073-014-0056-8
- Howell, A. N., and Sager, R. (1978). Tumorigenicity and its suppression in cybrids of mouse and Chinese hamster cell lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 75, 2358–2362. doi: 10.1073/pnas.75.5.2358
- Hu, Y., Lu, W., Chen, G., Wang, P., Chen, Z., Zhou, Y., et al. (2012). K-ras(G12V) transformation leads to mitochondrial dysfunction and a metabolic switch from oxidative phosphorylation to glycolysis. *Cell Res.* 22, 399–412. doi: 10.1038/cr.2011.145
- Huysentruyt, L. C., and Seyfried, T. N. (2010). Perspectives on the mesenchymal origin of metastatic cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 29, 695–707. doi: 10.1007/s10555-010-9254-z
- Israel, B. A., and Schaeffer, W. I. (1987). Cytoplasmic suppression of malignancy. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 23, 627–632. doi: 10.1007/BF02621071
- Israel, B. A., and Schaeffer, W. I. (1988). Cytoplasmic mediation of malignancy. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 24, 487–490. doi: 10.1007/BF02628504
- Jonasson, J., and Harris, H. (1977). The analysis of malignancy by cell fusion. VIII. Evidence for the intervention of an extra-chromosomal element. *J. Cell Sci.* 24, 255–263.
- Kaipparettu, B. A., Ma, Y., Park, J. H., Lee, T. L., Zhang, Y., Yotnda, P., et al. (2013). Crosstalk from non-cancerous mitochondria can inhibit tumor properties of metastatic cells by suppressing oncogenic pathways. *PLoS ONE* 8:e61747. doi: 10.1371/journal.pone.0061747

- Kiebish, M. A., Han, X., Cheng, H., Chuang, J. H., and Seyfried, T. N. (2008). Cardiolipin and electron transport chain abnormalities in mouse brain tumor mitochondria: lipidomic evidence supporting the Warburg theory of cancer. *J. Lipid Res.* 49, 2545–2556. doi: 10.1194/jlr.M800319-JLR200
- Kiebish, M. A., Han, X., Cheng, H., and Seyfried, T. N. (2009). *In vitro* growth environment produces lipidomic and electron transport chain abnormalities in mitochondria from non-tumorigenic astrocytes and brain tumours. *ASN Neuro* 1:e00011. doi: 10.1042/AN20090011
- Kiebish, M. A., and Seyfried, T. N. (2005). Absence of pathogenic mitochondrial DNA mutations in mouse brain tumors. *BMC Cancer* 5:102. doi: 10.1186/1471-2407-5-102
- King, M. P., and Attardi, G. (1988). Injection of mitochondria into human cells leads to a rapid replacement of the endogenous mitochondrial DNA. *Cell* 52, 811–819. doi: 10.1016/0092-8674(88)90423-0
- King, M. P., and Attardi, G. (1989). Human cells lacking mtDNA: repopulation with exogenous mitochondria by complementation. *Science* 246, 500–503. doi: 10.1126/science.2814477
- Klaunig, J. E., Kamendulis, L. M., and Hocevar, B. A. (2010). Oxidative stress and oxidative damage in carcinogenesis. *Toxicol. Pathol.* 38, 96–109. doi: 10.1177/0192623309356453
- Koura, M., Isaka, H., Yoshida, M. C., Tosu, M., and Sekiguchi, T. (1982). Suppression of tumorigenicity in interspecific reconstituted cells and hybrids. *Gann* 73, 574–580.
- Li, L., Connelly, M. C., Wetmore, C., Curran, T., and Morgan, J. I. (2003). Mouse embryos cloned from brain tumors. *Cancer Res.* 63, 2733–2736.
- McKinnell, R. G., Deggins, B. A., and Labat, D. D. (1969). Transplantation of pluripotential nuclei from triploid frog tumors. *Science* 165, 394–396. doi: 10.1126/science.165.3891.394
- McLeod, H. L. (2013). Cancer pharmacogenomics: early promise, but concerted effort needed. *Science* 339, 1563–1566. doi: 10.1126/science.1234139
- McNutt, M. (2014). Journals unite for reproducibility. *Science* 346, 679. doi: 10.1126/science.1250475
- Minochromji, S., Tollefsbol, T. O., and Singh, K. K. (2012). Mitochondrial regulation of epigenetics and its role in human diseases. *Epigenetics* 7, 326–334. doi: 10.4161/epi.19547
- Mintz, B., and Illmensee, K. (1975). Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 72, 3585–3589.
- Nanney, D. L. (1958). Epigenetic Control Systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 44, 712–717. doi: 10.1073/pnas.44.7.712
- Pavlidis, S., Whitaker-Menezes, D., Castello-Cros, R., Flomenberg, N., Witkiewicz, A. K., Frank, P. G., et al. (2009). The reverse Warburg effect: aerobic glycolysis in cancer associated fibroblasts and the tumor stroma. *Cell Cycle* 8, 3984–4001. doi: 10.4161/cc.8.23.10238
- Pedersen, P. L. (1978). Tumor mitochondria and the bioenergetics of cancer cells. *Prog. Exp. Tumor Res.* 22, 190–274. doi: 10.1159/000401202
- Petros, J. A., Baumann, A. K., Ruiz-Pesini, E., Amin, M. B., Sun, C. Q., Hall, J., et al. (2005). mtDNA mutations increase tumorigenicity in prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 719–724. doi: 10.1073/pnas.0408894102
- Rebeck, C. A., Leroi, A. M., and Burt, A. (2011). Mitochondrial capture by a transmissible cancer. *Science* 331, 303. doi: 10.1126/science.1197696
- Ristow, M. (2006). Oxidative metabolism in cancer growth. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 9, 339–345. doi: 10.1097/01.mco.0000232892.43921.98
- Ristow, M., and Cuezva, J. M. (2009). “Oxidative phosphorylation and cancer: the ongoing warburg hypothesis,” in *Cellular Respiration and Carcinogenesis*, eds R. Sarangarajan and S. Apte (New York, NY: Humana Press), 1–18.
- Rosen, D. R. (1993). Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 364, 362. doi: 10.1038/362059a0
- Roskelley, R. C., Mayer, N., Horwitz, B. N., and Salter, W. T. (1943). Studies in cancer. VII. enzyme deficiency in human and experimental cancer. *J. Clin. Invest.* 22, 743–751. doi: 10.1172/JCI101447
- Rous, P. (1959). Surmise and fact on the nature of cancer. *Nature* 183, 1357–1361. doi: 10.1038/1831357a0
- Rubin, H. (1985). Cancer as a dynamic developmental disorder. *Cancer Res.* 45, 2935–2942.
- Salas, A., Yao, Y. G., Macaulay, V., Vega, A., Carracedo, A., and Bandelt, H. J. (2005). A critical reassessment of the role of mitochondria in tumorigenesis. *PLoS Med.* 2:e296. doi: 10.1371/journal.pmed.0020296
- Saxon, P. J., Srivatsan, E. S., and Stanbridge, E. J. (1986). Introduction of human chromosome 11 via microcell transfer controls tumorigenic expression of HeLa cells. *EMBO J.* 5, 3461–3466.
- Schon, E. A., Dimauro, S., and Hirano, M. (2012). Human mitochondrial DNA: roles of inherited and somatic mutations. *Nat. Rev. Genet.* 13, 878–890. doi: 10.1038/nrg3275
- Seoane, M., Mosquera-Miguel, A., Gonzalez, T., Fraga, M., Salas, A., and Costoya, J. A. (2011). The mitochondrial genome is a “genetic sanctuary” during the oncogenic process. *PLoS ONE* 6:e23327. doi: 10.1371/journal.pone.0023327
- Seyfried, T. N. (2001). Perspectives on brain tumor formation involving macrophages, glia, and neural stem cells. *Perspect. Biol. Med.* 44, 263–282. doi: 10.1353/pbm.2001.0035
- Seyfried, T. N. (2012a). *Cancer as a Metabolic Disease: On the Origin, Management, and Prevention of Cancer*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.
- Seyfried, T. N. (2012b). “Cancer prevention,” in *Cancer as a Metabolic Disease: On the Origin, Management, and Prevention of Cancer*. (Hoboken, NJ: John Wiley & Sons), 375–386.
- Seyfried, T. N. (2012c). “Genes, respiration, viruses, and cancer,” in *Cancer as a Metabolic Disease: On the Origin, Management, and Prevention of Cancer*. (Hoboken, NJ: John Wiley & Sons), 145–176.
- Seyfried, T. N. (2012d). “Mitochondria: the ultimate tumor suppressor,” in *Cancer as a Metabolic Disease: On the Origin, Management, and Prevention of Cancer*. (Hoboken, NJ: John Wiley & Sons), 195–205.
- Seyfried, T. N. (2012e). “Respiratory insufficiency, the retrograde response, and the origin of cancer,” in *Cancer as a Metabolic Disease: On the Origin, Management, and Prevention of Cancer*. (Hoboken, NJ: John Wiley & Sons), 177–194.
- Seyfried, T. N., Flores, R. E., Poff, A. M., and D’agostino, D. P. (2014). Cancer as a metabolic disease: implications for novel therapeutics. *Carcinogenesis* 35, 515–527. doi: 10.1093/carcin/bgt480
- Seyfried, T. N., and Huysentruyt, L. C. (2013). On the origin of cancer metastasis. *Crit. Rev. Oncog.* 18, 43–73. doi: 10.1615/CritRevOncog.v18.i1-2.40
- Seyfried, T. N., and Mukherjee, P. (2005). Targeting energy metabolism in brain cancer: review and hypothesis. *Nutr. Metab. (Lond.)* 2:30. doi: 10.1186/1743-7075-2-30
- Seyfried, T. N., and Shelton, L. M. (2010). Cancer as a metabolic disease. *Nutr. Metab. (Lond.)* 7:7. doi: 10.1186/1743-7075-7-7
- Shay, J. W., Liu, Y. N., and Werbin, H. (1988). Cytoplasmic suppression of tumor progression in reconstituted cells. *Somat. Cell Mol. Genet.* 14, 345–350. doi: 10.1007/BF01534642
- Shay, J. W., and Werbin, H. (1988). Cytoplasmic suppression of tumorigenicity in reconstructed mouse cells. *Cancer Res.* 48, 830–833.
- Singh, K. K., Kulawiec, M., Still, I., Desouki, M. M., Geradts, J., and Matsui, S. (2005). Inter-genomic cross talk between mitochondria and the nucleus plays an important role in tumorigenesis. *Gene* 354, 140–146. doi: 10.1016/j.gene.2005.03.027
- Sonnenschein, C., and Soto, A. M. (1999). *The Society of Cells: Cancer and the Control of Cell Proliferation*. New York, NY: Springer-Verlag.
- Sonnenschein, C., and Soto, A. M. (2000). Somatic mutation theory of carcinogenesis: why it should be dropped and replaced. *Mol. Carcinog.* 29, 205–211.
- Sonnenschein, C., and Soto, A. M. (2008). Theories of carcinogenesis: an emerging perspective. *Semin. Cancer Biol.* 18, 372–377. doi: 10.1016/j.semcancer.2008.03.012
- Soto, A. M., and Sonnenschein, C. (2004). The somatic mutation theory of cancer: growing problems with the paradigm? *Bioessays* 26, 1097–1107. doi: 10.1002/bies.20087
- Szent-Gyorgyi, A. (1977). The living state and cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 74, 2844–2847. doi: 10.1073/pnas.74.7.2844
- Tan, A. S., Baty, J. W., Dong, L. F., Bezawork-Geleta, A., Endaya, B., Goodwin, J., et al. (2015). Mitochondrial Genome Acquisition Restores Respiratory Function and Tumorigenic Potential of Cancer Cells without Mitochondrial DNA. *Cell Metab.* 21, 81–94. doi: 10.1016/j.cmet.2014.12.003
- Tomasetti, C., and Vogelstein, B. (2015). Cancer etiology. Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions. *Science* 347, 78–81. doi: 10.1126/science.1260825

- Unwin, R. D., Craven, R. A., Harnden, P., Hanrahan, S., Totty, N., Knowles, M., et al. (2003). Proteomic changes in renal cancer and coordinate demonstration of both the glycolytic and mitochondrial aspects of the Warburg effect. *Proteomics* 3, 1620–1632. doi: 10.1002/pmic.200300464
- Vaux, D. L. (2011). In defense of the somatic mutation theory of cancer. *Bioessays* 33, 341–343. doi: 10.1002/bies.201100022
- Veech, R. L. (2004). The therapeutic implications of ketone bodies: the effects of ketone bodies in pathological conditions: ketosis, ketogenic diet, redox states, insulin resistance, and mitochondrial metabolism. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 70, 309–319. doi: 10.1016/j.plefa.2003.09.007
- Verschoor, M. L., Ungard, R., Harbottle, A., Jakupciak, J. P., Parr, R. L., and Singh, G. (2013). Mitochondria and cancer: past, present, and future. *Biomed Res. Int.* 2013:612369. doi: 10.1155/2013/612369
- Vigliani, M. C., Polo, P., Chio, A., Giometto, B., Mazzini, L., and Schiffer, D. (2000). Patients with amyotrophic lateral sclerosis and cancer do not differ clinically from patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurol.* 247, 778–782. doi: 10.1007/s004150070092
- Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V. E., Zhou, S., Diaz, L. A. Jr., Kinzler, K. W., et al. (2013). Cancer genome landscapes. *Science* 339, 1546–1558. doi: 10.1126/science.1235122
- Warburg, O. (1956a). On the origin of cancer cells. *Science* 123, 309–314. doi: 10.1126/science.123.3191.309
- Warburg, O. (1956b). On the respiratory impairment in cancer cells. *Science* 124, 269–270.
- Warburg, O. (1969). “Revised lindau lectures: the prime cause of cancer and prevention—Parts 1 & 2,” in *Meeting of the Nobel-Laureates*, ed D. Burk (Lindau: K.Triltsch), 1–9. Available online at: <http://www.hopeforcancer.com/OxyPlus.htm>
- Waris, G., and Ahsan, H. (2006). Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *J. Carcinog.* 5:14. doi: 10.1186/1477-3163-5-14
- Woods, M. W., and Du Buy, H. G. (1945). Cytoplasmic diseases and cancer. *Science* 102, 591–593. doi: 10.1126/science.102.2658.591

Conflict of Interest Statement: The information presented is the view of Dr. Thomas N. Seyfried based on previous data that was published in peer-reviewed journals. The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2015 Seyfried. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.