

20118024A

厚生労働科学研究費補助金

第3次対がん総合戦略事業

浸潤・転移等、がんの重要な臨床的特性の病理・病態学的  
分子基盤の解析とそれに基づく診断・治療法の開発に資する研究

平成23年度 総括研究報告書

主任研究者 落合 淳志

平成24（2012）年5月

## 目 次

I	総括研究報告書	1
	浸潤・転移等、がんの重要な臨床的特性の病理・病態学的	3
	分子基盤の解析とそれに基づく診断・治療法の開発に資する研究	
	落合 淳志	
II	分担研究報告書	7
1.	MMP とADAMによるがん組織内微小環境因子代謝を	9
	介したがん細胞の増殖・浸潤・転移	
	岡田 保典	
2.	病理材料・in vivo モデルを用いたがんの浸潤転移	13
	機構解明	
	坂元 亨宇	
3.	がんの発生と進展における TGF- $\beta$ 関連分子の作用	17
	加藤 光保	
4.	新規ミトコンドリア品質管理機構とヒトがん	19
	における研究	
	荒川 博文	
5.	がん間質の免疫微小環境に関する研究	22
	平岡 伸介	
6.	グライコームの解析に基づくがんの診断法、治療応答性	26
	・転移再発予測法の開発	
	神奈木 玲児	
III	研究成果の刊行に関する一覧表	31

## I 総括研究報告書

浸潤・転移等、がんの重要な臨床的特性の病理・病態学分子基盤の解析とそれに基づく診断・治療法の開発に資する研究

落合 淳志

## がん病理・病態学的特性の分子基盤の解析とそれに基づく診断・治療法の開発に関する研究

研究代表者 落合 淳志 独立行政法人 国立がん研究センター東病院臨床開発センター  
臨床腫瘍病理部・部長

研究要旨：本研究は、がん病理・病態学的特性をがん細胞と間質細胞を含めたがん組織全体の分子機構として明らかにすることにより、浸潤・転移やがん患者予後に関わる癌生物像に関わるがん細胞と間質細胞の相互作用やがん微小環境を明らかにするものである。また、がん組織において特徴的な、がん細胞と間質細胞の相互作用やがん微小環境を標的とした新しい診断法・治療法を見出すことを目的とするものである。本年度は以下の研究成果を得た。1) 膵臓がんの神経浸潤モデルを用いてがん性疼痛（異痛）には脊髄アストロサイトの活性化が関わっており、アストロサイトの活性阻害ががん性疼痛阻害に働くことを初めて示した。また、アストロサイトの活性化阻害は、食餌量減少を伴わないマウス体重減少を抑制することが示され、がん性悪液質の新しい治療法開発の可能性が示された。2) エストロゲン依存性乳癌の増殖には、エストロゲンにより誘発された活性酸素種（ROS）の増加が重要な役割を果たしていることを示した。3) 血管周囲外膜より培養した間質線維芽細胞が、ヒト肺腺癌細胞の免疫不全マウスにおけるがん生着・生存能に関わる分子機構を明らかにした。4) 神経内分泌細胞の増殖にはチロシン脱リン酸化酵素PTPRZ1およびそのリガンドが腫瘍因子として重要な役割を果たしていることを示した。国立がん研究センター東病院肝胆膵内科との共同研究により5) 神経浸潤モデルで見出された膵がん患者のIL-6のシグナルを阻害する抗IL-6受容体抗体治療の第Ⅱ相臨床試験を膵がん患者に対して行った。また、内視鏡科との共同研究により6) 新しい光技術であるOptical coherent tomography（OCT）技術を用いて病理標本の形態を3次元的に観察する病理標本評価システムの開発を開始した。

### A. 研究目的

がんの生物像はがん細胞の遺伝子変化の蓄積に規定されるのではなく、がん細胞とがん組織を構築する間質線維芽細胞とが創り出すがん微小環境により大きく影響を受ける。特にがん組織に特徴的な病理形態・病態はがんの悪性度と強い相関を示し、これら病理・病態学的変化はがんの生物像を規定する分子基盤に関わっていることが強く推察される。今年度はこれまで作製された動物モデルを基にした診断・治療法の開発を行い、国立がん研究センター東病院肝胆膵内科、内視鏡科および関連企業と共同し、第Ⅰ相および第Ⅱ相臨床研究への応用

を試みている。1) 膵臓がんの神経浸潤モデルを用いてがん性疼痛（異痛）には脊髄アストロサイトの活性化が関わっており、アストロサイトの活性阻害ががん性疼痛阻害に働くことを初めて示した。また、アストロサイトの活性化阻害は、食餌量減少を伴わないマウス体重減少を抑制することが示され、がん性悪液質の新しい治療法開発の可能性が示された。2) エストロゲン依存性乳癌の増殖には、エストロゲンにより誘発された活性酸素種（ROS）の増加が重要な役割を果たしていることを示した。3) 血管周囲外膜より培養した間質線維芽細胞が、ヒト肺腺癌細胞の免疫不全マウスにお

けるがん生着・生存能に関わる分子機構を明らかにした。4) 神経内分泌細胞の増殖にはチロシン脱リン酸化酵素PTPRZ1およびそのリガンドが腫瘍因子として重要な役割を果たしていることを示した。5) 神経浸潤モデルで見出された膵がん患者のIL-6のシグナルを阻害する抗IL-6受容体抗体治療の第Ⅱ相臨床試験を膵がん患者に対して行った。6) 新しい光技術であるOptical coherent tomography (OCT)技術を用いて病理標本の形態を3次元的に観察する病理標本評価システムの開発を開始した。

## B.研究方法

1) 膵臓がんの神経浸潤モデルを用いて、マウスの食餌量と体重変化ならびに疼痛の変化を調べた。また、脊髄の組織における分子発現を網羅的に解析するとともに、アストロサイトの活性化を免疫組織学的に評価した。

2) エストロゲン依存性乳癌の増殖には、エストロゲンにより誘発された活性酸素種(ROS)の増加が重要な役割を果たしていることを示した。

3) 血管周囲外膜より培養した間質線維芽細胞はヒト肺腺癌細胞の免疫不全マウスにおける生着に関わることを示したが、この間質線維芽細胞の産生するポドプラニンの発現を変化させ、ヒト肺腺がん細胞株A549の免疫不全マウスへの腫瘍形成能を確認した。また、試験管内におけるコロニー形成能における間質線維芽細胞の、同時に移植したがん細胞の生着能を検討した。

4) 神経浸潤モデルで見出された膵がん患者のIL-6のシグナルを阻害する抗IL-6受容体抗体治療の第Ⅰ相臨床試験を膵臓がん患者に対して行った。がんの特徴的な病理形態を3次元的に観察するOptical coherent tomography (OCT)技術をもとにした内視鏡システム $\mu$ VOISを構築し、臨床機として第Ⅰ相試験を開始した。

## C.研究結果

1) 膵臓がんの神経浸潤モデルを用いてがん性疼痛(異痛)には脊髄アストロサイトの活性化が関わっていることを、遺伝子発現プロファイルで確認するとともに、実際の組織におけるアストロサイトの活性化を測定したところ、有意に増加していることを示した。また、アストロサイトの活性阻害薬を神経浸潤モデルに投与すると、マウスの異痛が有意に改善されたことより、アストロサイトの活性化阻害はがん性疼痛阻害に働くことを初めて示した。また、アストロサイトの活性化阻害は、食餌量減少を伴わないマウス体重減少を抑制することが示され、がん性悪液質の新しい治療法開発の可能性が示された。

2) エストロゲン依存性乳癌の増殖には、エストロゲンにより誘発された活性酸素種(ROS)の増加が重要な役割を果たしていることを示した。

3) 血管周囲外膜より培養した間質線維芽細胞はヒト肺腺癌細胞の免疫不全マウスにおける生着に関わることを示したが、この血管外膜由来線維芽細胞の発現するポドプラニンを抑制すると、同時に移植したヒト肺腺癌細胞株A549の免疫不全動物への腫瘍形成能が抑制された。また、試験管内コロニー形成能を調べたところ、ポドプラニンを発現する線維芽細胞とともに形成されたコロニー数は、発現抑制線維芽細胞により形成されるコロニー数より低下することを示した。間質線維芽細胞の産生するポドプラニンの働きが、同時に移植したがん細胞の生着能を変化させることを示した。

4) 神経浸潤モデルで見出された膵がん患者のIL-6のシグナルを阻害する抗IL-6受容体抗体治療の第Ⅰ相および第Ⅱ相の試験臨床試験を膵臓がん患者に対して行った。

がんの特徴的な病理形態を3次元的に観察するOptical coherent tomography (OCT)技術をもとにした内視鏡システム $\mu$ VOISを構築し、大腸癌の粘膜筋板の破壊を初めて確認するとともに、富士フィルム株式会社の作製した臨床機として第Ⅰ相試

験を開始した。

#### D. 考察

1) 前年度までの研究により、ヒト膵臓がん神経浸潤モデルは、ヒト膵臓がん患者の病態である悪液質および異痛モデルとして成り立ち、がんの神経浸潤によりがん性疼痛（異痛）の程度は脊髄内のアストロサイトの活性化と相関性を示して来た。今年度は、神経浸潤モデルを用いて脊髄アストロサイトの活性化をプロフェントフィリンにより抑制したところ、マウス異痛が有意に抑制されることが示された。このことは、これまでの動物モデルで用いられてきたような、比較的急性の神経障害モデルではなく、癌細胞の浸潤という慢性的な神経傷害モデルにより明らかになったと考えていると同時に、膵臓がん患者の癌性疼痛および悪液質に関して新しい治療法の可能性を提供するものである。実際のマウス脊髄では、RAGEなどの分子発現が認められており、アルツハイマーなど発症機構との関係なども検討する必要があると考えられた。今後、このモデルを用いて、がん性疼痛の分子機構を明らかにするとともに、新しいがん性疼痛の治療法を開発する予定である。

2) エストロゲン依存性乳癌の増殖には、エストロゲンにより誘発された活性酸素種（ROS）の増加が重要な役割を果たしていることを示した。エストロゲンはこれまでエストロゲン受容体を介して細胞増殖に関わると考えられてきた。したがって、エストロゲン受容体を発現する乳がん症例には抗エストロゲン治療が行なわれている。今回の研究によりエストロゲンは受容体を活性化するだけでなく、ROSの発生を誘導し、同時にROSががん細胞のみならず乳腺上皮の増殖に関わっていることを初めて明らかにした。また、ROSはDNA傷害を引き起こすことが知られており、乳がん発生にエストロゲンの発生するROSが極めて重要な働きをしている可能性が示された。

3) 血管周囲外膜より培養した間質線維芽細胞はヒト肺腺癌細胞の免疫不全マウスに

おける生着に関わることを示したが、この間質線維芽細胞の産生するポドプラニンの発現を変化させ、ヒト肺腺癌細胞株A549の免疫不全マウスへの腫瘍形成能を確認した。ポドプラニン分子の細胞内領域8アミノ酸はERM分子と結合し、Rhoの活性化に関わることが知られているが、今年度初めて、線維芽細胞のポドプラニンによる腫瘍増殖促進機構がRhoの活性化を介していることを明らかにした。

4) 神経浸潤モデルで見出された膵臓がん患者のIL-6のシグナルを阻害する抗IL-6受容体抗体治療の第I、および第II相臨床試験を膵臓がん患者に対して行ったが、第II相試験は途中で中止となった。また、がんの特徴的な病理形態を3次元的に観察するOptical coherent tomography (OCT) 技術をもとにした内視鏡システム $\mu$ VOISを構築し、大腸癌の粘膜筋板の破壊を初めて確認した。

#### E. 結論

今年度の成果により、がん生物像に関わる新しい分子基盤の研究がすすみ、その一部は臨床への応用がすすめられた。今後、その他の分子機構に関してもモデル作製で得た情報を基に治療への応用を展開できると考えられる。

#### F. 健康危険情報

現在のところ、特記すべきものはありません。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

研究成果の刊行に関する一覧表のとおり。

##### 2. 学会発表

落合 淳志「癌微小環境を構成する間質細胞」第100回 日本病理学会総会 2011年

小林 真季、藤井 誠志、落合 淳志「エストロゲンレセプター陽性乳におけるEZH2発現機構の解明」第100回 日本病理学会総会 2011年

小嶋 基寛、石井 源一郎、落合 淳志「漿膜浸潤部の微小環境は大腸がんの増殖、転

移を能動的に促進する」第100回 日本病理学会総会 2011年

桑田 健、落合 淳志「前立腺癌の抗アンドロゲン療法抵抗性獲得におけるアンドロゲン合成酵素発現の役割」第100回 日本病理学会総会 2011年

山内 稚佐子、藤井 誠志、落合 淳志「HER2陽性乳癌における治療効果予測因子の検討」第100回 日本病理学会総会 2011年

石井 源一郎、松村 勇輝、永井 完治、落合 淳志「転移巣形成初期過程における脈間内がん細胞の性状」第100回 日本病理学会総会 2011年

落合 淳志・小嶋 基寛「大腸癌の浸潤・転移に関わるがん微小環境」第70回日本癌学会学術総会 2011年

光永 修一・落合 淳志・鈴木雅美「腓骨がん神経浸潤による神経因性疼痛は脊髄のアストロサイトにより調節される」第70回日本癌学会学術総会 2011年

藤井 誠志・落合 淳志・青木 不学「がん細胞におけるヒストン変異体の意義」第70回日本癌学会学術総会 2011年

青柳 一彦・三梨 桂子・加藤 健・山田 康秀・西村 公男・小松崎 理絵・大幸 宏幸・武藤 学・落合 淳志・大津 敦・吉田 輝彦・佐々木 博己「治療前生検資料の発現プロファイリングにより分類された食道がんの化学放射線療法感受性に関わる2つのサブタイプ」第70回日本癌学会学術総会 2011年

吉川 清・光永 修一・木下 平ら・小西 大・高橋 進一郎・後藤田 直人・加藤 祐一郎・會澤 正樹・落合 淳志「腓頭部がんにおける腫瘍関連マクロファージの臨床的意義に関する検討」

第70回日本癌学会学術総会 2011年

山内 稚佐子・藤井 誠志・落合 淳志「トラスツズマブ治療の効果に関する検討」

国内

特にありません。

#### H.知的財産権の出願・登録状況

特にありません。

特許取得

国際

発明の名称:特異的膜抗原に対する抗体を選択的に認識する抗体含有する癌治療剤

出願番号:0099123205(台湾)

落合淳志、他1名

## II 分担研究報告書

1. MMP と ADAM によるがん組織内微小環境因子代謝を介したがん細胞の増殖・浸潤・転移  
岡田 保典
2. 病理材料・in vivo モデルを用いたがんの浸潤転移機構解明  
坂元 亨宇
3. がんの発生と進展における TGF- $\beta$  関連分子の作用  
加藤 光保
4. 新規ミトコンドリア品質管理機構とヒトがんにおけるその異常に関する研究  
荒川 博文
5. がん間質の免疫微小環境に関する研究  
平岡 伸介
6. グライコームの解析に基づくがんの診断法、治療応答性・転移再発予測法の開発  
神奈木 玲児



## MMP とADAMによるがん組織内微小環境因子代謝を介したがん細胞の増殖・浸潤・転移

（分担）研究者 岡田 保典 慶應義塾大学医学部病理学教室

### 研究要旨

MMP (matrix metalloproteinase) 遺伝子ファミリーは、がん組織内微小環境因子代謝を介してがん細胞の増殖・浸潤・転移に関わると考えられている。本研究では、マウスメラノーマ細胞の肺転移におけるMMP-13の役割を解析する目的で、MMP-13遺伝子欠損 (KO) マウスを用いて、B16BL6マウスメラノーマ細胞の肺転移を解析した。その結果、肺転移はMMP-13 KOマウスではむしろ亢進し、肺内血管内皮細胞で発現誘導されたMMP-13がendostatinを産生し、endostatinがメラノーマ細胞の血管内から血管外への遊出を抑制することにより肺転移抑制に至ることを明らかにした。また、腎細胞がんにおいてはSnailがhigh-gradeがん細胞で高発現しており、Snailの高発現はE-cadherin発現の抑制と腎細胞がんの悪性度と関連していた。さらに、Snailの発現抑制によりMMP-2とMMP-9発現が抑制され、浸潤能は低下した。これらの結果から、SnailはE-cadherin発現の抑制とMMP発現の亢進によって腎細胞がんの悪性化にかかわっていることが示された。

### A. 研究目的

MMP (matrix metalloproteinase) はがん組織内微小環境因子代謝を介してがん細胞の増殖・浸潤・転移に関わることはよく知られている。しかし、これまでのがん細胞の増殖・浸潤・転移における MMP に関する研究は、がん細胞が発現する MMP 分子の作用に関する研究が主体を占めており、がん組織間質細胞や血管内皮細胞などに由来する MMP 分子の転移での役割解析研究は少ない。肺は肝臓と並んで転移性腫瘍が高頻度に生じる臓器であるが、肺組織の組織内微小環境が肺転移に及ぼす影響についての詳細な研究はない。近年、がん細胞の浸潤・転移における上皮-間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition; EMT) の役割が注目されているが、EMT と MMP 発現との関連についての情報は少ない。腎細胞がんは根治的外科治療が行われても20-30%の症例で術後転移が生じることが治療を困難にする要因となっている。腎細胞がんでは、MMP-2 と MMP-9 の発現亢進が病期と

相関するとされており、Snail は腎がん細胞の EMT を起こすことが知られている。しかし、in vivo における Snail と腎がん細胞の EMT に関する解析報告はこれまで認められない。

本研究課題では、MMP-13 遺伝子欠損 (KO) マウスを用いてメラノーマ細胞の肺転移における MMP-13 の作用について検討するとともに、ヒト腎がんにおける Snail による EMT とそれに伴って出現する MMP の役割について解析した。

### B. 研究方法

・MMP-13 KOマウスでの肺転移モデルの作製と転移判定: 我々が開発したMMP-13 KOマウスと野生型マウスの尾静脈内へ $5 \times 10^4$ 個のB16BL6マウスメラノーマ細胞を注入し、肺転移を注入後1日から3週間まで経時的に肺表面での転移結節数と肺最大割面パラフィン切片上での転移巣数を計測した。

また、Venus-luciferaseキメラ遺伝子をレンチウイルスベクターで恒常的に発現したB16BL6細胞を作製し、尾静脈内注入し、肺転移をIVIS-100カメラシステムを用いてバイオイメーキング法で定量した。

・ マウス肺組織でのMMP-13、SDF-1 $\alpha$ 、CXCR4、endostatin解析: B16BL6メラノーマ細胞を尾静脈内注入前後に肺組織を摘出し、total RNAとタンパク質を抽出し、MMP-13、SDF-1 $\alpha$ 、CXCR4遺伝子発現をRT-PCRあるいは定量PCRで測定し、MMP-13とendostatinのタンパク質発現についてはimmunoblotting法により検討した。これらの発現レベルは $\beta$ -actinを対照として用い、定量化した。また、肺組織でのMMP-13発現細胞を免疫組織学的に同定し、肺組織と血中でのSDF-1 $\alpha$ 濃度をELISA法で測定した。

・ B16BL6メラノーマ細胞におけるendostatinの作用解析: B16BL6メラノーマ細胞を培養し、scratch wound法による遊走実験、Matrigel浸潤アッセイ、Matrigel上ヒト臍帯静脈血管内皮細胞培養による内皮細胞間浸潤アッセイを行い、これらに対するendostatinの抑制効果を検討した。さらに、MMP-13 KOマウスの尾静脈内へVenus-luciferase発現メラノーマ細胞を注入し、注入後1-4日間にわたってendostatin (2 mg/kg/day) を合計4回腹腔内投与し、2週後にバイオイメーキング法で肺転移抑制効果を検討した。

・ ヒト腎がん組織でのSnail、Slug、E-cadherin発現検討: 腎細胞がん30例、非腫瘍性腎組織7例については凍結切片からRNAを抽出し、Snail、Slug、E-cadherin発現を定量PCRによって測定した。また、腎細胞がん97例（淡明細胞がん83例、乳頭状腎細胞がん10例、嫌色素性腎細胞がん4例）および転移性腎がん（すべて淡明細胞がん）7例におけるSnail、Slug、E-cadherin、MMP-2、MMP-9発現を免疫組織学的に調べた。Snailは核における発現の陽性率、E-cadherinは細胞表面における陽性率を定量的に評価した。

・ 腎がん細胞株での解析: 腎細胞がん由来細胞株786-OとACHNを培養実験に用い、Snail発現を抑制するために2種のsiRNAをトランスフェクトした。細胞株におけるSnail、Slug、E-cadherin、MMP発現は定量PCRによって測定した。また、Matrigel浸潤アッセイを用いて浸潤能を測定した。

・ 倫理面への配慮: 組み換えDNA分子の生細胞への導入実験は、遺伝子組み換え実験に該当し、実験に当たっては法令を遵守し、遺伝子組み換え実験安全委員会の承認を得て行い、安全対策に十分な注意を払って行った。また、マウスを用いた動物実験は、動物実験委員会の承認を得て、動物実験等の実施に関する基本指針に従って動物愛護上の配慮を行って実施した。ヒトがん患者の組織を用いた解析にあたっては、患者本人のインフォームドコンセントを得た上で用い、慶應義塾大学倫理委員会の承認のもと、厚生労働省の倫理指針を遵守して行った。

## C. 研究結果

1. MMP-13 KOマウスにおけるB16BL6メラノーマ細胞の肺転移: マウスメラノーマ細胞のMMP-13 KOマウスおよび野生型マウス尾静脈内注入3週後における肺転移を肺表面における腫瘍結節数と組織切片での転移巣数を計測することで検討した。その結果、肺転移はMMP-13 KOマウスでそれぞれ2.5倍と3.6倍増加していた。また、バイオイメーキング法では、注入2週後の肺転移は5.7倍亢進していた。

2. B16BL6メラノーマ細胞注入後の肺組織でのMMP-13発現: 野生型マウスでは、メラノーマ細胞注入後1日目からMMP-13のmRNAとタンパク質発現が肺組織で誘導され、3週間まで亢進していた。定量PCRでは、注入1日目ではMMP-13 mRNAは無注入肺組織に比べて2.9倍発現亢進しており、MMP-13 KOマウス肺では検出されなかった。免疫組織染色では、MMP-13はメラノ-

マ細胞注入を受けた野生型マウス肺血管内皮細胞で発現が認められた。

3. B16BL6メラノーマ細胞注入後の肺組織でのSDF-1 $\alpha$ とCXCR4のmRNA発現および肺組織と血中でのSDF-1 $\alpha$ タンパク質レベル： SDF-1 $\alpha$ とCXCR4のmRNA発現はB16BL6メラノーマ細胞注入後の野生型マウスとMMP-13 KOマウスで差はみられなかった。また、肺組織および血中でのSDF-1 $\alpha$ タンパク質レベルも野生型マウスとMMP-13 KOマウス間で差は認められなかった。

4. 肺組織でのMMP-13によるendostatin産生とB16BL6メラノーマ細胞のendostatinによる遊走、浸潤、血管内皮細胞間遊走、肺転移抑制：野生型マウスでは、マウスメラノーマ細胞注入後の1日と3日後の肺組織でMMP-13 KOマウス肺組織に比べ有意なendostatin産生亢進を認めた。また、メラノーマ細胞の遊走、Matrigel浸潤、血管内皮細胞間遊走は、endostatinの添加により濃度依存性に阻害され、MMP-13 KOマウスでの肺転移亢進はendostatin腹腔内投与で有意に抑制された。

5. ヒト腎臓明細胞がんでのSnail、Slug、E-cadherin、MMP-2、MMP-9発現と臨床病理学的因子との相関：Snail、MMP-2、MMP-9のタンパク質発現は、腎臓明細胞がんの病期、組織学的悪性度、肉腫様がん細胞と正の相関を示すのに対し、Slug発現は病期とは負の相関を示した。また、これらの免疫組織学的染色程度は、有意な予後不良因子であった。

6. ヒト腎がん細胞株でのSnailによるEMTとMMP発現：腎がん細胞株でsiRNAを用いてSnail発現を抑制すると、E-cadherin発現は有意に上昇するとともに、vimentin、MMP-2、MMP-9の有意な発現抑制がみられ、遊走能とMatrigel浸潤能が有意に抑制された。一方、SlugのsiRNAでの抑制ではこのような所見は認められなかった。

#### D. 考察

MMP 遺伝子ファミリー分子のうちMMP-2、7、9、14などはがん細胞での浸潤・転移を促進することが知られており、MMP-2、7、9 KOマウスでの実験では腫瘍形成や転移が抑制される。一方、MMP-3、7、9、12 KOマウスでは腫瘍細胞の増殖や転移が逆に亢進するとの報告があり、これらのMMP分子は場合によっては転移抑制作用を持つことが最近報告されている。さらに、MMP-8 KOマウスでは発がんが促進され、MMP-8は発がん抑制に働くことが報告されている。MMP-13に関しては、本研究と同様なメラノーマ細胞皮下移植実験で、浸潤・転移促進効果を有することが他の研究グループから発表された。本報告は我々のデータとは矛盾するように見えるが、我々の実験ではメラノーマ細胞の血管内から血管外への遊出能を検出している点で異なっており、MMP-13は皮膚局所では浸潤と血管内侵襲に促進作用を持つのに対し、血管外への遊出にはむしろ抑制的に働き、2重の役割を持つと推定される。

我々の実験結果から、肺血管内皮細胞由来MMP-13は肺組織局所でXVIII型コラーゲンの限定分解によりendostatinを産生し、endostatinがメラノーマ細胞の遊走や血管内皮細胞間浸潤を抑制することで肺転移を抑制していると考えられた。近年の研究で、MMP-9やMMP-12はがん細胞の浸潤・転移抑制作用を有し、本研究データのように血管新生抑制因子(angiostatin、tumstatin、endostatin)の産生が共通して関わっている。

腎がんでは、Snailはhigh-gradeな腎細胞がんにおいて高発現しており、Snail高発現はE-cadherin発現の抑制・腎細胞がんの悪性度と関連していた。また、Snail発現の抑制がMMP-2やMMP-9の抑制および浸潤能の低下につながった。ヒト腎臓明細胞がんでは、SlugではなくSnailの発現が悪性度に相関し、E-cadherinの発現抑制とMMP-2やMMP-9発現亢進により、EMTを介したがん細胞遊走・浸潤を促進していることが示さ

れた。また、腎細胞がんでの MMP-2 と MMP-9 の発現自体が予後因子になり得ることが明らかとなった。

#### E. 結論

MMP-13はメラノーマ細胞が肺血管内へ到達すると血管内皮細胞で発現誘導され、血管壁に存在するXVIII型コラーゲンの切断により血管新生阻害物質であるendostatinを形成し、endostatinがメラノーマ細胞の血管内から血管外への遊出を阻害することで肺転移抑制的に作用することが示された。このデータは、MMP-13の単純な活性阻害では転移抑制にはならないことを示すとともに、endostatinのような血管新生阻害物質を用いたがん細胞の血管外への遊出抑制法の開発が転移抑制治療へつながる可能性を示唆している。また、SnailはE-cadherin発現の抑制とMMP発現の亢進によって腎細胞がんの悪性化に関わっていることが明らかとなり、Snailが腎細胞がんの治療標的になり得る可能性が示された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Fukuda H., Mochizuki S., Abe H., Okano H. J., Hara-Miyauchi C., Okano H., Yamaguchi N., Nakayama M., D'Armiento J. and Okada Y.: Host-derived MMP-13 exhibits a protective role in lung metastasis of melanoma cells by local endostatin production. *Brit J Cancer* 105:1615-1624, 2011.

Mikami S., Katsube K., Oya M., Ishida M., Kosaka T., Mizuno R., Mukai M. and Okada Y.: Expression of Snail and Slug in renal cell carcinoma: E-cadherin repressor Snail is associated with cancer invasion and prognosis. *Lab Invest* 91:1443-1458, 2011.

##### 2. 学会発表

岡田保典：MMP/ADAMとがんの増殖・浸潤・転移。第100回日本病理学会春期総会。ワークショップ。2011年4月28日-30日。(発表4月29日)。横浜。

Yasunori Okada: Host-derived MMP-13 exhibits a protective role in lung metastasis of melanoma cells by local endostatin production. *Gordon Research Conference on Matrix Metalloproteinases*. August 7-12, 2011. Bryant University, Smithfield, RI, USA.

Yasunori Okada: ADAM28 promotes cancer cell proliferation and progression through metabolism of tissue microenvironmental factors. *Korean Society of Matrix Biology Symposium*. November 25, 2011. Daegu, Korea.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 「病理材料・in vivo モデルを用いたがんの浸潤転移機構解明」

分担研究者 坂元 亨宇 慶應義塾大学医学部病理学教室

### 研究要旨

早期肝細胞がん症例のプロテーム解析から、早期がんの段階でも背景肝に比して発現が亢進し、さらに脱分化に伴い高発現を示す分子として Talin-1 を同定した。Talin-1 の高発現は、門脈浸潤、無再発生存と有意に相関した。早期肝細胞がんの新規マーカーCAP2 に関して、ゼブラフィッシュ、肝がん細胞株での発現機能解析に加えて、肝がん切除検体を用いた検討を行い、CAP2 高発現は、腫瘍径、分化度、門脈侵襲、肝内転移と有意に相関することを示した。

坂元亨宇

慶應義塾大学医学部・教授

### A.研究目的

ヒトのがん組織は、多段階発がん過程により、あるいはがん間質相互作用などの多様な細胞間相互作用により、多彩な発育進展様式を示す。そして、各臓器がんの病理学的特性は、臨床的特性と対応することが示されてきている。なかでも癌の浸潤転移は、がんの多様な病態を理解しがんを克服する上で、最も重要な課題である。本研究では、病理組織ならびに in vivo モデルを用い相補的に解析を行うことで、多彩な浸潤転移像を規定する分子基盤を明らかにすることを目的とする。特に浸潤転移における EMT/MET、micropapillary パターンとリンパ節転移、肝細胞がんの肝内転移、膵がんの

神経周囲浸潤などの特徴的な病理像をターゲットとした研究を行う。

### B.研究方法

がんの中でも特に難治のがんで新規診断・治療法の確立が望まれる肺がん・肝がん・膵がん・卵巣がん等を主な対象とする。臓器がんの特徴的な病理像の中でも、特に特徴的な浸潤・転移として、がん浸潤転移における EMT/MET、がんの micropapillary パターン、肝細胞がんの肝内転移、膵がんの神経周囲浸潤・リンパ節転移、浸潤転移と幹細胞性の獲得を主な課題として、その詳細な臨床病理学的解析、背景の分子基盤の解析を行う。

具体的な方法としては、凍結検体を用いた網羅的遺伝子発現解析、病理組織・Tissue マイクロアレイと免疫組織化学、蛍光抗体、

in situ hybridization とを組み合わせた in situ 分子解析、病理画像デジタル化による定量解析を行い、臨床病理像との多次元的な解析を行う。さらには、これらの Tissue Biology の成果を実際の臨床へと展開するための橋渡しとして、病理像を再現する in vivo アッセイ系としてのがん同所移植モデルの確立と応用を行う。

(論理面への配慮)

本研究計画では、がん組織で新たに生じた遺伝子の変化、発現の変化の解析ならびにがん組織の移植による機能解析を目的としており、三省合同指針にあるヒトゲノム・遺伝子解析研究は含まれない。ヒト由来の組織を用いた研究に当たっては、三省合同による「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」及び科学技術会議生命倫理委員会により制定された「ヒトゲノム研究に関する基本原則について」を遵守すると共に、当大学の倫理審査委員会の承認を得て実施する(承認番号 15-57-2, 15-59, 16-34, 16-90)。動物実験に関しては、米国実験動物資源協会の「実験動物の管理と使用に関する指針」ならびに「慶應義塾大学医学部動物実験ガイドライン」を遵守する。

### C. 研究結果

#### 1) 肝細胞がん多段階発がんのプロテオーム解析

肝細胞がんに対する生体肝移植手術 2 症例の摘出全肝から得られた 4 つの早期肝細胞がん結節および 4 つの非がん部肝組織片を使用した。各検体のトリプシンによる加水分解処理後のペプチド混合物に対して、二次元液体クロマトグラフィー (two-dimensional liquid chromatography, 2DLC) - タンデム質量分析 (tandem mass spectrometry, MS/MS) の手法を用いたプロテオーム解析を行い、取得した 2DLC-MS/MS データを基にデータベース検索によるペプチドの同定および肝細胞が

ん・非がん部間の差異の統計学的解析を行った。その結果として、肝細胞がんが発現が上昇している 61 種の蛋白質が同定され、その 61 種の中に細胞骨格蛋白質であるタリン-1 (talin-1) が含まれていた。肝細胞がんにおけるタリン-1 発現上昇というプロテオーム解析の結果を検証するために、106 個の肝細胞がん結節検体の抗タリン-1 抗体による免疫組織化学的検索を行った。がん細胞の細胞質が隣接非がん部肝細胞の細胞質より強く抗タリン-1 抗体で染色される場合をがん細胞におけるタリン-1 発現上昇と定義し、評価したところ、非がん部の肝細胞と比較し早期肝細胞がん有意にタリン-1 の発現が上昇していたこと ( $p=0.003$ ) のみならず、タリン-1 の発現が肝細胞がんの脱分化に伴い漸増していたこと ( $p=0.001$ ) が判明した。低分化型肝細胞がんに関しては、タリン-1 発現上昇を伴うがん細胞の結節内に占める割合が高いだけでなく、抗タリン-1 抗体による細胞質の染まりが非常に強いことが多いのが特徴的であった。タリン-1 発現上昇を伴うがん細胞数の割合が結節内全がん細胞数の 50%以上の群と 50%未満の群とに 106 個の肝細胞がん結節検体を分け、臨床病理学的因子とタリン-1 発現の関係について検討したところ、肝細胞がんの脱分化度は両群間で有意な差があった ( $p=0.004$ )。また、タリン-1 低発現群に比べ、高発現群において門脈浸潤を伴っている率が有意に高いことが判明した ( $p=0.029$ )。追跡が可能であった 72 人の肝細胞がん患者の無病生存期間について分析したところ、タリン-1 発現上昇を伴うがん細胞の割合が全がん細胞中 50%以上の 47 人の患者では、同 50%未満の 25 人の患者に比べ、有意に無病生存期間が短かったことが判明した ( $p=0.039$ )。

#### 2) CAP2 の機能解析悪性化への関与

モデル脊椎動物ゼブラフィッシュ、肝がん培養細胞株を用いた機能解析を行った。また肝がん切除例を用いたCAP2の臨床病理学的意義を検討した。ゼブラフィッシュの心筋・骨格筋にCAP2の発現がみられ、アクチンと共局在を認めた。モルフォリノによるCAP2発現抑制によりショートボディ変異体の増加を認めた。肝がん細胞株において、CAP2はlamellipodiaに局在し、siRNAを用いたCAP2発現抑制により運動性低下とlamellipodia形成の抑制を認めた。肝がん切除検体を用いた免疫組織学的検討によりCAP2高発現は、腫瘍径、分化度、門脈侵襲、肝内転移と有意な相関がみられた。

#### D. 考察

##### 1) 肝細胞がん多段階発がんのプロテオーム解析

肝細胞がんは、他のがん腫同様に多段階の腫瘍進展プロセスにより特徴づけられるが、そのプロセスに関与する分子機構についてはまだ十分な解明がなされていない。本研究は、肝細胞がん進展における蛋白質分子の発現量変化に着目し、臨床検体への最新のプロテオーム解析技術の適用により、腫瘍進展に関与する新規蛋白質マーカーを発見することを目的とした。その結果、肝細胞がん進展に伴いタリン-1の発現が上昇することが明らかにされ、予後予測にも有用である可能性が示唆された。肝移植手術症例の摘出全肝から厳選、採取された早期肝がん結節などの検体に対する最新のプロテオーム解析技術の適用は、肝発がん、悪性化に関与する未知の分子を発見するための有用な手段となり得ることが、本研究により示された。

##### 2) CAP2の機能解析、悪性化への関与

我々はCyclase-associated protein 2 (CAP2)が肝細胞がんを高発現することをこれまでに報告してきた。CAPは出芽酵母におけるRas調節性アデニル酸シクラーゼ活性に重要な分子として見出され、哺乳類では2つのホ

モログ(CAP1/2)が知られているが、高等脊椎動物や哺乳類におけるCAP2の機能については殆ど知られていない。そこで、脊椎動物の発生ならびに肝細胞がんにおけるCAP2の機能を検討した。CAP2は脊椎動物における骨格筋発生に関与するとともに、がん細胞の運動性と関わり肝細胞がんの悪性化に重要であることが示唆された。

#### E. 結論

多様ながんの浸潤転移機構を解明するために、病理組織ならびにin vivoモデルを用い相補的に解析を行うことで、浸潤転移像を規定する分子基盤を明らかにすることを目的とする。本年度は特に肝細胞がんのプロテオーム解析、さらにCAP2の機能解析、悪性化への関与につき検討し、新たな知見が得られた。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kanamori H, Kawakami T, Effendi K, Yamazaki K, Mori T, Ebinuma H, Masugi Y, Du W, Nagasaka K, Ogiwara A, Kyono Y, Tanabe M, Saito H, Hibi T, Sakamoto M. Identification by Differential Tissue Proteome Analysis of Talin-1 as a Novel Molecular Marker of Progression of Hepatocellular Carcinoma. *Oncology* 80: 406-415, 2011
2. Tsuchiya K, Komuta M, Yasui Y, Tamaki N, Hosokawa T, Ueda K, Kuzuya T, Itakura J, Nakanishi H, Takahashi Y, Kurosaki M, Asahina Y, Enomoto N, Sakamoto M, Izumi N. Expression of keratin19 is related to high recurrence of hepatocellular carcinoma after

radiofrequency ablation. *Oncology* 80:  
278-288, 2011

3. Yamazaki K, Masugi Y, Sakamoto M.  
Molecular pathogenesis of hepatocellular  
carcinoma: altering transforming growth  
factor- $\beta$  signaling in hepatocarcinogenesis.  
*Dig Dis* 29(3):284-8. Review, 2011

4. Yokoo H, Yasuda J, Nakanishi K, Chuma  
M, Kamiyama T, Todo S, Hirohashi S,  
Sakamoto M. Clinicopathological  
significance of nuclear factor- $\kappa$ B  
activation in hepatocellular carcinoma.  
*Hepatol Res* 41(3):240-9, 2011

2. 学会発表  
特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
特になし



分担研究報告書

がんの発生と進展における TGF- $\beta$ 関連分子の作用

分担研究者 加藤 光保 筑波大学医学医療系 教授

研究要旨

がんの発生と進展に関わる TGF- $\beta$ 関連分子の機能を明らかにし、診断や新規治療法の開発に応用することを目的とした。多くの癌で発現が亢進している TMEPAI、扁平上皮がんが発現が亢進している THG-1、新たに乳がん細胞株で発現が亢進していることを見いだした MafK が、がんの発生に及ぼす作用を培養実験と免疫不全マウスへの移植実験で検討するとともに、その作用機序を分子レベルで解析した。

A. 研究目的

TGF- $\beta$ 関連分子として注目した TMEPAI、THG-1、MafK の発がんにおける作用を明らかにし、新たな発がん促進機序の解明に基づき、新規診断方法と分子標的治療を開発することを研究目的とした。

B. 研究方法

種々のがん細胞でのノックダウン実験により、TMEPAI、THG-1、MafK の腫瘍形成における作用を培養実験ならびに動物実験で検討するとともに、その作用機序を分子生物学ならびに生化学的方法によって解析した。

（倫理面での配慮）

組替え DNA 実験と動物実験は、法律に則り、筑波大学に実験計画を提出し、許可を受けて実施した。

C. 研究結果

肺がん細胞、頭頸部がん細胞において TMEPAI をノックダウンすると腫瘍形成能が低下することを示した。また、食道、子宮頸部、肺などの扁平上皮がんでは THG-1 の発現が亢進していることを示すと同時に、TMEPAI と結合する分子を免疫沈降と TOF-MASS 法の組み合わせにより同定し、

THG-1 の作用標的分子の同定を行った。MafK については、乳がんでは過剰発現していることを示すと同時に、MafK の発現亢進によって EMT が誘導され、腫瘍形成と浸潤能を亢進することを示すと同時に、MafK の発現亢進によって、発現レベルが変化する遺伝子群の中から、腫瘍形成に重要な標的遺伝子の同定を行った。

D. 考察

TGF- $\beta$ 関連遺伝子の解析から、腫瘍形成に大きく作用する遺伝子として、TMEPAI、THG-1、MafK を同定し、その作用機序の解析を進めた。本研究の過程で、これらの分子に対する抗体作製やノックアウトマウスの作製も行っており、今後のさらなる研究推進のための有益な資源となると期待される。

E. 結論

発癌に関わる新規 TGF- $\beta$ 関連分子として、TMEPAI、THG-1、MafK を同定し、作用機序を解析することで新しい診断法・治療法の開発に繋がる基礎研究成果が得られた。

G. 研究発表

1. 論文発表

Itoh F, *et al.* Smad2/Smad3 in endothelium is indispensable for vascular stability via S1PR1 and N-cadherin expressions. **Blood** *in press*.

Yang W, *et al.* Interference of E2-2-mediated effect in endothelial cells by FAM96B through its limited expression of E2-2. **Cancer Sci.** 102: 1808-1814, 2011.

Taguchi S, *et al.* Overexpression of the transcription

factor Yin-Yang-1 suppresses differentiation of HaCaT

cells in three-dimensional cell culture.

**J Invest Dermatol.** 131: 37-45, 2011.

## 2. 学会発表

Mitsuyasu Kato. TMEPAI in Cancer Cell Biology. The 1<sup>st</sup> International Symposium by JSPS Core-to-Core Program “Cooperative International Framework

in TGF-β□Family Signaling” 1月23日～24日、東京

加藤光保 ワークショップ3（基調講演）  
大腸腺腫の発生における Wnt シグナルの機能の3次元定量組織学による解析. 第100回日本病理学会総会 4月28日-30日、横浜

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

申請準備中

分担研究報告書

新規ミトコンドリア品質管理機構とヒトがんにおけるその異常に関する研究

分担研究者 荒川 博文 国立がん研究センター研究所腫瘍生物学分野長

研究要旨

我々は p53 及びその標的遺伝子 MIEAP によって制御される全く新しいミトコンドリア品質管理機構を見いだした。ヒトがん細胞においては、p53 の変異や MIEAP のメチル化で、この機能が異常となっており、結果的に不良なミトコンドリアの蓄積を招いている。正常細胞とがん細胞の違いを、がん細胞における異常ミトコンドリアの蓄積ととらえ、その発がんやがん進展における役割の解明と、異常ミトコンドリアを標的とした新しいがん診断法や治療法の開発の基盤を作ることをこの研究の目的とする。ヒトがんにおけるがん細胞における MIEAP やミトコンドリアの状況を調べ、異常ミトコンドリアから産生される活性酸素による酸化ストレスの役割を、がん細胞及びがん間質細胞の両者において明らかとする。移植腫瘍モデルを用いた解析から、*in vivo* におけるその意義を解明する。この研究の成果から、がんに特徴的な代謝異常のメカニズム解明と、がん細胞特異的な異常ミトコンドリアを標的とした新しいがん診断法や治療法の開発が期待される。

A. 研究目的

我々は p53 及びその標的遺伝子 MIEAP によって制御される全く新しいミトコンドリア品質管理(MQC)機構を見いだした。ある種のヒトがん細胞においては、MIEAP はメチル化で不活性化されていることを見いだした。従って、多くのがん細胞において、p53 の変異や MIEAP のメチル化で、ミトコンドリアの MQC 機構が異常となり、結果的に不良なミトコンドリアの蓄積を招いている可能性がある。正常細胞とがん細胞の違いを、がん細胞における異常ミトコンドリアの蓄積ととらえ、その発がんやがん進展における役割の解明と、異常ミトコンドリアを標的とした新しいがん診断法や治療法開発の基盤を作ることをこの研究の目的とする。

B. 研究方法

国立がん研究センター研究所の尾野らとの共同研究から開発した免疫沈降物に対する網羅的プロテオーム解析法である IP-2DICAL 法を用いて、MIEAP 結合タンパク

C. 研究目的

我々は p53 及びその標的遺伝子 MIEAP によって制御される全く新しいミトコンドリア品質管理(MQC)機構を見いだした。ある種のヒトがん細胞においては、MIEAP

はメチル化で不活性化されていることを見いだした。従って、多くのがん細胞において、p53 の変異や MIEAP のメチル化で、ミトコンドリアの MQC 機構が異常となり、結果的に不良なミトコンドリアの蓄積を招いている可能性がある。正常細胞とがん細胞の違いを、がん細胞における異常ミトコンドリアの蓄積ととらえ、その発がんやがん進展における役割の解明と、異常ミトコンドリアを標的とした新しいがん診断法や治療法開発の基盤を作ることをこの研究の目的とする。

D. 研究方法

国立がん研究センター研究所の尾野らとの共同研究から開発した免疫沈降物に対する網羅的プロテオーム解析法である IP-2DICAL 法を用いて、MIEAP 結合タンパク質の同定と機能解析を進める。候補タンパク質に対して、内在性 MIEAP タンパク質との結合確認や、機能喪失及び機能亢進実験を行うことで、機能を明らかとして、MIEAP による MQC 機構のメカニズムの詳細を明らかとする。

MIEAP 及び関連タンパク質である BNIP3 と NIX のメチル化異常と p53 の変異について、50 例程度の大腸がん組織検体を用いて解析を行う。臨床検体で認められた異常の意義について、大腸がん細胞

株を用いて、それらの異常による Mieap による MQC 機構への影響を調べる。

### C. 研究結果

(1) Mieap 結合タンパク質の探索を行い、ミトコンドリア外膜タンパク質である BNIP3 を同定した。さらに NIX 及び BNIP3 が Mieap によるミトコンドリア品質管理 (MQC) 機構に必須の役割を果たすこと、3 者のミトコンドリア外膜における会合によって、ミトコンドリア二重膜に Pore が形成される事を証明した。

(2) 大腸がん組織において、Mieap, BNIP3, NIX のメチル化異常、p53 変異の有無を調べたところ、大腸がん症例の約 80% においてこれらのいずれかに異常が生じていることが明らかとなった。

(3) 低酸素インキュベーターによる培養細胞株の実験で、Mieap による MQC 機構は低酸素ストレスで活性化されることが明らかとなった。

(4) 細胞株を用いた実験で、p53/Mieap/BNIP のいずれかに異常を生じた大腸がんは、低酸素環境下において Mieap による MQC 機構が活性化されず、不良なミトコンドリアが蓄積し、そこから高いレベルの活性酸素種 (ROS) が産生された。

(5) この Mieap による MQC 機構が不活性化された大腸がんにおいては、低酸素環境下においてがん細胞の遊走能と浸潤能が亢進した。

(6) この効果は ROS 消去剤である Ebselen で完全に抑制された。

### D. 考察

本年度の研究成果から、Bcl-2 ファミリータンパク質で BH3 ドメインを有するミトコンドリア外膜タンパク質の BNIP3 と NIX (BNIP3L) が、Mieap 結合タンパク質として同定された。BNIP3 と NIX は、Mieap による MQC 機構の中で、ミトコンドリア内ヘリソソーム様のオルガネラを誘導して酸化修飾タンパク質を除去する働き (MALM: Mieap-induced accumulation of lysosome-like organelles within mitochondria と命名) に極めて重要な働きをしていることが明らかとなった。

BNIP3 や NIX は元々、低酸素ストレスに応答した細胞死誘導に重要であるとの報

告が成されていた。しかし、我々の実験からは、細胞死誘導には全く関係していなかった。MALM が低酸素ストレスで誘導される事実は、BNIP3 や NIX が低酸素ストレス応答遺伝子として HIF-1 の標的遺伝子であった事実とも矛盾しない。また、これら低酸素応答性遺伝子は、細胞死のためではなく、低酸素環境下における Mieap による MQC 機構活性化のために

重要な役割を果たしている可能性が示された。また、Mieap, BNIP3, NIX の 3 者が会合したときのみ、ミトコンドリア二重膜に穴 (通り道) が開口する可能性が示された。この事実は、MALM のメカニズムを考える上で大変重要な手がかりになる可能性がある。

本年度解析を行った 57 例の大腸がん症例においては、約 80% の症例において、p53 の変異または、Mieap あるいは BNIP3 のプロモーター領域のメチル化が生じており、臨床がん組織においては、かなり高頻度に Mieap による MQC 機構が不活性化されている可能性が示された。一方で、大腸がん細胞株を用いた解析から、p53/Mieap/BNIP3 のいずれかが不活性化された細胞株では、低酸素ストレスに応答した Mieap による MQC 機構の活性化が抑制されており、これらの細胞株では低酸素環境下で不良なミトコンドリアが蓄積し、そこから高いレベルの ROS が産生されていた。この不良なミトコンドリアから産生される ROS は、がん細胞の遊走能と浸潤能を劇的に活性化させたことより、ヒトがん組織における Mieap による MQC 機構の不活性化は、がんの微小環境における低酸素状態において、不良なミトコンドリアの蓄積とそこから発生する高いレベルの ROS を介して、がんの増殖・浸潤・転移に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

### E. 結論

Mieap によって制御される MQC 機構は、上流で p53 が、下流で BNIP3 が極めて重要な活性化分子やメディエーターとして機能しており、p53/Mieap/BNIP3 経路はヒト大腸がん組織で高頻度に不活性化されている。また、この MQC 機構は、低酸素ストレスで活性化することが明らかとなり、ヒトがんにおけるその破綻は、がんの微小環境におけるがん細胞への不良なミトコン