

移等の臨床特性のいずれに深く関わるかを明確とし、新規治療標的経路・分子として臨床開発へ導出を目指す。すでに、低酸素環境下において、本機能の不活性化で蓄積した不良なミトコンドリアから産生される活性酸素種が、がんの遊走能や浸潤能を顕著に上昇させる事実や、予備的データにおいて、大腸がんモデルマウスにおける消化管腫瘍の発生・進展を加速する可能性が示されており、本機能の不活性化から生じるミトコンドリア由来活性酸素種を標的とした治療薬の開発を目指し、活性酸素種の測定系の開発及びミトコンドリア由来活性酸素種を抑制する化合物のスクリーニング系の開発を開始する。

本細胞レベルの解析においては、メカニズムの解析から、がんの本態解明を進め、さらに臨床開発へ導出しうる新しいシーズの同定を最終目標とする。

B. 研究方法

【研究開発項目】

(1) MALM 及び MIV の誘導メカニズムの解明

(2) Mieap 制御性 MQC 機構の異常によって活性化されるシグナル経路の解明

(3) Mieap 制御性 MQC 機構の破綻によって活性化するシグナル・分子・ミトコンドリア活性酸素種を標的とした治療薬の開発

【研究開発方法】

(1) MALM 及び MIV の誘導メカニズムの解明

・ IP-2DICAL を用いた Mieap 結合蛋白質の同定

・ MALM 及び MIV 発生過程の電子顕微鏡解析

・ MALM 及び MIV 発生過程のライブイメージング

(2) Mieap 制御性 MQC 機構の異常によって活性化されるシグナル経路の解明

・ Mieap ノックダウン細胞株や Mieap ノックアウト MEF を用いたマイクロアレイ解析

・ Mieap ノックダウン細胞株や Mieap ノックアウト MEF を用いたキナーゼリン酸化解析

(3) Mieap 制御性 MQC 機構の破綻によって活性化するシグナル・分子・ミトコンドリア活性酸素種を標的とした治療薬の開発

・ ミトコンドリア由来活性酸素種に対する抑制物質のスクリーニング系の構築

C. 研究結果

(1) MALM 及び MIV の誘導メカニズムの解明

1. Mieap 結合蛋白質として UVRAG 蛋白質を見いだした。Mieap と UVRAG の結合は、MIV の形成に極めて重要である可能性が示唆された。

2. MEF 細胞を用いた実験から、低酸素ストレスが MALM を誘導すること、MALM は従来のオートファジーとは全く異なる現象であることを確認した。

3. MALM 及び MIV のライブイメージングを行い、それらの形成過程を解析した。これまでの解析結果と矛盾しないことを確認した。

(2) Mieap 制御性 MQC 機構の異常によって活性化されるシグナル経路の解明

1. 大腸がん細胞株を用いて、Mieap 制御性 MQC 機構破綻の意義を調べたところ、低酸素状態における、がん細胞に蓄積した不良なミトコンドリアから産生される ROS が、がん細胞の遊走能・浸潤能を顕著に上昇させることが明らかとなった (論文投稿準備中)。

2. MEF 細胞を用いて、低酸素状態における遺伝子変化の解析を試みている。

3. 大腸がん細胞株を用いて、Mieap 制御性 MQC 機構破綻によって活性化されるリン酸化酵素の解析を試みている。

(3) Mieap 制御性 MQC 機構の破綻によって活性化するシグナル・分子・ミトコンドリア活性酸素種を標的とした治療薬の開発

1. ミトコンドリア由来活性酸素種に対する抑制物質のスクリーニング系として、HIF1 レポーターアッセイの適合性の確認を試みている。

D. 考察

MIV 形成に関わる新規 Mieap 結合蛋白質 UVRAG の発見や、MEF 細胞を用いた低酸素ストレスに関する実験結果、また、ライブイメージングによる MALM 及び MIV の形成過程の可視化によって、本機能は、人工的な試験管内の実験操作によるアーチファクトではなく、極めて特異的な現象であり、かつ生理的なストレスに対する生命現象であることが確認できたと考えられる。

また、大腸がん細胞株を用いた実験から、低酸素状態において Mieap 制御性 MQC 機構の破綻は、がん細胞への不良なミトコンドリアの蓄積とそこから産生される ROS によって、がん細胞の遊走能及び浸潤能が顕著に促進されることが明らかとなった。このことは、大腸がん患者の臨床がん組織における解析と大腸がんモデルマウスにおける解析と合わせて、Mieap 制御性 MQC 機構の破綻が、がんの臨床的特性に極めて重要であることの、一つのメカニズムを明らかにできたと考えられる。現在は、この低酸素状態で、不良なミトコンドリア由来 ROS によって活性化されるリン酸化酵素の探索を進めている。

また、これらの知見を踏まえ、がん細胞に蓄積した不良なミトコンドリアあるいはそこから産生される ROS を標的とした新規治療薬の開発が可能と考えており、そのスクリーニング系の確立を試み

ている。

E. 結論

Mieap 制御性 MQC 機構の破綻は、がん細胞における不良なミトコンドリアの集積と、そこから産生される ROS の増加を招き、低酸素環境下において、がん細胞の浸潤・転移を加速する可能性がある。

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

該当無し

2. 学会発表

1. Yasuyuki Nakamura, Hiroki Kamino, Yuri Saito, Noriaki Kitamura, Hitoya Sano, and Hirofumi Arakawa. Specific role of Mieap α in Mieap-induced vacuole generation through an interaction with UVRAG. AACR Annual Meeting 2014, April 6, San Diego, USA.

2. Noriaki Kitamura, Yasuyuki Nakamura, and Hirofumi Arakawa. Mieap-regulated mitochondrial quality control and its alteration in cancer. The 73rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, September 25, 2014, Yokohama.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

様式第 19

学 会 等 発 表 実 績

委託業務題目

「がんにおけるミトコンドリア品質管理機構の異常とその臨床的特性における意義に関する研究」

機関名 独立行政法人国立がん研究センター

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
Frequent inactivation of the Mieap-regulated mitochondrial quality control in pancreatic and breast cancer. ポスター	Hiroki Kamino, Yasuyuki Nakamura, Hitoya Sano, Ryuya Murai, Yuri Saito, Manabu Futamura, Kazuhiro Yoshida, Nobuyuki Hiraoka, Yae Kanai, Ryoji Kushima, Toyomasa Katagiri, and Hirofumi Arakawa.	AACR Annual Meeting 2014, San Diego, USA.	April 6, 2014	国外
Specific role of Mieap α in Mieap-induced vacuole generation through an interaction with UVRAG. ポスター	Yasuyuki Nakamura, Hiroki Kamino, Yuri Saito, Noriaki Kitamura, Hitoya Sano, and Hirofumi Arakawa.	AACR Annual Meeting 2014, San Diego, USA.	April 6, 2014	国外
p53-dependent and independent functions of Mieap. ポスター	Yasuyuki Nakamura, Hiroki Kamino, Yuri Saito, Hitoya Sano, and Hirofumi Arakawa.	AACR Annual Meeting 2014, San Diego, USA.	April 7, 2014	国外
Mitochondrial quality control and cancer. 口演	Hirofumi Arakawa.	2104 Soul National University Cancer Research Institute Cancer Symposium, Mokpo, Korea.	April 17, 2014	国外
Mieap-regulated mitochondrial quality control and its alteration in cancer. 口演	Noriaki Kitamura, Yasuyuki Nakamura, and Hirofumi Arakawa.	The 73 rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama.	September 25, 2014	国内
Potential role of the Mieap-regulated mitochondrial quality control in mouse intestinal tumorigenesis. 口演	Yasuyuki Nakamura, Noriaki Kitamura, Hiroki Kamino, Hitoya Sano, and Hirofumi Arakawa.	The 73 rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama.	September 26, 2014	国内

消化管腫瘍の発生及び進展におけるMieap制御性ミトコンドリア品質管理機構の役割について。 口演	中村康之、喜多村憲章、安田さや香、諸田沙織、常木雅之、中西るり、荒川博文	第14回日本ミトコンドリア学会年会 福岡	平成26年12月3日	国内
消化管腫瘍の発生及び進展におけるMieap制御性ミトコンドリア品質管理機構の役割について 口演	中村康之、荒川博文	第8回オートファジー研究会 札幌	平成26年11月10日	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所 （学会誌・雑誌等名）	発表した時期	国内・外の別
p53誘導性蛋白質Mieapによる新規ミトコンドリア品質管理機構 - がん抑制遺伝子p53の新しい機能	荒川博文	医学のあゆみ 250, 505-510, 2014	2014年8月	国内

（注1）発表者氏名は、連名による発表の場合には、筆頭者を先頭にして全員を記載すること。

（注2）本様式はexcel形式にて作成し、甲が求める場合は別途電子データを納入すること。

IV. 研究成果の刊行物・別刷

週刊 「医学のあゆみ」 250 巻 7 号

医歯薬出版株式会社 2014 年 8 月 16 日発行



p53誘導性蛋白質Mieapによる 新規ミトコンドリア品質管理機構

表 題

著 者 名

藤原 千代子 *Chikako Fujiwara*
inducible protein, C-terminus mitochondrial quality



藤原 千代子
Chikako Fujiwara
Mitsubishi Institute of Health Sciences
Mitsubishi Institute of Health Sciences
Mitsubishi Institute of Health Sciences

ミトコンドリアは細胞のエネルギー産生に不可欠な細胞小器官であり、ミトコンドリアの機能障害は、がん、神経変性疾患、免疫不全、老化など多くの疾患と関連している。p53は細胞増殖の抑制、DNA損傷の修復、アポトーシスの誘導など、細胞の運命を決定する重要な転写因子である。Mieapはp53の誘導により発現する新規なミトコンドリア品質管理機構の主要な構成要素であり、ミトコンドリアの品質を維持し、細胞の生存と機能に重要な役割を果たしている。本研究では、Mieapがミトコンドリアの品質管理にどのように関与しているかを明らかにし、その分子メカニズムを解析した。Mieapはミトコンドリアの外膜に結合し、ミトコンドリアの品質を監視し、品質低下したミトコンドリアをアポトーシスを誘導して除去する。Mieapはまた、ミトコンドリアのDNA損傷を修復し、ミトコンドリアの機能を維持する役割を果たしている。本研究の結果は、Mieapがミトコンドリアの品質管理に重要な役割を果たしていることを示し、がん、神経変性疾患、免疫不全、老化などの疾患の治療に新たなターゲットを提供する可能性がある。

Key words: ミトコンドリア, がん, p53, 活性酸素種, 細胞死

がん研究の進展に伴って、がんの予防と治療に重要な役割を果たしている。がんは細胞の増殖と生存の調節に異常が生じることで発症する。がん細胞は、正常な細胞とは異なり、無限に増殖し、転移する能力を有している。がんの発生は、遺伝子変異、環境要因、生活習慣などによって引き起こされる。がんの予防と治療には、がんの発生メカニズムを理解し、がん細胞の増殖と生存を抑制することが重要である。本研究では、がんの発生メカニズムを明らかにし、がん細胞の増殖と生存を抑制するための新たなターゲットを提供する。本研究の結果は、がんの発生メカニズムを明らかにし、がん細胞の増殖と生存を抑制するための新たなターゲットを提供する可能性がある。

週刊 医学のあゆみ 別刷

第 卷・第 号： 年 月 日号

p53誘導性蛋白質Mieapによる 新規ミトコンドリア品質管理機構

——がん抑制遺伝子p53の新しい機能

Mieap, a p53-inducible protein, controls mitochondrial quality



荒川 博文

Hirofumi ARAKAWA

国立がん研究センター 研究所 腫瘍生物学分野

◎ p53 標的遺伝子として同定された Mieap 遺伝子のコードする蛋白質は、ミトコンドリア品質管理にきわめて重要な役割を果たしている。そのメカニズムはリソソーム蛋白質を介する現象と考えられるが、従来のオートファジーとは異なっている。Mieap は活性酸素種を高いレベルで産生する不良なミトコンドリアに対し、リソソーム蛋白質のミトコンドリア内への集積を誘導して酸化修飾蛋白質を除去することによって修復するか (MALM)、あるいは液胞様の構造物を形成し、きわめて品質の劣化したミトコンドリアを直接この構造物内へ取り込んで分解して排除するか (MIV) の、いずれかの機能によってミトコンドリアの品質を健常に維持する。この Mieap によるミトコンドリアの品質管理機構はヒトがんにおいて高頻度に不活性化されており、結果として生じるがん細胞への不良なミトコンドリアの蓄積ががんの発生・浸潤・転移に大きな意義をもつ可能性が高い。



ミトコンドリア, がん, p53, 活性酸素種, 低酸素

がん抑制遺伝子 p53 は 1979 年に発見され、その後多くの研究者によって 30 年を超えて精力的な研究が行われた。結果、がんでもっとも高頻度に不活性化される遺伝子であることが明らかとなった。その蛋白質は転写因子として数百の標的遺伝子の転写を直接活性化して細胞死や細胞周期停止を誘導することによって、ストレスに曝され、損傷を受けた細胞のがん化を防いでいると考えられている。

著者らは、マイクロアレイを用いたゲノム網羅的な p53 誘導性遺伝子のスクリーニングを行い、機能未知の新規 p53 標的遺伝子として Mieap を発見した¹⁾。Mieap はさまざまながん細胞株においてプロモーターのメチル化によって高頻度に不活性化されていた¹⁾。その後の機能解析から Mieap

はミトコンドリアの品質管理にきわめて重要である事実を見出した。この機能は活性酸素種 (ROS) を高いレベルで産生する不良なミトコンドリアに

サイド
メモ

プロテナーゼKプロテクション アッセイ

単離ミトコンドリアに対して、proteinase K 処理を行うことによって、ある蛋白質がミトコンドリアの内部に存在することを証明する生化学的実験手法である。ミトコンドリアの外側にある蛋白質は分解されるが、ミトコンドリアの二重膜に守られた内側にある蛋白質は分解を免れるため、ミトコンドリア内部にある蛋白質を、proteinase K 処理後の蛋白質に対して Western blot を行うことによって確認できる。

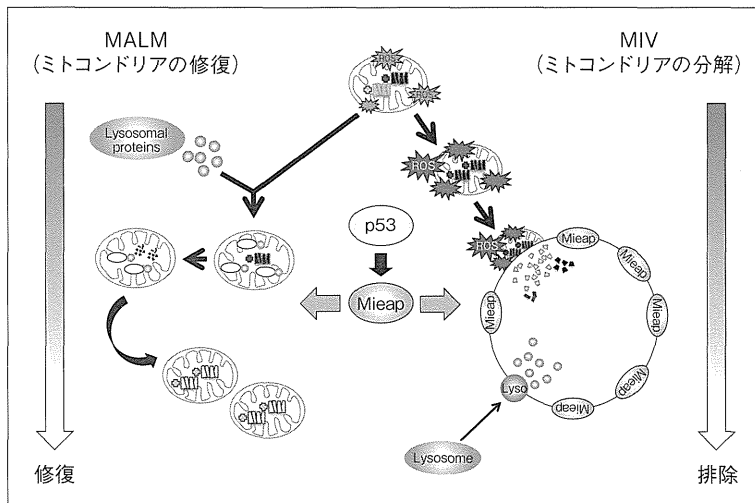


図 1 Mieapによって制御される新規ミトコンドリア品質管理機構

対し、リソソーム蛋白質のミトコンドリアへの集積を誘導して、酸化修飾蛋白質をリソソーム酵素依存的に除去することによって修復するか (Mieap-induced accumulation of lysosome-like organelles within mitochondria: Malm),あるいは巨大な液胞様の構造物を細胞質へ形成し、きわめて品質の劣化したミトコンドリアを直接この構造物内へ取り込んで分解・排除するか (Mieap-induced vacuole: Miv)の、いずれかの機序によってミトコンドリアの品質を健全に維持するというものであった(図1)¹⁻⁴⁾。

本稿では、がんで高頻度に不活性化され、このp53誘導性蛋白質Mieapによって制御される、まったく新しいミトコンドリア品質管理機構を紹介する。

不良ミトコンドリアの修復: Malm

Mieap遺伝子のコードする蛋白質は、N末端寄りに2カ所のcoiled-coilドメインが存在していること以外、あまり特徴がなく、その機能解析は困難をきわめた。最終的にこの遺伝子の名前をその機能にちなんでMieap (mitochondria-eating protein: ミトコンドリアを食べる蛋白質)と命名した。

p53あるいはMieapの機能が保持された細胞株に、 γ 線照射や抗がん剤処理、H2O2処理などのストレスを加えると、p53に依存してMieap蛋白質が発現上昇し、ミトコンドリアへの集積が惹起さ

れた¹⁾。この時同時に、LAMP1, LAMP2, カテプシンB, カテプシンDなどのリソソーム蛋白質がミトコンドリアへ集積した¹⁾。さらに、Lyso-tracker-redによってこのときのミトコンドリアが酸性状態であることも確認できた¹⁾。しかし、オートファゴソームの形成を示すGFP-LC3の集積は認めず、電子顕微鏡観察によるオートファゴソームの出現も認められなかった¹⁾。つまり、この現象は損傷ミトコンドリアのオートファゴソームによる隔離とその後のリソソームの融合によるミトコンドリアの分解・除去の機能であるオートファジーではなかった。それどころか形態学的にはミトコンドリアにはまったく異常を認めず、対照群と比べてもほとんど遜色ない状態であった¹⁾。

そこで、免疫電子顕微鏡解析において検体の包埋前のDAB法と包埋後の金コロイド法の2つの方法で確認したところ、上記の4つのリソソーム蛋白質のシグナルをミトコンドリアの内部に検出した¹⁾。金コロイドの集積状況よりミトコンドリア・マトリックス内へリソソーム蛋白質が集積していると推測された。生化学的手法であるプロテナーゼKプロテクションアッセイを行ったところ、やはりミトコンドリア内へのリソソーム蛋白質の集積を確認できた¹⁾。以上の結果から、著者らの観察した現象はオートファジーとは異なる、ミトコンドリアの構造破壊を伴わない、ミトコンドリア内部へのリソソーム蛋白質の集積

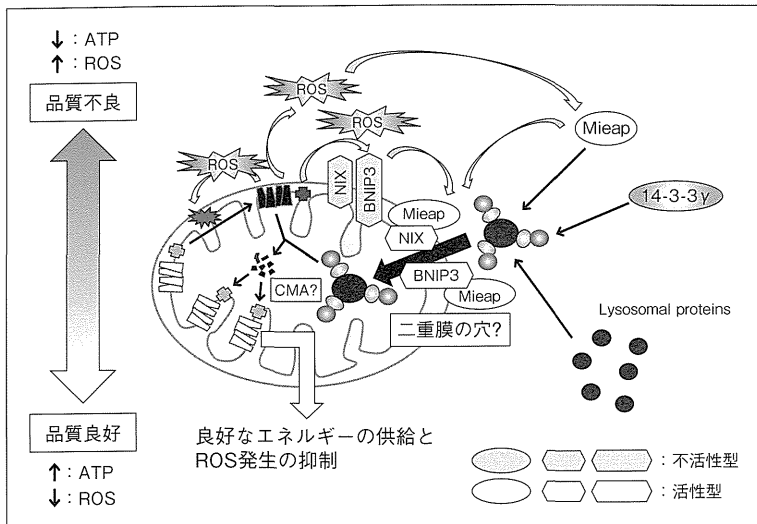


図 2 MALMのメカニズムに関する仮説

(MALM)が誘導されていると結論づけた。

カルボニル基に対する特異抗体による Western blot 解析やニトロチロシン抗体を用いた免疫染色法によって、酸化修飾蛋白質の状況について MALM 機能を保持した細胞と MALM 機能を欠失した細胞を比較したところ、後者の細胞においてストレス負荷後に劇的な酸化修飾蛋白質の蓄積を認めた^{1,4)}。さらに、免疫沈降法によって、これらの酸化修飾されたミトコンドリア蛋白質のひとつが ATP 合成酵素であることを確認した¹⁾。

MALM 機能を欠失した細胞におけるミトコンドリア内への酸化修飾蛋白質の蓄積がミトコンドリアの機能障害を引き起こすかを調べたところ、MALM 機能を保持した細胞に比べ、顕著にミトコンドリアからの ATP 合成活性の低下を認めた。さらに、MALM 機能を欠失した細胞からはミトコンドリアから高いレベルの活性酸素種(ROS)の産生を認めた^{1,2)}。

以上の結果から、p53 および Mieap は細胞に生じた緊急時に、MALM を誘導してミトコンドリア内酸化蛋白質を除去することで、損傷ミトコンドリアを修復し、ATP 合成能を維持し、ROS の産生を抑制してミトコンドリアの健全性を維持している可能性が高いと考えられた。

この現象のメカニズムとして、いくつかの事実が明らかとなった。

第1に、ミトコンドリア外膜蛋白質である BNIP3 と NIX (BNIP3L) が MALM の誘導に必須であるという事実である^{2,3)}。BNIP3 と NIX はミトコンドリア外膜で、ROS 依存性に Mieap と結合し、ミトコンドリア二重膜に何らかの孔(通り道)を開口させることで MALM の進行をメディエートする³⁾。第2に、14-3-3 γ はサイトゾルで Mieap と結合し、そのままミトコンドリア二重膜を Mieap とともに通過し、ミトコンドリア内へ移動する事実である⁴⁾。14-3-3 γ の欠損細胞では MALM の進行には影響しないが、ミトコンドリア内へ酸化修飾蛋白質が蓄積することから、14-3-3 γ はミトコンドリア内における酸化蛋白質の分解の過程に重要な役割を果たしていると推測される⁴⁾。第3に、MALM を惹起する生体内の生理的な刺激が低酸素ストレスであることが明らかとなった。BNIP3 や NIX がよく知られた HIF-1 の標的遺伝子であったことから合理的と思われる。すなわち、MALM は低酸素ストレスに対するミトコンドリア品質管理機構であると考えられる⁵⁾。

以上をまとめるとつぎのとおりである(図2)。低酸素環境におけるミトコンドリアから発生する ROS は Mieap や BNIP3/NIX を活性化する。Mieap は 14-3-3 γ と結合し、リソソーム様オルガネラあるいはリソソーム蛋白質との複合体を形成

する(図2)。これら複合体はMieapとBNIP3/NIXの間の結合を介して標的となるミトコンドリアへ集積する。Mieap・BNIP3・NIXの3者の会合はミトコンドリア二重膜に何らかの孔(通り道)を形成し、Mieap複合体はミトコンドリア内へ移動する(図2)。ミトコンドリア内では14-3-3 γ が酸化蛋白質の取込みのためのアダプターとしての役割を果たし、酸化蛋白質がMieap複合体へ取り込まれて分解される(図2)。

これが仮説としてのメカニズムである。この現象はこれまでの研究から取り残されていた未知の細胞機能である可能性が高い。今後、この現象について、さまざまな角度からの検証が必要と思われる。

不良ミトコンドリアの排除：MIV

Mieapを過剰発現すると、ほぼすべての細胞で巨大な構造物が細胞質に出現した^{2,5)}。この構造物の辺縁にMieapが局在し、この構造物のなかにはミトコンドリアが取り込まれていた^{2,5)}。さらに、ミトコンドリアを取り込んだこの構造物にリソソームが集積してきて融合し、構造物の内容物であるミトコンドリアが分解された^{2,5)}。つまり、この現象はオルガネラであるミトコンドリアのリソソームによる分解と考えられる。著者らは、この構造物をMIV(Mieap-induced vacuole)と名づけた。

当初MIVはMieapの過剰発現時のみに認められる非生理的な現象であると思われたが、その後の解析から細胞からMALMの機能を抑制した場合に、 γ 線照射や抗がん剤処理などのストレスに応答して、p53およびMieap依存的にMIVが発生することが明らかとなった^{2,5)}。さらに、電子顕微鏡の解析からMALMの機能が保持された細胞においても、同様の刺激によって全体の10%程度の細胞においてMIVが発生していることが確認できた^{2,5)}。蛍光染色による実験から同じ細胞のなかでMIVはMALMと同時に存在していることも確認できた^{2,5)}。したがって、MIVは細胞にストレスが負荷されたときにp53およびMieap依存的に誘導される、細胞に本来備わった生理的な機能である可能性が高いと思われる。

Mieapによるミトコンドリア品質管理機構のがんにおける破綻とその意義

これまでは、おもにp53やMieapの機能が保持されたがん細胞株を使った実験のデータであったが¹⁻⁴⁾、最近の著者らの解析から、ヒト乳腺上皮細胞株、ヒト線維芽細胞株、マウス胎児線維芽細胞の、すくなくとも3種の正常細胞において、MALMが発生することが確認できた。また、MALMは酸素濃度2%の低酸素状態において上記3種の正常細胞を含めた、p53やMieapの機能が保持された細胞株で、顕著に誘導された。このことから、MALMはミトコンドリアを有したあらゆる細胞(すくなくともマウスからヒトまで)における普遍的な生理的機能であり、低酸素ストレスに対するミトコンドリアの品質管理機構である可能性が高い。

ではこの機能はがんにおいてどのような役割を果たしているのであろうか？ この機能が活性化される低酸素環境はまさにがんの生体内での微小環境と同じ状態である。生体内におけるがんにおいてこの機能が保持されていれば、ミトコンドリアの品質は良好に保たれ、そのことががん抑制的に作用し、この機能が破綻すれば、不良なミトコンドリアが蓄積してがん促進的に働く可能性がある。

p53およびMieapによって制御されるこの新規のミトコンドリア品質管理のメカニズムが、ヒトがんで破綻した場合、不良なミトコンドリアががん細胞へ蓄積し、低酸素状態にあるがんの微小環境において、そのミトコンドリアからは高いレベルのROSが産生されると予測される(図3)。そのROSは従来から知られているように、核のDNAに達すれば、DNAの酸化修飾を介してDNAの変異を生じるであろうし、細胞内の蛋白質やオルガネラ、脂質などを酸化すれば、これらの品質の劣化を招き、細胞の機能障害や老化などの原因となりうる(図3)。また、ROSは酸化反応を通して、さまざまな物質を傷害するだけでなく、酸化修飾を介した蛋白質の安定化や活性化を引き起こし、積極的に細胞増殖シグナルを活性化することが予想される(図3)。これらのROSに起因する事象はがんの発生や進展に寄与する可能性が高い。

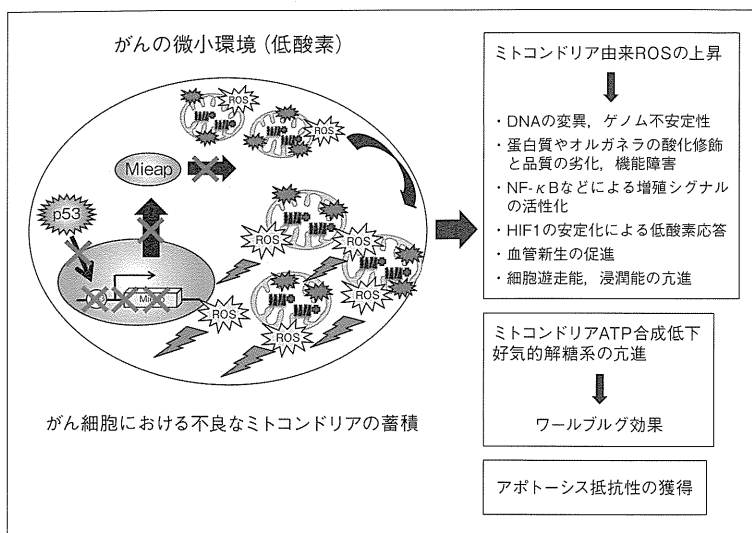


図 3 がんにおけるp53/Mieap 制御性ミトコンドリア品質管理機構の破綻とその意義

がん細胞に不良なミトコンドリアが蓄積しているのであれば、がん細胞のミトコンドリアからのATP合成は低下して解糖系からのATP合成が増加すると予測される。これは、長年がん研究領域において謎であった、がん細胞は酸素が豊富にある環境にあっても酸素を使った効率のよいミトコンドリアからのATP合成を行いにくく、糖の取込みの亢進した解糖系からのATP合成を行う性質があるという、好氣的解糖系の亢進・Warburg効果の原因となる可能性がある(図3)。

著者らはさまざまな臓器のがんの臨床検体において、MieapおよびMieap関連分子の異常について解析を進めている。現在のところ、大腸がんや膵がん症例の約70~80%以上において、MieapおよびMieap関連分子のいずれかに異常と認めており、臨床がんの生体内において、Mieap制御性のミトコンドリア品質管理機構は高頻度に不活性化されている可能性が高い。結果としてがん細胞には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が産生されると推測される(図3)。

がん細胞に蓄積した不良なミトコンドリアからのROSがどのようにがん中に有利に働くかについて、その手がかりが明らかとなりはじめています。Mieapやp53をノックダウンした細胞を低酸素に置くと、それらを保持した細胞に比べ、格段に細

胞の遊走能と浸潤能が上昇した。この活性は、EbselenなどのROS消去剤でほぼ完全に抑制されることから、不良なミトコンドリアから産生されるROSによるものであることが推測される。ミトコンドリアからのROSは、HIF1の安定化や血管新生の促進、さらにはマトリックスメタロプロテアーゼの活性化などに関与するともいわれている。また、林らの報告ではミトコンドリアDNAに変異を挿入し、実験的に作成したミトコンドリアからのROS産生の上昇したがん細胞は転移能が上昇することが示されている⁶⁾。このことから、Mieapによるミトコンドリア品質管理のメカニズムの破綻はがんの増殖・浸潤・転移に重要な役割を果たしている可能性が高い(図3)。

おわりに

アポトーシス、細胞周期停止、DNA修復、血管新生抑制など、p53のがん抑制機能の大部分が解明されたはずと皆思っていたが、2012年、2013年と立て続けに、アポトーシスと細胞周期停止がp53のがん抑制機能に必須ではないことが報告された^{7,8)}。著者らは、このp53研究におけるmissing pieceがMieapを介したミトコンドリア品質管理とその破綻による酸化ストレスではないかと考えている。p53の標的遺伝子は他にもミトコンドリアDNA合成にきわめて重要な役割を果たす

p53R2⁹⁾やミトコンドリアの酸化的リン酸化反応に重要であるSCO2¹⁰⁾, ミトコンドリア蛋白質として抗酸化作用を有するALDH4¹¹⁾など, さまざまなミトコンドリア関連分子が報告されている。これまで, p53は“ゲノムの守護神”とよばれてきたが, もしかしたら“ミトコンドリアの守護神”としての役割が本当は重要なのではないか?

著者らはp53の研究者として未知のp53標的遺伝子の同定とその機能解析を行っていたなかで, このMieapを発見した。その機能がミトコンドリアの品質管理であったことと, そのメカニズムがこれまでのオートファジーとはまったく異なる機序であったことはたいへんな驚きであった。最近, ブレイクスルーという言葉の本当の意味がすこしわかったような気がする。既存の常識や概念を覆すような, まったく新しい概念を打ち立てる

こと, それによるパラダイムシフトを引き起こすことの難しさや厳しさを痛切に感じている。長い時間と根気を要する作業ではあるが, 医師および研究者として慎重かつ謙虚に, この機能が何者であるかを明らかとしていきたい。

文献

- 1) Miyamoto, Y. et al. : *PLoS ONE*, **6** : e16054, 2011.
- 2) Kitamura, N. et al. : *PLoS ONE*, **6** : e16060, 2011.
- 3) Nakamura, Y. et al. : *PLoS ONE*, **7** : e30767, 2012.
- 4) Miyamoto, T. et al. : *Sci. Rep.*, **2** : 379, 2012.
- 5) 荒川博文 : 実験医学, **30** : 1407-1417, 2012.
- 6) Ishikawa, K. et al. : *Science*, **320** : 661-664, 2008.
- 7) Li, T. et al. : *Cell*, **149** : 1269-1283, 2012.
- 8) Valente, L. J. et al. : *Cell Rep.*, **3** : 1339-1345, 2013.
- 9) Bourdon, A. et al. : *Nat. Genet.*, **39** : 776-780, 2007.
- 10) Matoba, S. et al. : *Science*, **312** : 1650-1653, 2006.
- 11) Yoon, K. A. et al. : *J. Hum. Genet.*, **49** : 134-140, 2004.

* * *

