

平 28 年 度 委 託 研 究 開 発 成 果 報 告 書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的がん医療実用化研究事業
(英語) Practical Research for Innovative Cancer Control

研究開発課題名： (日本語) 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
(英語) Alterations of mitochondrial quality control in human cancer and
their clinical significance

研究開発担当者 (日本語) 国立がん研究センター研究所 腫瘍生物学分野 分野長 荒川 博文
所属 役職 氏名： (英語) National Cancer Center Research Institute, Division of Cancer
Biology, Chief, Hirofumi Arakawa

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター研究所 腫瘍生物学分野 主任研究員 中村康之
所属 役職 氏名： (英語) National Cancer Center Research Institute, Division of Cancer
Biology, Senior Staff Scientist, Yasuyuki Nakamura

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人岐阜大学大学院医学系研究科 乳腺・分子腫瘍学
准教授 二村 学
所属 役職 氏名： (英語) Gifu University Graduate School of Medicine, Department of
Surgical Oncology,
Associate Professor, Manabu Futamura

II. 成果の概要（総括研究報告）

Mieap 制御性ミトコンドリア品質管理機構（以下 Mieap 制御性 MQC 機構）のがんにおける異常とそのがん臨床的特性における意義と重要性について、①臨床がん組織の解析（臨床検体）、②モデルマウスの解析（in vivo）、③細胞レベルの解析（in vitro）、の3つの解析レベルで研究を遂行し以下の成果を得た。

① 臨床がん組織の解析については、それぞれ 50 例程度の大腸がん・胃がん・膵がん・乳がん臨床検体を用いて Mieap 制御性 MQC 機構に関する分子のゲノム・エピゲノム解析及び免疫病理組織学的解析を行った。結果として、Mieap 制御性 MQC 機構は生体内のがん微少環境において高頻度に不活性化されており、がん微少環境における生体内のがん細胞にはがん特異的異常ミトコンドリアが高度に集積していることをこれらががん種に普遍的な所見として証明した。これらの成果は論文発表予定であるが、大腸がんの一部データに関しては既に成果の論文発表に成功した（Kamino et al. *Oncogenesis*. 5: e181, 2016.）。

② モデルマウスの解析に関しては、臨床がん組織で異常を認めた大腸がん・胃がん・膵がんに関して、Mieap ノックアウトマウスを用いて Mieap 欠損がんモデルマウスの開発を進め、これら3種のすべてについてモデルマウスの開発に成功した。Mieap 欠損大腸がんモデルマウス（Apc^{Min/+}マウス）では、Mieap 欠損による腫瘍の発生数の顕著な増加、腫瘍の悪性化・がん化の劇的な促進作用、異常ミトコンドリアの腫瘍内集積とミトコンドリア由来酸化ストレスの増加を証明し、これら成果の論文発表に成功した（Tsuneki et al. *Sci Rep*. 5: 12472, 2015.）。また、Mieap 欠損胃がんモデルマウス（Gan マウス：K19-Wnt1/C2mE）では、17 週齢から 20 週齢までの若年期において、全例胃がんを発症することを確認し、30 週齢以上の高齢 Mieap 欠損 Gan マウスではがん細胞の血管浸潤を認めた。さらに興味深いことには、COX-2 と PGE2 のみを組み込んだ胃炎症モデルマウス（K19-C2mE）は、通常 Wnt1 なしには発がんしないが、Mieap 欠損 K19-C2mE マウスを作成し解析したところ Mieap 欠損胃炎症モデルマウスは 60 週齢において胃がんを発症し、さらにがん細胞の血管浸潤を認め、Mieap 欠損 Gan マウスと同様の所見を呈することを見出した（論文発表予定）。

③細胞レベルの解析においては、Mieap 制御性 MQC 機構の2つのメカニズムである MALM（修復）と MIV（排除）の形成過程の可視化に成功した。また、Mieap 結合蛋白質として UVRAG を同定し、MIV 形成過程における重要な介在因子であることを見出した。MIV が細胞内のミトコンドリアをすべて貪食・分解した後にカスパーゼ依存性細胞死を誘導することを証明した。また MALM は正常細胞において低酸素刺激で誘導されること、生体内のミトコンドリアの豊富な組織・細胞で機能していること、MIV は生体内の低酸素細胞死領域で発生していることなどを証明した。以上はすべて論文発表予定である。

以上の解析から、（1）Mieap 制御性 MQC 機構はミトコンドリアを有したすべての細胞に存在する生理的な細胞機能であり、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、（2）Mieap 制御性 MQC 機構はがん抑制機能として働いていると考えられ、本機能の破綻は、がん微少環境において「がん特異的異常ミトコンドリア」の集積を招き、この異常ミトコンドリアのがんの発生・増殖・浸潤・悪性形質獲得の driving force として働いている可能性を示すことができた。

In this project, the role of the Mieap-regulated mitochondrial quality control in cancer was examined in (1) clinical level (patient), (2) mouse model level (in vivo system), and (3) cellular level (in vitro system). The results are shown below.

(1) Clinical level (cancer patient):

The status of the Mieap-regulated mitochondrial quality control in clinical cancer samples was examined by performing genomic, epigenomic, and histopathological analyses with cancer and normal tissues of nearly 50 patients each in colorectal, gastric, pancreatic, and breast cancer. As the result, we could demonstrate that the Mieap-regulated mitochondrial quality control is frequently inactivated in human cancer, leading to the accumulation of unhealthy mitochondria in cancer cells in the in vivo hypoxic tumor microenvironment. We already succeeded to publish a part of the result (Oncogenesis. 5: e181, 2016.).

(2) Mouse model level (in vivo system):

In order to examine the in vivo significance of the alterations of the Mieap-regulated mitochondrial quality control, we generated and analyzed the Mieap-deficient colorectal ($Apc^{Min/+}$ mouse), gastric (Gan mouse), and pancreatic (Ptf1a-Cre/LSL-Kras^{G12D/+}) cancer mouse models. We succeeded to establish all of the three kinds of cancer mouse models. The Mieap-deficient $Apc^{Min/+}$ mice exhibited a substantial increase of the number and size of the intestinal tumors and more advanced grades of adenomas and adenocarcinomas, leading to the remarkable shortening of the lifetime. In addition, unhealthy mitochondria dramatically accumulated in the tumors of Mieap-deficient $Apc^{Min/+}$ mice, and generated high level of reactive oxygen species (Sci Rep. 5: 12472, 2015.). We also obtained the similar results in Mieap-deficient Gan mice and Ptf1a-Cre/LSL-Kras^{G12D/+} mice.

(3) Cellular level (in vitro system):

We succeeded to visualize the process of the MALM (repair) and MIV (elimination) by performing the live-imaging. First, MALM occurs, and then MIV is generated around the area of the mitochondria. We also succeeded to demonstrate that MIV is the non-canonical mitophagy that plays a critical role in cell death.

In conclusion, we suggest that the Mieap-regulated mitochondrial quality control mechanism functions as a tumor suppressor, and that inactivation of the function in human cancer causes the accumulation of “cancer-specific unhealthy mitochondria” in cancer cells under the in vivo hypoxic tumor microenvironment, which could play a critical role in cancer development, progression, aggressiveness, invasion, and metastasis.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1 件、国際誌 1 件）

1. Nakamura Y, Arakawa H. Discovery of Mieap-regulated mitochondrial quality as a new function of tumor suppressor p53. *Cancer Science*. 2017. (in press)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 発表題目：Mieap-induced vascuole (MIV) によるミトコンドリア分解とそのメカニズム
発表の別：口頭
発表者氏名：中村康之、常木雅之、荒川博文
発表した場所：第 10 回オートファジー研究会 (NASPA ニューオータニ・新潟)
発表した時期：2016/11/14~15
国内外の別：国内
2. 発表題目：Mieap は胃腺がんの発生及び悪性形質獲得を抑制する
発表の別：ポスター
発表者氏名：常木雅之、中村康之、荒川博文
発表した場所：第 10 回オートファジー研究会 (NASPA ニューオータニ・新潟)
発表した時期：2016/11/14~15
国内外の別：国内
3. 発表題目：Mieap-regulated mitochondrial quality control and cancer: a new function of tumor suppressor
発表の別：口頭
発表者氏名：荒川博文
発表した場所：第 13 回アジアミトコンドリア学会・第 16 回日本ミトコンドリア学会年会合同学術集会 (TKP ガーデンシティ品川)
発表した時期：2016/11/1
国内外の別：国内
4. 発表題目：Mieap, the mitochondria-eating protein, induces cell death by eating unhealthy mitochondria
発表の別：ポスター
発表者氏名：中村康之、常木雅之、荒川博文
発表した場所：第 13 回アジアミトコンドリア学会・第 16 回日本ミトコンドリア学会年会合同学術集会 (TKP ガーデンシティ品川)
発表した時期：2016/10/30~11/1
国内外の別：国内
5. 発表題目：Mieap deficiency promotes vascular invasion of gastric adenocarcinoma in Gan mice

- 発表の別：ポスター
発表者氏名：常木雅之、中村康之、荒川博文
発表した場所：第 13 回アジアミトコンドリア学会・第 16 回日本ミトコンドリア学会年会合同
学術集会（TKP ガーデンシティ品川）
発表した時期：2016/10/30～11/1
国内外の別：国内
6. 発表題目：p53 下流遺伝子 Mieap の乳腺腫瘍における発言とその意義について
発表の別：ポスター
発表者氏名：二村学、スチンゴア、森光華澄、森龍太郎、常木雅之、荒川博文、吉田和弘
発表した場所：第 54 回日本癌治療学会学術総会（パシフィコ横浜）
発表した時期：2016/10/20～22
国内外の別：国内
7. 発表題目：Mieap によって誘導されるミトコンドリアの分解除去を介した新しい細胞死の発見
発表の別：口頭
発表者氏名：中村康之、常木雅之、荒川博文
発表した場所：第 75 回日本癌学会学術総会（パシフィコ横浜）
発表した時期：2016/10/07
国内外の別：国内
8. 発表題目：Mieap deficiency promotes vascular invasion of gastric adenocarcinoma in
Gan mice
発表の別：口頭
発表者氏名：常木雅之、中村康之、金城貴夫、荒川博文
発表した場所：第 75 回日本癌学会学術総会（パシフィコ横浜）
発表した時期：2016/10/07
国内外の別：国内
9. 発表題目：Expression of Mieap and its role in breast tumors
発表の別：ポスター
発表者氏名：Siqin Gaowa、Manabu Futamura、Ryutaro Mori、Masayuki Tsuneki、Hirofumi
Arakawa、Kazuhiro Yoshida
発表した場所：第 75 回日本癌学会学術総会（パシフィコ横浜）
発表した時期：2016/10/6～8
国内外の別：国内
10. 発表題目：Mieap 制御性ミトコンドリア品質管理機構の破綻によるがん特異的異常ミトコンド
リアの集積とその代謝特性について
発表の別：ポスター
発表者氏名：中村康之、常木雅之、相川知徳、曾我朋義、荒川博文
発表した場所：第 4 回がんと代謝研究会（かごしま県民交流センター）
発表した時期：2016/07/07～8
国内外の別：国内

11. 発表題目：Mieapによるミトコンドリア品質管理のメカニズムとがん～新しい抗加齢戦略としてのミトコンドリア酸化ストレス制御について～

発表の別：口頭

発表者氏名：荒川博文

発表した場所：第16回日本抗加齢医学会総会（パシフィコ横浜）

発表した時期：2016/06/11

国内外の別：国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
特になし

(4) 特許出願
特になし