

令和 5 年 6 月 17 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07655

研究課題名(和文) p53誘導性蛋白質Mieapによる消化器がん抑制のメカニズムに関する研究

研究課題名(英文) Potential role of the Mieap-regulated mitochondrial quality control in gastrointestinal tumor suppression.

研究代表者

中村 康之(Nakamura, Yasuyuki)

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・主任研究員

研究者番号：90569063

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：Mieapの消化器がん抑制メカニズムを解析するため、ApcMin/+マウスからMieap遺伝子を欠損したマウスを作製した。17週齢に小腸ポリープと正常部位のミトコンドリア微細構造を電子顕微鏡で比較したところ小腸ポリープでクリステ構造が著しく欠失し、病理組織学的解析では悪性度がMieap遺伝子欠損するに従って増悪化していた。Mieap欠損によるミトコンドリアの構造及び機能異常の原因となる分子を探索することにより、Mieap制御性ミトコンドリア品質管理機構の一端を担う分子が特定できると考えられることから、マウスの小腸ポリープ組織及び正常組織のトランスクリプトーム解析及びプロテオミクス解析を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Mieap欠損によるミトコンドリアの構造及び機能異常の原因となる分子を探索することにより、Mieap制御性ミトコンドリア品質管理機構の一端を担う分子が特定できると考えられることから、これらのマウス小腸のポリープ組織及び正常組織のトランスクリプトーム解析及びプロテオミクス解析を行った。今回見出されたMieap欠損によるミトコンドリア構造及び機能異常の原因分子をより詳細に解析することにより、Mieapによるミトコンドリア構造及び機能の維持を介したがん抑制機構を解明することができれば、革新的ながん予防・診断・治療法開発に繋がると考えている。

研究成果の概要(英文)：To analyse the mechanism by which Mieap suppresses gastrointestinal tumor, mice deleted the Mieap gene were generated from ApcMin/+ mice. Electron microscopic comparison of mitochondrial microstructure between 17-week-old small intestinal polyps and normal areas showed that mitochondrial cristae structure was broken in small intestinal polyps, and histopathological analysis showed that the Mieap gene deletion worsened malignancy. The search for molecules responsible for the mitochondrial structural and functional abnormalities caused by Mieap deficiency may identify molecules that play a role in the Mieap-regulated mitochondrial quality control mechanism, and therefore, transcriptomic and proteomic analyses of the murine small intestine polyp tissue and normal tissue were performed.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：ミトコンドリア p53 がん抑制遺伝子 がんモデルマウス Mieap

1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリアは、ほぼすべての真核生物の細胞がもつ細胞内小器官であり、細胞の生存に必要な ATP 産生と細胞死(アポトーシス)を誘導する重要な役割をもつ。その ATP 産生の過程では細胞を障害する活性酸素種(ROS)が発生する。細胞内には ROS 除去のために抗酸化酵素が存在するが、これらの酵素で分解しきれない ROS によって DNA、タンパク質、脂質の酸化障害がミトコンドリア機能不全やゲノム不安定性を惹起し、がんを含めた様々な疾患の原因になると考えられている。がん細胞は増殖が盛んであるにもかかわらず、効率的な ATP 産生手段である酸化的リン酸化を用いず、解糖系を利用することが知られている(Warburg 効果)。過剰産生された ROS により生じた損傷細胞は、健全なミトコンドリアによるアポトーシスで除去されるが、不良ミトコンドリアが蓄積した細胞ではアポトーシスが機能しないため、その生存が許されがん化すると考えられる。また、ROS が NF- κ B や HIF1 α を介した細胞増殖シグナルを誘導し、血管新生や転移を促進することで、がんの進展に深く関係していることなどが知られている。

我々は p53 誘導性タンパク質 Mieap が不良なミトコンドリアを修復することよりミトコンドリアの品質を管理する全く新しい機能を発見した。先の研究では、個体レベルでの Mieap を調べるため、マウスを用いて実験を行ってきた。がんを起こすモデルマウスとして知られている家族性大腸腺腫症モデル ApcMin/+マウスと Mieap マウスとの交配を行い、Mieap 遺伝子を欠損させた ApcMin/+マウスの小腸及び大腸のポリープ数・サイズ・悪性を増大して、その寿命を著しく短縮することを見出した。それらの原因は、Mieap 遺伝子の欠損による不良ミトコンドリアの蓄積と、そこから過剰産生された ROS による細胞障害であることを電子顕微鏡解析と免疫組織化学的解析により示した。また、胃がんマウスとして知られる Gan マウスでも Mieap 遺伝子を欠損させることにより、がんの悪性が増大した。しかしながら、Mieap によるミトコンドリア品質管理機構の詳細な機序は未だ不明なままである。そこで、Mieap 遺伝子欠損した ApcMin/+マウスの小腸ポリープ、或いは胃がんマウスの胃組織を材料にマイクロアレイ解析およびメタボローム解析を行い、Mieap によるミトコンドリア品質管理の詳細な機序を解明した。さらに本実験課題では、これらのマウスの腫瘍組織及び正常組織をトランスクリプトーム解析で組織の mRNA 量を、及びプロテオミクス解析で機能を対象としたタンパク質を網羅的に解析するものである。

2. 研究の目的

Mieap 遺伝子の欠損によるミトコンドリア構造及び機能異常の原因に関わると考えられる分子の探索を行うことにより、Mieap 制御性ミトコンドリア品質管理機構の一端を担う分子の特定を目指すため、Mieap 遺伝子を欠損させた ApcMin/+マウスの小腸及び大腸に形成されたポリープ組織及び正常組織のトランスクリプトーム解析及びプロテオミクス解析を行った。胃がんマウスでは、マウスを作製するには手間がかかり、がんの罹患に時間を要するため、以前の実験で作製しておいた試料を用いた。Mieap 遺伝子欠損によるミトコンドリア構造及び機能異常の原因分子を見出すことにより、その維持を介したがん抑制機構の解明に取り組み、これらの成果は革新的ながん予防・診断・治療法の開発に繋がると考えている。

3. 研究の方法

Mieap 遺伝子欠損マウスや ApcPCMin/+マウスを用いる動物実験に関しては、国立がん研究センターの遺伝子組み換え実験安全委員会および実験動物安全管理委員会に対して研究申請を行い、十分な審議の後、承認を得て行った。

ApcMin/+マウスの Mieap 遺伝子を欠損するため、まず初めに ApcMin/+マウスと Mieap^{-/-}マウスとを交配することで ApcMin/+Mieap^{+/-}マウスを得た。次にこのマウス同士を交配することで ApcMin/+Mieap^{+/+}、Mieap 遺伝子が片アレル欠損した ApcMin/+Mieap^{+/-}、両アレル欠損した ApcMin/+Mieap^{-/-}マウスが得られた。この他に野生型 Apc^{+/+}の Apc^{+/+}Mieap^{+/+}、Apc^{+/+}Mieap^{+/-}、Apc^{+/+}Mieap^{-/-}が生まれ、逆に ApcMin/Min マウスは胎生致死を示すため生まれてこない。同腹内で ApcMin/+Mieap^{+/+}、ApcMin/+Mieap^{+/-}、ApcMin/+Mieap^{-/-}を揃えたいが困難であった。

本研究課題では、Mieap 遺伝子を欠損した ApcMin/+マウスにおいて、腹部膨満、貧血が見られはじめる 17 週齢に達したマウスを解剖し、小腸及び大腸に形成されたポリープと正常腸管部位を採取して実験に用いた。これらのマウスの腸管腫瘍部位におけるミトコンドリア形態に関しては、すでに電子顕微鏡解析によりミトコンドリアのクリステに著しい欠失が見られることを確かめている。また、病理組織学的に腫瘍の悪性が Mieap 遺伝子欠損に従って増大することが明らかである。Mieap 遺伝子欠損によるミトコンドリア構造及び機能異常の原因に関わることが考えられる分子の探索を行うことにより、Mieap 制御性ミトコンドリア品質管理機構の一端を担う

分子の特定を目指すため、これらのマウスの小腸及び大腸に形成された腫瘍組織及び正常組織のトランスクリプトーム解析及びプロテオミクス解析を行った。また、胃癌マウスの腫瘍組織、正常組織も同様に扱った。

4 . 研究成果

Mieap 遺伝子を欠損した ApcMin/+マウスによるミトコンドリアの構造及び機能異常の原因となる分子を探索することにより、Mieap 制御性ミトコンドリア品質管理機構の一端を担う分子が特定できると考えられることから、これらのマウス腸管ポリープ組織及び正常組織のトランスクリプトーム解析及びプロテオミクス解析を行った。ここで見られた Mieap 遺伝子欠損によるミトコンドリア構造及び機能異常の原因分子をより詳細に解析した。それらの成果は革新的ながん予防・診断・治療法の開発に繋がると考えている。また、十分に解明できていないことも多々あるが、2022 年度 基盤研究(C)、22K07200 基金、「Mieap 液滴の生体内可視化による新規がん抑制メカニズムの解析」において、特にミトコンドリア代謝酵素に関わることを中心に話したいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hitoya Sano, Manabu Futamura, Siqin Gaowa, Hiroki Kamino, Yasuyuki Nakamura, Kazuya Yamaguchi, Yoshihiro Tanaka, Itaru Yasufuku, Akira Nakakami, Hirofumi Arakawa, Kazuhiro Yoshida	4. 巻 529
2. 論文標題 p53/Mieap-regulated mitochondrial quality control plays an important role as a tumor suppressor in gastric and esophageal cancers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 582-589
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.05.168	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hamada K, Kurashige T, Shimamura M, Arakawa H, Nakamura Y, Nagayama Y.	4. 巻 13
2. 論文標題 MIEAP and ATG5 are tumor suppressors in a mouse model of BRAFV600E-positive thyroid cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 932754
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fendo.2022.932754	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 碓 直樹、中村 康之、荒川 博文
2. 発表標題 Mieap liquid droplets function as a tumor suppressor by phase-separating the damaged mitochondria (Mieap 液滴は損傷ミトコンドリアを液-液相分離することでがん抑制に作用する)
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 碓 直樹、中村 康之、荒川 博文
2. 発表標題 Mieapは液滴を形成しカルジオリピン代謝を促進する
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 碓 直樹、中村 康之、荒川 博文
2. 発表標題 p53 - Mieap経路のがん抑制におけるカルジオリピン代謝の役割について
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naoki Ikari, Yasuyuki Nakamura, Hirofumi Arakawa
2. 発表標題 Mieap forms membraneless organelles to compartmentalize and facilitate cardiolipin metabolism
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2022 (国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関