

令和元年6月4日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19110

研究課題名(和文)ミトコンドリア形態制御因子を標的とした大腸がん治療の基礎研究

研究課題名(英文)The role of mitochondrial fission protein DRP1 in intestinal tumorigenesis

研究代表者

山内 茜(井上茜)(Inoue-Yamauchi, Akane)

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：90541970

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究においては、独自に発見したミトコンドリア分裂因子DRP1の発現抑制による大腸癌細胞のアポトーシス誘導という研究成果を背景とし、DRP1を標的とする癌治療開発へ向けた基礎研究を推進した。その一環として腸管上皮細胞特異的にDRP1を欠損する腸管腫瘍マウスモデル(Apc変異マウス)を作成し、腫瘍形成に対するDRP1欠損による影響について検討した。その結果、DRP1はApc変異マウスにおける腸管腫瘍形成に必要でないことが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の研究成果により、ミトコンドリア形態の腫瘍制御への関与が明らかになりつつある。しかしながらそれらの知見の多くは癌細胞レベルの解析にとどまっている。本研究は、腸管腫瘍を自然発症するマウスモデルを用い、ミトコンドリア形態による腫瘍制御を個体レベルで検討した点において意義深い。

研究成果の概要(英文)：To develop the new therapeutic approaches targeting mitochondrial dynamics, I focused on mitochondrial fission factor DRP1, which is reported to regulate survival of colorectal cancer cell lines. Intestinal tumor mouse model lacking DRP1 specifically in intestinal epithelial cells however develop tumors that was comparable to wild-type control mice.

研究分野：分子生物学

キーワード：ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリアは環境変化に応じて融合と分裂を繰り返し、そのバランスによって形態や細胞内局在を制御している。ミトコンドリア形態制御の中核を担うタンパク質として、融合因子の MFN1, MFN2, OPA1 及び分裂因子の DRP1 が知られており、実際、培養細胞において融合因子を過剰に発現させるとミトコンドリアのネットワーク形成が促進され、一方、分裂因子の過剰発現はミトコンドリアの断片化を促進する。近年、ミトコンドリア形態制御の生理機能解析が精力的に進められ、ミトコンドリアの形態制御が発生・分化、アポトーシス、エネルギー代謝などの様々な生命現象に関わることが明らかになってきた。さらに、ミトコンドリア形態制御の異常が、肥満や2型糖尿病、パーキンソン病、アルツハイマー病などの疾患に関与することも報告されている(Archer SL et al. N Engl J Med 2014)。

無限増殖やアポトーシス耐性、エネルギー代謝の異常はがんの特徴であり、ミトコンドリアを介した様々な経路の異常が原因の一つであると考えられている。しかしながら、癌におけるミトコンドリア形態変化の意義はよく理解されていない。最近になり、研究代表者を含めた複数のグループの癌細胞株を用いた解析から、ミトコンドリア分裂因子 DRP1 が、癌細胞の生存や細胞分裂、ゲノム不安定性の制御に関与することが報告された(Qian W et al. Expert Opin Ther Targets 2013)。さらに、発癌シグナルとミトコンドリア形態制御の関わりが報告され、DRP1 が RAS-ERK シグナルによってリン酸化を受け、ミトコンドリアの分裂及び腫瘍生育を促進することが示された(Kashatus JA et al. Mol Cell 2015, Serasinghe MN et al. Mol Cell 2015)。しかしながら、癌形成において DRP1 がどのような役割を担うのか、さらにはヒト癌組織において DRP1 がどのような挙動を示すのかについては未だ不明のままである。

2. 研究の目的

研究代表者らは以前、ミトコンドリア分裂因子 DRP1 の発現抑制が複数の大腸癌細胞株のアポトーシスを誘導することを示した。本結果は DRP1 が大腸癌の治療標的となることを示唆するものである。そこで本研究では、ミトコンドリア形態制御因子を標的とした新たな癌治療法の開発へ向けた基礎的知見を得ることを目指し、腸管腫瘍形成における DRP1 の役割の解明を試みた。

3. 研究の方法

(1) 腸上皮細胞特異的に DRP1 を欠損する腸管腫瘍マウスモデルの作出及びその解析
腸管上皮細胞特異的な発現の知られる Villin 遺伝子プロモーター下で Cre を発現する Villin-Cre トランスジェニックマウスに Drp1 flox マウスを掛け合わせ、Villin-Cre; Drp1 flox/flox マウスを作出した。当該マウスの各組織における DRP1 タンパク質の発現をウェスタンブロットにより解析した。また、腸上皮細胞におけるミトコンドリアの形態を電子顕微鏡にて解析した。続いて Villin-Cre; Drp1 flox/flox マウスと腸管腫瘍マウスモデル(Apc 変異マウス: ApcMIN)の掛け合わせにより、腸上皮細胞特異的に DRP1 を欠損する腸管腫瘍マウスモデル(ApcMIN; Villin-Cre; Drp1 flox/flox)を作出した。腸管組織に自然発症する腫瘍について肉眼解析及び病理組織学的解析を実施した。

(2) 大腸癌組織における DRP1 の発現解析

同一症例の大腸癌組織及び正常粘膜組織における各ミトコンドリア形態制御因子の発現をウェスタンブロットにより比較した。

4. 研究成果

(1) 腸上皮細胞特異的に DRP1 を欠損する腸管腫瘍マウスモデルの作出及びその解析
Villin-Cre; Drp1 flox/flox マウスの各組織由来のタンパク質可溶化液を用いたウェスタンブロット解析の結果、調べた限りの組織における腸管組織特異的な DRP1 の発現抑制を確認した。また、腸管上皮細胞におけるミトコンドリア形態を電子顕微鏡にて観察したところ、Villin-Cre; Drp1 flox/flox マウス腸組織の腸管上皮細胞において巨大なミトコンドリアが観察され、分裂因子 DRP1 の機能欠損によるものと考えられた。そこで腸上皮細胞特異的に DRP1 を欠損する腸管腫瘍マウスモデル(ApcMIN; Villin-Cre; Drp1 flox/flox)における腫瘍形成を解析したところ、腫瘍数・腫瘍径ともにコントロールマウスと同程度であった。腫瘍細胞の増殖やアポトーシスに関しても DRP1 欠損マウスとコントロールマウスの間に大きな差は認められなかった。本結果は、DRP1 は少なくとも Apc 変異マウスにおける腸管腫瘍形成に必要なでないことを示している。DRP1 発現抑制によるアポトーシス誘導が観察された大腸癌細胞株は β -catenin 変異(Apc 変異同様に WNT シグナルの恒常的な活性化をもたらす)に加え Kras 変異を保持していることや、DRP1 が RAS-ERK シグナル下流でミトコンドリアの分裂及び腫瘍生育を促進するという報告から、今後 Apc/Kras 複合変異マウスを用いた解析が望まれる。

(2) 大腸癌組織における DRP1 の発現解析

解析した全 10 症例のうち 6 症例において、大腸癌組織における DRP1 の発現が正常粘膜組織と比較して顕著に上昇していた。一方で、他のミトコンドリア分裂因子 FIS1 の発現は両者

に差を認めなかった。他方、ミトコンドリア融合因子 MFN2 及び OPA1 の癌組織における発現上昇が一部の症例において認められた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

(1) Inoue-Yamauchi A, Jeng PS, KimK,ChenHC, Han S, Ganesan YT, Ishizawa K, Jebiwott S, Dong Y, PietanzaMC,HellmannMD, KrisMG,Hsieh JJ, Cheng EH. Targeting the differential addiction to anti-apoptotic BCL-2 family for cancer therapy. Nat Commun. 2017 Jul 17;8:16078. doi:10.1038/ncomms16078.

(2) Inoue-Yamauchi A, ItagakiH, OdaH.Eicosapentaenoic acid attenuates obesity-related hepatocellular carcinogenesis.Carcinogenesis. 2018 Jan 12;39(1):28-35. doi: 10.1093/carcin/bgx112.

〔学会発表〕(計 2 件)

(1) Akane Inoue-Yamauchi, Hiroko Itagaki and Hideaki Oda. Eicosapentaenoic acid attenuates obesity-related hepatocellular carcinogenesis. AACR Annual Meeting 2017;April 1-5, 2017;Washington, DC

(2) Akane Inoue-Yamauchi, Paul Jeng,Kwanghee Kim, Hui-Chen Chen, Song Han, Yogesh Tengarai Ganesan, Yiyu Dong,Sylvia Jebiwott, James J. Hsieh and Emily H. Cheng. Targeting the BCL-2 family in small cell lung cancer. AACR Annual Meeting 2016; April 16-20, 2016; New Orleans, LA

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号 (8 桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。