

## 学内グラント 報告書

## 平成28年度 学内グラント報告書

## ミトコンドリア代謝調節を介する腫瘍増殖メカニズムの解明とその臨床応用

研究代表者 池田 和博 (医学部 ゲノム医学研究センター 遺伝子情報制御部門)

エストロゲン受容体(ER)陽性の乳がん、子宮体がんは、ホルモン依存性の増殖を示すことが知られている。近年、がんの増殖やエストロゲン作用と代謝との関連が注目されている<sup>1)</sup>。なかでも、ミトコンドリアは細胞の呼吸反応によってエネルギー(ATP)を産生する重要な細胞内小器官である。一方、低酸素状態では、細胞は細胞質で行われる嫌氣的解糖系(グルコースから乳酸を生成)によってATPを産生している。しかしながら、がん細胞では、酸素の存在する状態においても、嫌氣的解糖系が増加していること(Warburg効果)が知られている<sup>2)</sup>。がん細胞は増殖や細胞活動に大量のエネルギーを必要とするが、なぜ効率的なエネルギー産生系であるミトコンドリアの酸化リン酸化を使わずに、解糖系を使用するのは完全には解明されていない。しかしながら、その理由としてがん細胞の増殖に伴う虚血による低酸素の環境に抵抗するため、もしくは、TCA回路ならびに酸化リン酸化に参与する遺伝子の変異などにより、ミトコンドリアの機能が低下していることなどが考えられている。近年の標識グルコースの取り込みをイメージングするPET検査により生体でもがん細胞はWarburg効果を示すことが有力視されている。一方で、PET検査で検出されない腫瘍も存在し、がんのミトコンドリアにおける呼吸機能障害は稀でがんの産生するATPの多くの部分はミトコンドリア由来であることも報告されており<sup>3)</sup>、がん細胞においてもミトコンドリア機能の重要性が見直されつつある。また、解糖系が亢進するのは腫瘍細胞というよりむしろその周囲の間質細胞であり、それに由来する代謝産物が腫瘍細胞に取り込まれ栄養素になるという、リバースWarburg効果の仮説もあり<sup>4)</sup>、がんと代謝制御については未解明の問題が多い。

我々は女性ホルモンであるエストロゲンの乳がん、子宮体がんにおける役割の解明と診断・治療への応用を目指し、ERならびにエストロゲン応答遺伝子の発現機能解析を進めている。特に、エストロゲン応答遺伝子について、独自に複数同定してきている<sup>5-7)</sup>。なかでも、COX7RPはミトコンドリアに存在する呼吸鎖スーパー複合体形成を促進する因子であることを世界に先駆けて発見した<sup>8)</sup>。

ミトコンドリア内膜における呼吸鎖複合体の存在様式と作用モデルに関しては、これまでは、それぞれの複合体が内膜上で個別に拡散するように存在した流動モデル

が考えられており、電子は複合体間を偶発的に行き来し、電子伝達に伴って最終的にATPの合成を行うことが想定されていた。

しかしながら、近年の膜タンパク質の立体構造解析技術の向上により、I//III/IV複合体同士が結合して大きな超複合体を形成していることが提唱され、レスピラソームモデルと呼ばれている<sup>9)</sup>。これらの中間的なモデルとして、単体で存在する複合体と中間的に複数の複合体が結合して超複合体(I/III/IV, I/III, III/IV)を形成するものが共存し、環境に応答して超複合体の結合、解体などが行われているという仮説が注目されていたが、超複合体の形成、制御因子は長く明らかにされてこなかった。このメカニズムはエネルギー代謝制御と密接に関連すると想定され、申請者らはCOX7RPが、未解明であった超複合体形成因子であることを世界に先駆けて発見し、報告した。COX7RPはこのメカニズムにより呼吸活性を高め、ATP産生量を増加させることを見出した。

また、COX7RP遺伝子改変マウスを作製解析し、COX7RPは生体では筋肉におけるエネルギー産生ならびに褐色脂肪組織(BAT)での熱産生に重要な役割を担っていることを明らかにした。

一方で、*Cox7rp*ノックアウト(*Cox7rpKO*)マウスは糖負荷試験において、野生型(WT)マウスと比較して血糖値が低く抑えられていることが明らかになった。また、ビルビン酸注射後に糖新生によって上昇する血糖値が*Cox7rpKO*マウスでは低下することが認められた。さらに、*Cox7rpKO*マウスの肝臓において、ミトコンドリア呼吸鎖スーパーコンプレックス(I+III+IV)の形成に参与する複合体IIIのサブユニットであるRISPおよび複合体IVのサブユニットであるCOX1の割合が減少するとともに、ミトコンドリアにおけるATP合成速度が低下していることが明らかになった。これらの結果は、COX7RPが関与するミトコンドリア呼吸反応がグルコースの生体内恒常性に重要な役割を果たし、その障害が代謝性疾患の病態につながることを示唆している。

以上の知見より、COX7RPが関与するミトコンドリア呼吸鎖スーパー複合体の制御が代謝制御と密接に関連していることを示唆しており、ホルモン依存性がんにおいても代謝制御に関わる新しいメカニズムを担っている可能性が想定された。

## 参考文献

- 1) Budczies J, Brockmüller SF, Müller BM, Barupal DK, Richter-Ehrenstein C, et al. Comparative metabolomics of estrogen receptor positive and estrogen receptor negative breast cancer: alterations in glutamine and beta-alanine metabolism. *J Proteomics* 2013; 94: 279-88.
- 2) Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 85-95.
- 3) Zu XL, Guppy M. Cancer metabolism: facts, fantasy, and fiction. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 313: 459-65.
- 4) Pavlides S1, Whitaker-Menezes D, Castello-Cros R, Flomenberg N, Witkiewicz AK, et al. The reverse Warburg effect: aerobic glycolysis in cancer associated fibroblasts and the tumor stroma. *Cell Cycle* 2009; 8: 3984-4001.
- 5) Watanabe T, Inoue S, Hiroi H, Orimo A, Kawashima H, et al. Isolation of estrogen-responsive genes with a CpG island library. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 442-9.
- 6) Urano T, Saito T, Tsukui T, Fujita M, Hosoi T, et al. Efp targets 14-3-3 sigma for proteolysis and promotes breast tumour growth. *Nature* 2002; 417: 871-5.
- 7) Gack MU, Shin YC, Joo CH, Urano T, Liang C, et al. TRIM25 RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity. *Nature* 2007; 446: 916-20.
- 8) Ikeda K, Shiba S, Horie-Inoue K, Shimokata K, Inoue S. A stabilizing factor for mitochondrial respiratory supercomplex assembly regulates energy metabolism in muscle. *Nat Commun* 2013; 4: 2147.
- 9) Schon EA, Dencher NA. Heavy breathing: energy conversion by mitochondrial respiratory supercomplexes. *Cell Metab* 2009; 9: 1-3.

## 研究成果リスト

## 論文

- 1) Shiba S, Ikeda K, Horie-Inoue K, Nakayama A, Tanaka T, et al. Deficiency of COX7RP, a mitochondrial supercomplex assembly promoting factor, lowers blood glucose level in mice. *Sci Rep* 2017; 7: 7606.
- 2) Nakazawa H, Ikeda K, Shinozaki S, Kobayashi M, Ikegami Y, et al. Burn-induced muscle metabolic derangements and mitochondrial dysfunction are associated with activation of HIF-1 $\alpha$  and mTORC1: Role of protein farnesylation. *Sci Rep* 2017; 7: 6618.
- 3) Okumura T, Ikeda K, Ujihira T, Okamoto K, Horie-Inoue K, et al. Proteasome 26S subunit PSMD1 regulates breast cancer cell growth through p53 protein degradation. *J Biochem* 2017; 10: 1093.

## 学会発表

- 1) 柴祥子, 池田和博, 堀江公仁子, 中山哲俊, 田中知明, 他. ミトコンドリア呼吸鎖複合体の形成促進因子であるCOX7RPは糖新生を調節する. 第89日本生化学会大会 2016年9月25~27日, 仙台市
- 2) Nagai S, Ikeda K, Horie-Inoue K, Shiba S, Nagasawa S, et al. Estrogen modulates gene expression and physiological activity of skeletal muscles in female mice. 第14回RCGMフロンティア国際シンポジウム 2016年11月11~12日, 日高市
- 3) Kawabata H, Ikeda K, Azuma K, Sugitani I, Kinowaki K, et al. TRIM44 in breast cancer as a novel prognostic factor associated with cellular proliferation. 第14回RCGMフロンティア国際シンポジウム 2016年11月11~12日, 日高市
- 4) Mitobe Y, Ikeda K, Horie-Inoue K, Inoue S. Identification of an estrogen-induced lncRNA that is critical for cell viability of breast cancer. 第14回RCGMフロンティア国際シンポジウム, 2016年11月11~12日, 日高市
- 5) Okumura T, Ikeda K, Sato W, Horie-Inoue K, Takeda S, Inoue S. shRNA-based functional screening identified PSMD1 as a gene involved in tamoxifen-resistant breast cancer. 第14回RCGMフロンティア国際シンポジウム 2016年11月11~12日, 日高市
- 6) Ikeda K, Horie-Inoue K, Inoue S. Estrogen responsive gene COX7RP facilitates tumor growth in breast and endometrial cancers. 第14回RCGMフロンティア国際シンポジウム 2016年11月11~12日, 日高市
- 7) Shiba S, Ikeda K, Horie-Inoue K, Inoue S. A mitochondrial supercomplex assembly promoting factor COX7RP regulates glucose homeostasis. 第14回RCGMフロンティア国際シンポジウム 2016年11月11~12日, 日高市
- 8) Nagasawa S, Ikeda K, Hasegawa K, Horie-Inoue K, Takeda S, Inoue S. Gene profiling of epithelial ovarian carcinoma based on RNA-sequencing. 第14回RCGMフロンティア国際シンポジウム 2016年11月11~12日, 日高市
- 9) Sato W, Yayoi A, Nakasato N, Ikeda K, Urano T, et al. Efp as a therapeutic target for endometrial cancer. 第14回RCGMフロンティア国際シンポジウム 2016年11月11~12日, 日高市
- 10) 堀江公仁子, 池田和博, 井上聡. shRNAスクリーニングとシーケンス技術によるホルモン不応性がん関連のコード・非コードRNAの同定. 横浜市 第39回日本分子生物学会 2016年11月30~12月2日, 横浜市
- 11) 池田和博, 長井咲樹, 堀江公仁子, 長澤さや, 竹田省, 他. エストロゲンは骨格筋におけるエネルギー代謝関連遺伝子の発現を調節し生体での運動持続能を向上さ

- せる. 第24回日本ステロイドホルモン学会 2016年12月3日, 大分市
- 12) 水戸部悠一, 池田和博, 堀江公仁子, 井上聡. エストロゲンによって誘導され乳がん細胞の増殖・生存を制御する長鎖非コードRNAの同定. 第17回関東ホルモンと癌研究会 2017年1月28日, 東京
- 13) Okumura T, Ikeda K, Sato W, Okamoto K, Horie-Inoue K, et al. Proteasome subunit PSMD1 participates in p53 degradation and regulates proliferation of breast cancer cells. AACR Annual Meeting 2017 April 1-5 2017, Washington, D.C.
- 14) 長澤さや, 池田和博, 堀江公仁子, 長谷川幸清, 竹田省, 他. RNAシーケンスにより明らかにされた卵巣がん臨床検体のサブタイプ特異的遺伝子プロファイル. 第18回ホルモンとがん研究会 2017年6月23~24日, 前橋市
- 15) Ikeda K, Mitobe Y, Horie K, Inoue S. The 44th Naito Conference "Noncoding RNA: Biology, Chemistry, & Diseases" 2017. 6.27-30, Sapporo, Japan
- 16) 池田和博, 堀江公仁子, 井上聡. 呼吸鎖超複合体形成はがん増殖能・低酸素抵抗性を促進させる. 第5回がんと代謝研究会 【優秀ポスター発表賞】2017年7月13~14日, 札幌市