

特集 バイオマーカー探索を指向した先端的薬学研究 —その1—

酸化ストレス介在性病変におけるミトコンドリア機能不全の重要性について

昭和大学薬学部生体分子薬学講座腫瘍細胞生物学部門

外谷衣都子 柴沼 質子

はじめに

種々の退行性疾患に共通の病態基盤として、酸化ストレスが注目されてきた。しかし、その原因（活性酸素の発生原因）、あるいは、その結果、細胞に引き起こされる変化や応答、そして最終的な組織の機能障害について、その詳細は未だ十分には理解されておらず、病変の予防や軽減、治療へ向けて具体的な提案を行うためには、多くのことが解明されなくてはならない。

酸化ストレスは、一般には細胞内に過剰に活性酸素が産生される、もしくは外から過剰な活性酸素が負荷されることによって細胞内の活性酸素濃度が高まり、抗酸化能とのバランスが崩れて細胞内レドックスが酸化状態に傾くことから始まる。消去されなかった活性酸素は種々の生体高分子に傷害を与えることになり、最終的に組織障害が生じる。その過程で最も深刻であると考えられるのは、遺伝情報を担うDNAに対する傷害である。その場合、通常、当然のように核DNAが注目される。しかし、核内のDNAに比べてミトコンドリアDNA (mtDNA)の方が、10倍以上、活性酸素などの変異原性物質によって傷害を受けやすいことが知られている¹⁾。その原因であるが、ミトコンドリア自身が活性酸素を発生する発生源であること、ミトコンドリアにはヒストンのようなDNAを保護するタンパク質が存在しないこと、あるいは十分なDNA修復系が存在しないことなどが想定される。さらに、mtDNAの場合、一旦、変異が生じると、vicious cycleと呼ばれる負の連鎖によって、さらに変異が蓄積する。これは、以下の2つの事情に拠っている。一点目は、mtDNA

にコードされているものはすべて呼吸鎖複合体形成に必須のタンパク質やRNAであるので、mtDNAの変異は呼吸鎖の機能不全に直結すること、そして、機能不全に陥りつつある呼吸鎖からは、活性酸素が、むしろ異常に産生されるということである。要するに、mtDNAに変異が生じると呼吸鎖機能が異常となるが、異常となった呼吸鎖からは多量の活性酸素が産生されるので、さらにmtDNAに変異が生じることになるのである²⁾(図1)。これがvicious cycleであるが、その過程では細胞内に大量の活性酸素が産生されることになり、細胞/組織に非可逆的な障害をもたらされると考えられている。結論として、酸化ストレスを含むDNA傷害性の状況下では、多くの場合、ミトコンドリアに機能不全を生じていると推測され、酸化ストレス介在病変を理解し、制御するためには、ミトコンドリア機能不全を基盤とする細胞応答を理解し、制御する必要があると思われる。

以上のことは、退行性病変のみならず、悪性腫瘍の発生にも深く関わっていると考えられる。腫瘍の発生は基本的にはDNAの変異に由来し、しばしば慢性炎症が母体となることから、活性酸素がDNA変異の原因として腫瘍の発生に深く関わっている可能性がある。この場合も通常注目されるのはやはり核DNAであるが、上述のような背景を考えると、腫瘍細胞内では、核内のDNAと同時に高い確率でmtDNAにも変異を生じていると仮定せざるを得ない。事実、これまでに、様々な組織由来のがん細胞や実際のヒトがん組織において、mtDNA変異が見つまっている³⁾。中でも非コード領域であるD-loop領域に最も頻繁に変異が生じていることが明らかと

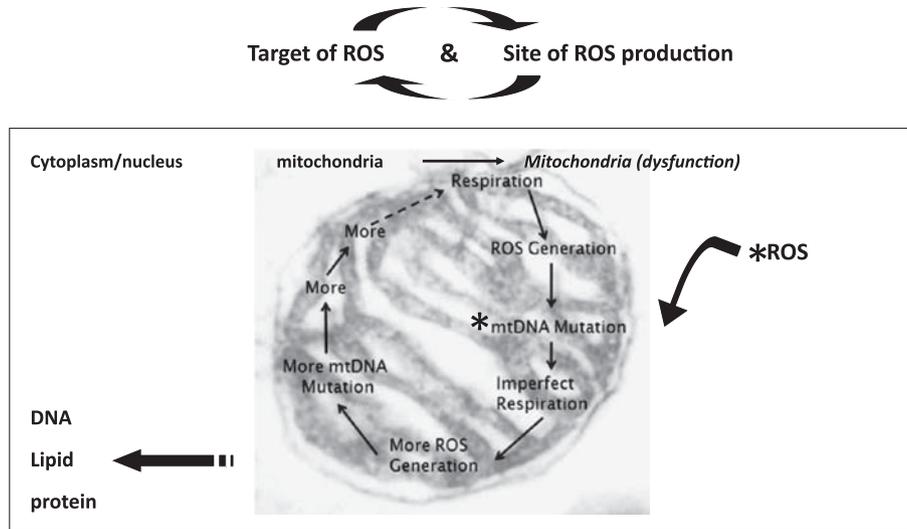


図1 活性酸素の産生/標的とミトコンドリア
ミトコンドリアは、外因性以外に内因性の活性酸素（自身の呼吸鎖から産生される）（* ROS）に常に曝されており、DNAに傷害を生じやすい（本文参照）。核DNAに比べて、10倍以上酸化修飾を受けているとされている¹⁾。

なってきた⁴⁾(図2)。特に、胃がんと肝がんでこの領域の変異の割合が高い。この領域は mtDNA の転写と複製の制御領域であり、そこに変異を生じると mtDNA 量が減少し、最終的にはミトコンドリア機能、特に呼吸鎖の機能不全に至る。しかし、これまでのところ、mtDNA 変異とがんの発生/進展との関係は、ほとんど理解されていない。

筆者らは、以上のような事実や観察結果を背景として、がんを含め酸化ストレスが関与するさまざまな病態において、ミトコンドリア機能不全がその基盤として重要な役割を果たしているのではないかと考えるに至った。本稿では、1) 酸化ストレスとミトコンドリア機能（呼吸鎖）不全の関係について、2) 呼吸鎖機能不全と細胞形質との関係について、3) ヒトがん細胞におけるミトコンドリア機能不全とがん形質との関連について、私たちのこれまでの成果を中心に紹介する。

1) 酸化ストレスとミトコンドリア機能（呼吸鎖）不全の関係について^{5,6)}

最初に、酸化ストレス下の細胞内で、実際にミトコンドリアに機能障害が生じているかどうか確認した。細胞を sublethal な濃度の H₂O₂ に暴露し、ミトコンドリア機能障害の指標として UQCRC1 (ubiquinol-cytochrome c reductase core protein 1; ミトコン

ドリア障害と相関して発現が低下する) の発現と膜電位を検討した結果、予想通り、H₂O₂ 処理により UQCRC1 の発現が特異的に顕著に減少し、膜電位も経時的に低下した。したがって、酸化ストレス下の細胞内で、ミトコンドリア（呼吸鎖）機能が低下していることが確認できた。このことは、酸化ストレスに対する細胞の応答の中に、細胞内のレドックス変化を直接の原因とするもの以外に、呼吸鎖機能不全を介したものが含まれる可能性を示唆している。

そこで、次に、この可能性について、遺伝子発現変化を指標として調べてみた。具体的には、細胞を呼吸鎖不全状態下と酸化ストレス下において発現遺伝子のゲノムワイドなプロファイルを得て両者間で比較し、どの程度両者で遺伝子変化が共有されているか検討した。細胞は主にマウス培養細胞（乳腺上皮由来 NMuMG）を用い、呼吸鎖機能不全状態としては、ミトコンドリアを枯渇させた ρ0 状態を用いた。それぞれの状態の細胞から全 RNA を抽出し、Agilent 社のマウス全ゲノム DNA マイクロアレイを用いてまずは対照と比較し、2倍以上の変化を示す遺伝子を抽出した。その後、抽出された遺伝子について、酸化ストレスとミトコンドリア枯渇間で比較した。その結果、酸化ストレスにより約 2千の遺伝子の発現が変化し、そのうち、半数以上の遺伝子がミトコンドリア枯渇によっても変化していた

Cancer type and case number	Frequency (%)	% of mutations in the D-loop region
Bladder N=14	64	30
Brain N=15	40	61
Breast N=18 N=19 N=15	61 74 93	58 81.5 38
Colorectal N=10	70	0
Head & neck N=13 N=83	46 49	67 25
Lung N=14 N=55	43 60	70 32

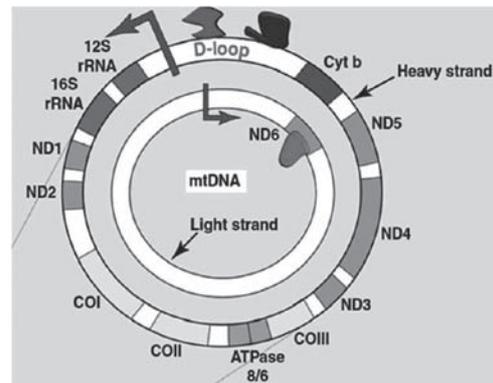


図 2 ヒトがん組織におけるミトコンドリア DNA 体細胞変異 (Int. J. Mol. Sci., 674-701. 2009⁴⁾)

(図 3, 表 1). 要するに, 酸化ストレスに対する遺伝子レベルの応答の約半数は, ミトコンドリアの呼吸鎖機能の不全を介した間接的なものである可能性が示唆された. 以上の結果は, 酸化ストレスによる細胞・組織障害の理解と制御のためには, ミトコンドリア機能に注目する必要性を改めて提起している.

ところで, ミトコンドリアには呼吸鎖以外にも様々な機能が備わっている. 従って, 上の $\rho 0$ 状態で得られた遺伝子プロファイルには, 呼吸鎖機能以外の機能の不全に由来するものも含まれていると考えられる. そこで, 次に, 呼吸鎖を直接阻害して同様に調べてみた. 本実験では, 薬物を用いて呼吸鎖不全状態を誘導した. 用いた薬物は, 呼吸鎖複合体 I, III をそれぞれ阻害する rotenone, anthimycin A である. そして, 両薬物及び $\rho 0$ 状態の 3 者で共通に発現が変化する遺伝子群を呼吸鎖不全により発現が変化するものとして抽出した (表 2). その結果, 約 50 種の遺伝子の発現が変化するが見出され, その中には細胞の形質変化やストレス応答を担う機能タンパク質とともに, 転写制御因子の遺伝子も含まれていた. 具体的には, 転写制御因子として, ストレス応答性転写因子 ATF3, CHOP-10, 増殖制御に関与する retinoblastoma-like 1 (p107) などである. 一方, 主だった機能タンパク質としては, グルタチオン

抱合・代謝に関係する glutathione S-transferase, ゲノム安定性維持に関わる GADD45, 或いは脂質代謝関連遺伝子 prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (COX-2), Akt キナーゼ阻害因子 TRB3 などの発現が顕著に変化していた. 興味深いことに, 抽出された機能タンパク質遺伝子の多くは, 同時に抽出された転写因子 CHOP, ATF3, 或いは, さらにその上流に位置すると考えられている転写因子 C/EBP β により発現制御を受けるものであった. TRB3 遺伝子をその代表例として, 制御関係について siRNA を用いて確認したところ, 実際, CHOP, C/EBP β が, TRB3 誘導に関わっていた. 要するに, CHOP, C/EBP β を始めとする一群の転写因子が活性化, または誘導され, それらにより転写のネットワークが形成され, 最終的な細胞応答が引き起こされていた. すなわち, 得られた遺伝子発現プロファイルは, その中に相互制御関係を内包して階層構造を構築しており, それが, 酸化ストレス下での細胞応答の基盤となっていることが示唆された (図 4).

2) 呼吸鎖機能不全と細胞形質との関係について⁷⁾

1) の遺伝子発現変化に関する網羅的検索の結果, ミトコンドリア機能 (呼吸鎖) 不全により種々のカテゴリーに属するタンパク質の発現が変化すること

表 1 酸化ストレスとミトコンドリア機能不全により共通に誘導される遺伝子群

Gene	Official Full Name
Gsta3	glutathione S-transferase
Akrlb7	Aldo-keto reductase family 1, member B7
Cox6a2	Cytochrome c oxidase, subunit VIa, polypeptide 2
Car6	Carbonic anhydrase 6
Dppa5	Developmental pluripotency associated 5
Ndg2	Nur77 downstream gene 2
Aldh1l2	Aldehyde dehydrogenase 1 family, member L2
Gadd45a	growth arrest and DNA-damage-inducible 45 alpha
Gch1	GTP cyclohydrolase 1
Bdh2	3-hydroxybutyrate dehydrogenase, type 2
Acox2	Acyl-Coenzyme A oxidase 2, branched chain
Ddit3 (CHOP)	DNA-damage inducible transcript 3
Gsta1	glutathione S-transferase
Trib3	tribbles homolog 3 (Drosophila)
Mmp13	matrix metalloproteinase 13

図3に示したうち、酸化ストレス、ミトコンドリア機能不全状態の両者で共通に発現が変化する遺伝子群について、変化の大きかったものから順に上位15の遺伝子を示した。

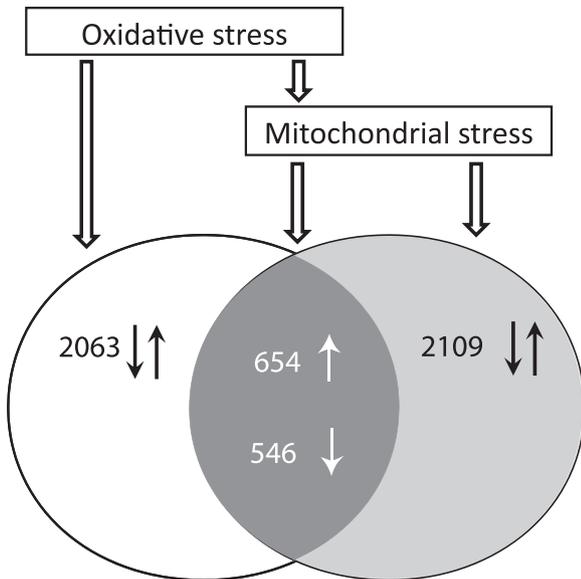


図 3 酸化ストレス下とミトコンドリア機能不全状態下の遺伝子発現変化 (概要)

マウス乳腺上皮細胞 (NMuMG) を酸化ストレス、或いはミトコンドリア機能不全状態とし、発現が変化する遺伝子群を DNA マイクロアレイにより抽出した。それぞれ場合、及び両者で共通に変化した遺伝子数を示す⁵⁾。

が分かったが、その中に、悪性化形質と関連するものが含まれていた。たとえば、細胞外基質の分解に関わる matrix metalloproteinase (MMP) 分子種のひとつである MMP-13 である (表 1, 2)。そこで MMP について、その他の分子種を調べたところ、MMP-2, -9 (gelatinase) の活性が、mRNA レベル、タンパク質レベルの制御により、呼吸鎖不全状態で上昇することが分かった⁵⁾。一方、細胞の形態変化を観察したところ、ミトコンドリアの機能低下とともに、時間を追って NMuMG (上皮細胞) に形態の扁平化と細胞間接着の乱れが観察された。具体的には、本来敷石状である細胞の配向が崩れ、細胞間接着に関わるタンパク質、E-cadherin や Zo-1 の細胞-細胞間接着部位への局在が減弱する一方、アクチンストレスファイバーの形成が見られ、全体として細胞が間葉系様に形態を変化させていた (図 5)。この変化はミトコンドリア枯渇処理だけでなく、呼吸鎖複合体阻害剤によっても誘導され、呼吸鎖活性の低下によるものであると考えられた。以前、酸化ストレス下でもミトコンドリア機能不全下と酷似した形態変化が上皮細胞に生じることを見出してお

表 2 ミトコンドリア機能不全により変化する遺伝子群

gene name	略名	Ratio to non-treated sample		
		antimycin (5 ng/mL)	rotenone (5 nM)	ρ^0
①ミトコンドリア関連				
BCL2/adenovirus E1B 19kDa-interacting protein 1, NIP3	Bnip3 (Bcl2)	8.59	3.24	2.01
②代謝関連				
aldehyde dehydrogenase 1 family, member L2	Aldh1l2	10.06	4.95	10.09
carbonic anhydrase 6	Car6	25.81	24.81	19.23
glutathione S-transferase, alpha 1 (Ya)	Gsta1	3.48	4.52	5.51
prostaglandin-endoperoxide synthase 2	Ptgs2 (Cox2)	15.56	4.33	3.18
③メタボリックシンドローム関連				
N-myc downstream regulated gene 1	Ndrp1	8.60	5.41	4.44
tribbles homolog 3 (Drosophila)	Trib3 (TRB3)	5.79	6.06	7.32, 5.48
④細胞形質 (悪性化) 関連				
activating transcription factor 3	Atf3	5.52	4.03	2.64
angiopoietin-like 6	Angptl6	12.11	3.97	7.01
DNA-damage inducible transcript 3	Ddit3 (CHOP-10)	11.61	9.17	8.25
growth arrest and DNA-damage-inducible 45 alpha	Gadd45a (Ddit1)	14.59	7.30	9.88
matrix metalloproteinase 13	Mmp13	29.61	11.86	6.54
retinoblastoma-like 1	Rbl1 (p107)	0.31	0.30	0.30
snail homolog 2 (Drosophila)	Snai2 (slug)	10.16	4.63	3.28

マウス乳腺上皮細胞 (NMuMG) を呼吸鎖阻害剤 (antimycin, rotenone) 処理, 又は ethidium bromide 処理によりミトコンドリア機能不全状態 (ρ^0) とし, 発現が変化する遺伝子群を DNA マイクロアレイにより抽出し, カテゴリー別に示した⁶⁾. 値は未処理時発現量との比を示す.

り⁸⁾, これらの観察結果は, 酸化ストレス下で呼吸鎖機能不全が生じ, それが一部原因となって細胞形態の変化 (悪性化形質) が誘導されるという一連の流れを強く支持するものである. E-cadherin を中心とした一群の細胞間接着分子について, その量的変化を検討したが, いずれの発現量にも変化は見られなかった (図 5). 一方, 細胞と細胞外基質との接着を担う代表的分子である integrin について発現量を調べたところ, integrin $\alpha 1$ の発現が mRNA レベルで顕著に低下していることが分かった. 以上のことから, 上皮形態 (細胞間接着構造) の乱れは, これらの integrin や MMP などの接着関連因子の発現, 活性変化により, 間接的に細胞間接着分子の局在や機能が影響を受けて引き起こされた可能性が考えられた.

次に, これら接着関連因子の発現や活性が変化するメカニズムについて検討を加えた. 先に同定したミトコンドリアストレス制御因子 CHOP-10 (転写因子), ならびにミトコンドリア依存性 Ca^{2+} ホメオスタシス異常時に活性化される転写因子 CREB (cAMP response element binding protein)⁹⁾ について, その関与の有無を shRNA や低分子阻害剤を用いて調べた. その結果, MMP-13 の発現誘導は CHOP により, 一方, integrin $\alpha 1$ の発現抑制は CREB の下流で制御されていることが分かった. 細胞間接着の乱れに関しては, CREB を阻害することにより抑制され, 上皮形態が回復したことから, CREB の活性化が上皮形態の喪失に関わっていることが示唆された. さらに, そのメカニズムについて検討したところ, 活性化された CREB によって, 上皮-間充織

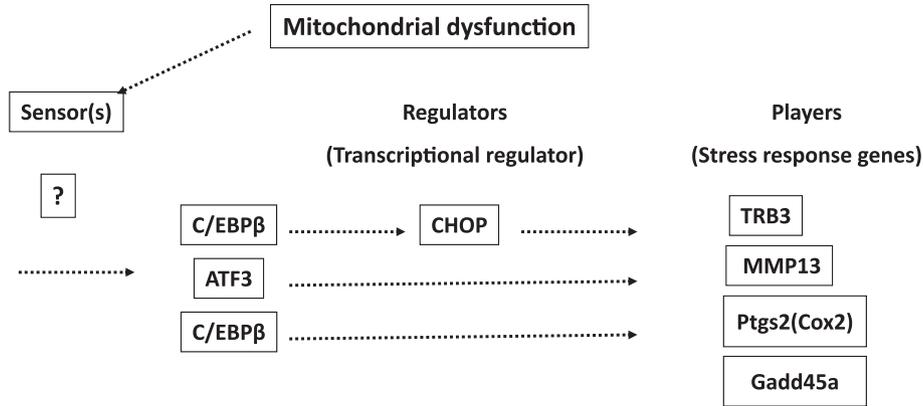


図 4 ミトコンドリア機能不全による遺伝子発現制御機構 (仮説)
 ミトコンドリア機能不全下では、転写因子 (C/EBP β , ATF3 等) の誘導 / 活性化を引き金とする転写制御ネットワークが活性化される。その活性化により、転写因子 (CHOP) の誘導等を経て、最終的なストレス応答が誘導される⁶⁾。各遺伝子については表 2 参照。

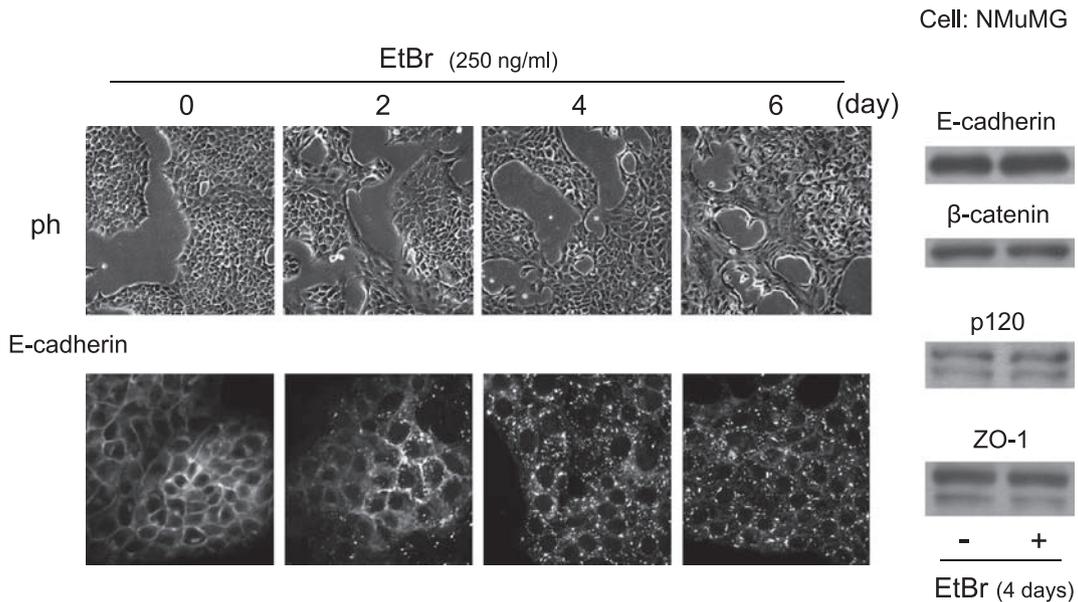


図 5 ミトコンドリア機能不全細胞における上皮形態の喪失
 マウス乳腺上皮細胞 (NMuMG) を ethidium bromide (EtBr) 処理によりミトコンドリア機能不全状態 (p0) としたときの細胞形態の時間変化 (ph: 0 ~ 6 日目), ならびに処理 4 日目の細胞内の細胞間接着に関わるタンパク質 (E-cadherin, β -catenin, p120, ZO-1) の発現を示す⁷⁾。また, E-cadherin については, EtBr 処理 0 ~ 6 日目の細胞内局在も示す (細胞免疫染色による)。

転換 (EMT) の誘導因子である HMGA2 が, タンパク質の安定化を介して誘導され, その結果, Snail 等の EMT 制御転写因子の発現が上昇して EMT 様の形態変化が引き起こされた可能性が示された。ちなみに, HMGA2 は, 核内に存在する非ヒストンタンパク質であり, DNA 高次構造の変化等を介して

Snail を含む標的遺伝子の転写を制御する。多様ながん組織で過剰発現が報告されており, がん遺伝子の一種と考えられる。

以上, マウスの呼吸鎖不全モデル細胞では, 呼吸鎖機能不全により上皮形質が失われるが, それには, CHOP による MMP-13 の誘導, あるいは,

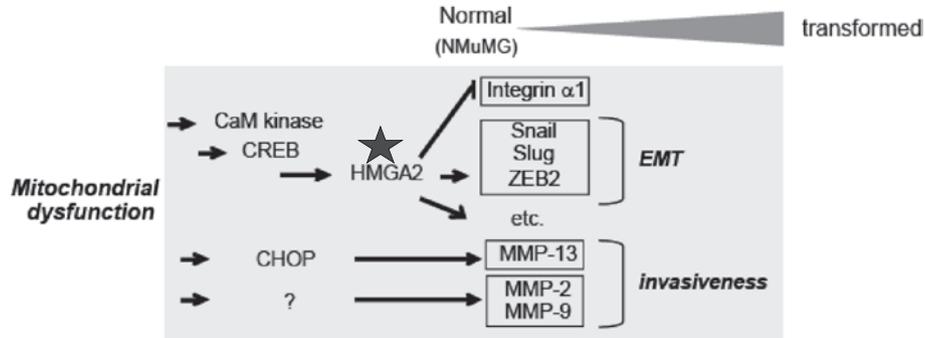


図 6 ミトコンドリア機能不全による上皮形態の喪失機序 (仮説)

ミトコンドリア機能不全による上皮形質喪失について, calcium/calmodulin kinase (CaM kinase) からのシグナル伝達により転写因子 CREB が活性化されて, HMGA2 が誘導される経路の関与が示された⁷⁾. HMGA2 は転写制御に関わり, 上皮-間充織転換 (EMT) を制御する一連の転写因子 (Snail, Slug, ZEB2 など) の誘導を介して, 悪性化形質の誘導に働く. また, HMGA2 経路とは別に, ミトコンドリア機能不全下で誘導される転写因子 CHOP (CHOP-10) が, 細胞外マトリックス分解酵素, matrix metalloproteinase (MMP) -13 の誘導に働く経路の存在も示された⁷⁾.

CREB/HMGA2 経路による EMT 制御因子の誘導, integrin $\alpha 1$ の発現抑制が寄与していることが示された (図 6).

3) ヒトがん細胞におけるミトコンドリア機能不全とがん形質との関連について⁷⁾

最近の報告によると, 調べられたほとんどのヒトがんで, mtDNA 上に変異が見つかる. それらのケースでは, 上述 2) のモデル細胞で明らかとなった CHOP-10 や CREB の活性化が, 発生や進展過程に関与している可能性がある.

そこで, 種々のヒトがん組織由来細胞株 10 種について, CHOP の発現量, ならびに CREB の活性化とその下流で発現が上昇する HMGA2 の発現量を調べたところ, 肝がん細胞株 HepG2 において, CREB の活性化と HMGA2 の発現上昇が同時に生じていた. CHOP の発現は, 1 株を除いて検出できなかった. そこで, HepG2 での CREB の活性化と HMGA2 の関係についてさらに検討したところ, CREB の阻害により HMGA2 の発現が抑制された. 従って, ヒトがん細胞でも先のマウスモデル細胞同様に CREB/HMGA2 経路が活性化されているケースが存在することがわかった. さらに, CREB の活性化に関わる上流のキナーゼについて, 阻害剤を用いて検討したところ, calcium/calmodulin kinase であることが分かった. 興味深いことに, このキ

ナーゼはミトコンドリアストレス下で機能して, CREB をリン酸化 / 活性化する責任キナーゼであることが報告されていた¹⁰⁾. 従って, HepG2 でもミトコンドリアストレス (呼吸鎖不全) が生じており, それが背景となって CREB/HMGA2 経路が活性化された可能性が想定された. 最近になって, HepG2 のミトコンドリア全 DNA 配列が決定され, 実際に呼吸鎖機能が不全になる変異が生じていることが報告された¹¹⁾.

続いて, CREB/HMGA2 経路のがん形質獲得における意義について, HepG2 を用いて検討した. その結果, 先のマウスモデル細胞 NMuMG と異なり, このがん細胞の場合, Snail やその他 EMT 制御因子の発現レベルは CREB に依存していなかった. integrin $\alpha 1$ は, HepG2 でも CREB によって抑制的に制御されていることが分かった. integrin $\alpha 1$ は collagen 特異的な細胞外基質受容体であるので, HepG2 の接着性の変化を検討したところ, CREB 経路を阻害することにより, collagen への接着性が特異的に上昇し, 当該経路の細胞接着性制御における重要性が示された. 一方, 最近, HMGA2 の機能について, 肝細胞がん内で, 肝細胞の中心的な分化制御因子である HNF4 α の発現を負に制御していることが分かり, HMGA2 が上昇すると, HNF4 α の発現が低下して, 分化形質が抑制されることが示唆された (未発表).

最後に

以上のように、mtDNAに変異が生じているがん細胞で、その変異が、実際にがん形質の制御に関わっている実態が徐々に明らかになってきた。今後、mtDNA変異/呼吸鎖機能が不全に陥った場合、どのような経路を経てCREBの活性化やHMGA2の発現が制御されるのかその制御機構を解析し、mtDNA変異とがん形質との関わりを明らかにしたいと思っている。mtDNA変異/呼吸鎖機能不全からCREB/HMGA2機能活性化に至る経路の抑制は、呼吸鎖機能不全が背景にあるがんの治療戦略となりうる可能性を秘めている。また、現在、抗悪性腫瘍薬の問題点の一つに奏効率の低さが挙げられるが、原因の一つとして、治療対象患者の選別が不十分であることが考えられる。CREB/HMGA2経路の活性化状態の検出は、その腫瘍が、呼吸鎖機能不全を背景とすることを意味し、治療患者の選別に有効なバイオマーカーとして機能する可能性を持つ。今後、実際のヒトがん組織を用いて、mtDNA変異/呼吸鎖機能によるCREB/HMGA2経路活性化のがん化における意義とその抑制による悪性化抑制の可能性を検討し、その抑制手段のがん治療における有用性を検証していきたいと考えている。

文 献

- 1) Van Houten B, Woshner V, Santos JH. Role of mitochondrial DNA in toxic responses to oxidative stress. *DNA Repair (Amst)*. 2006;5:145-152.
- 2) Ralph SJ, Rodriguez-Enriquez S, Neuzil J, *et al*. The causes of cancer revisited: "Mitochondrial malignancy" and ROS-induced oncogenic transformation—Why mitochondria are targets for cancer therapy. *Mol Aspects Med*. 2010;31:145-170.
- 3) Chatterjee A, Mambo E, Sidransky D. Mitochondrial DNA mutations in human cancer. *Oncogene*. 2006;35:4663-4674.
- 4) Lee H-C, Wei Y-H. Mitochondrial DNA instability and metabolic shift in human cancers. *Int J Mol Sci*. 2009;10:674-701.
- 5) Shibamura M, Inoue A, Ushida K, *et al*. Importance of mitochondrial dysfunction in oxidative stress responses: A comparative study of gene expression profiles. *Free Radic Res*. 2011;45:672-680.
- 6) Ishikawa F, Akimoto T, Yamamoto H, *et al*. Gene expression profiling identifies a role for CHOP-10 during inhibition of the mitochondrial respiratory chain. *J Biochem*. 2009;146:123-132.
- 7) Shibamura M, Ishikawa F, Kobayashi M, *et al*. Critical roles of the cAMP-responsive element-binding protein-mediated pathway in disorganized epithelial phenotypes caused by mitochondrial dysfunction. *Cancer Sci*. 2012;103:1803-1810.
- 8) Mori K, Shibamura M, Nose K. Invasive potential induced under long-term oxidative stress in mammary epithelial cells. *Cancer Res*. 2004;64:7464-7472.
- 9) Arnould T, Vankoningsloo S, Renard P, *et al*. CREB activation induced by mitochondrial dysfunction is a new signaling pathway that impairs cell proliferation. *EMBO J*. 2002;21:53-63.
- 10) Copanaki E, Schurmann T, Eckert A, *et al*. The amyloid precursor protein potentiates CHOP induction and cell death in response to ER Ca²⁺ depletion. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1773:157-165.
- 11) Gao W, Xu K, Li P, *et al*. Functional roles of superoxide and hydrogen peroxide generated by mitochondrial DNA mutations in regulation tumorigenicity of HepG2 cells. *Cell Biochem Funct*. 2011;29:400-407.

[受付：1月6日，受理：2月19日，2015]