

図3 PDE1 活性に対する DIF-1 の阻害作用 (文献 14 より引用) *in vitro* における PDE1 活性に対する DIF-1 の阻害効果を calmodulin (CaM) 存在下 (A) および非存在下 (B: PDE1 は CaM 非存在下でもある程度の活性がある) で測定し, W-7 (CaM 阻害剤) や calmidazolium (CZM: CaM 阻害剤かつ PDE1 阻害剤) の効果と比較した。(註) DIF-3 についても PDE1 を阻害することがわかっている。

と DA の構造的類似」は果たして ‘偶然の賜物’ なのだろうか? 前述のように粘菌類と真菌類は進化的隔たりが大きい。ならば, DIF-1 と DA に共通の化学構造を有する物質 (DIF 様因子) は, 種を超えてすべての粘菌類と真菌類に保存され, それぞれの細胞分化に重要な役割を果たしているのではないだろうか? ならば, 抗腫瘍因子として同定された DA もその産生母体である *Chaetomium* (真菌) において細胞分化に関わる何らかの役割を果たしていることが推察される。もしそうであれば, いろいろな種由来の DIF 様因子も探索してみたい。

話は少し飛躍するが, 我々哺乳類にも内在性 DIF 様因子・DIF 類縁因子なるものが存在する可能性もないとは言えない。そして, 「DIF-1 や DA はその内在性因子の働きを代替したり, 乱したりすることによって抗腫瘍作用を発揮した」という可能性も否定できない。等々, 楽しい空想は止まらないが, 今後の DIF 研究の進展がこれらの疑問を解決してくれるだろう。

本稿を終えるにあたり, 共同研究者の皆様に深く感謝いたします。尚, 本稿は文献 15 の続編であり (便宜上, 一部重複もあるが), 興味のある方は参照されたい。

- 1) 大島吉輝, 伊東 明 (2000) モデル生物: 細胞性粘菌 (前田靖男編), pp. 343-354, アイピーシー, 東京.
- 2) 前田靖男 (2006) パワフル粘菌, 東北大学出版会, 仙台.
- 3) Morris, H.R., Taylor, G.W., Masento, M.S., Jermyn, K.A., & Kay, R.R. (1987) *Nature*, 328, 811-814.
- 4) Oka, H., Asahi, K., Morishima, H., Sanada, M., Shiratori, K., Iimura, Y., Sakurai, T., Uzawa, J., Iwadare, S., & Takahashi, N. (1985) *J. Antibiot.*, 38, 1100-1102.
- 5) Kubohara, Y., Okamoto, K., Tanaka, Y., Asahi, K. Sakurai, A.,

& Takahashi, N. (1993) *FEBS Lett.*, 322, 73-75.

- 6) Asahi, K., Sakurai, A., Takahashi, N., Kubohara, Y., Okamoto, K., & Tanaka, Y. (1995) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 208, 1036-1039.
- 7) Kubohara, Y., Saito, Y., & Tatemoto, K. (1995) *FEBS Lett.*, 359, 119-122.
- 8) Kubohara, Y. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 236, 418-422.
- 9) Miwa, Y., Sasaguri, T., Kosaka, C., Taba, Y., Ishida, A., Abumiya, T., & Kubohara, Y. (2000) *Circ. Res.*, 86, 68-75.
- 10) Kuno, M., Shimakura, M., Furuta, Y., Terashima, N., Hosaka, K., & Kubohara, Y. (2002) *Kitakanto Med. J.*, 52, 253-256.
- 11) Kubohara, Y. (1999) *Eur. J. Pharmacol.*, 381, 57-62.
- 12) Akaishi, E., Narita, T., Kawai, S., Miwa, Y., Sasaguri, T., Hosaka, K., & Kubohara, Y. (2004) *Eur. J. Pharmacol.*, 485, 21-29.
- 13) Gokan, N., Kikuchi, H., Nakamura, K., Oshima, Y., Hosaka, K., & Kubohara, Y. (2005) *Biochem. Pharmacol.*, 70, 676-685.
- 14) Shimizu, K., Murata, T., Tagawa, T., Takahashi, K., Ishikawa, R., Abe, Y., Hosaka, K., & Kubohara, Y. (2004) *Cancer Res.*, 64, 2568-2571.
- 15) 久保原 禪 (1997) 生化学, 69, 1191-1195.

久保原 禪  
(群馬大学生体調節研究所)

Pharmacological activities of the *Dictyostelium* differentiation-inducing factor-1 (DIF-1): Cellular slime molds are fascinating lower eukaryotes!  
Yuzuru Kubohara (Gunma University Institute for Molecular and Cellular Regulation, 3-39-15 Showa-machi, Maebashi 371-8512, Japan)

ヒト ABC トランスポーター ABCG2 の遺伝子多型: ポルフィリン症のリスクとタンパク質品質管理機構

はじめに

現在, 「個の医療」の実現に向けた取り組みが世界規模で進んでいる。一塩基多型 (SNP, single nucleotide polymorphisms) は個人間における DNA の塩基配列の違いを示し,

薬剤応答性や疾患感受性における個人差と関係すると考えられている。ABC (ATP-binding cassette) トランスポーターにおいても遺伝子多型が数多く報告されており、臨床で本当に重要な SNP を同定することが今後の大きな課題となっている。

ABC トランスポーター遺伝子は、細菌から酵母、植物、哺乳類に至る広い生物種に分布して、多様な生理的役割を担っている。ヒトでは現在までに 48 種の ABC トランスポーターが同定されており、それらはタンパク質の一次構造の特徴に基づいて七つのサブファミリー (A から G) に分類される。これまでの臨床的研究結果から、ヒト ABC トランスポーター遺伝子の異常によって様々な疾患が引き起こされることが判明した。例えば、ABCC2 (cMOAT/MRP2) の遺伝子変異はビリルビン抱合体の輸送障害を起し Dubin-Johnson 症候群を引き起こす。また、ABCA1 遺伝子における変異は Tangier 病の要因である。

一方、ポストゲノム時代の分子生物学において、「タンパク質の品質管理」というパラダイムシフトが浸透してきている。タンパク質がそれぞれの機能や酵素活性などを最大限に発揮するためには、正しい立体構造を獲得していることが必要不可欠である。真核細胞において、膜タンパク質は小胞体内でフォールディングされるが、タンパク質のフォールディングにおいて重要な鍵を握っているのが、翻訳後修飾である。ヒト ABC トランスポーターの一つである ABCG2 (BCRP/MXR1/ABCP) は、ATP 依存的に生体異物や薬物の輸送に関与することで生体の防御システムを構築する膜タンパク質である。ABCG2 も他の膜タンパク質と同様、様々な翻訳後修飾を受けることが知られている。筆者らは、ABCG2 のジスルフィド結合は二量体形成に関与する一方、タンパク質の発現レベル、糖鎖付加、形質膜への移行に重要な役割を担っていることを明らかにした。正しいフォールディングのなされた ABCG2 は小胞体からゴルジ系に輸送され細胞形質膜上に発現されるが、遺伝子多型によってフォールディングがうまくいかず、正しい高次構造がとれなかった ABCG2 は、ミスフォールドタンパク質として小胞体内に蓄積され、いわゆる「小胞体ストレス」を引き起こすと考えられる。

本稿では、ヒト ABC トランスポーター ABCG2 の遺伝子多型とポルフィリン症リスクとの関係、および遺伝子多型による ABCG2 タンパク質の不安定化・分解メカニズムについて概説する。

## 1. ABCG2 における SNP と光線過敏症のリスク

ABC トランスポーターの一つである ABCG2 は、アントラサイクリン耐性の乳がん細胞株、ミトキサントロン耐性のヒト大腸がん細胞株、そしてヒト胎盤 cDNA ライブラリーからクローニングされた新規の ABC トランスポーターである<sup>1-3)</sup>。ABCG2 についても、これまでに 80 種以上の遺伝子多型が報告されているが、その生理的・病理的な関連性については、まだ十分に解明されていない<sup>4)</sup>。近年、筆者らは ABCG2 の遺伝子多型の中でもアミノ酸置換を伴う 16 種の SNP に注目し、その機能および発現レベルへの影響を解明した<sup>5)</sup>。その結果、SNP を導入した ABCG2 バリエーションにおいて、次の三つの変化が認められた。

- (a) ABCG2 タンパク質の安定性が変化し、発現レベルが変わる。
- (b) 細胞内で作られた ABCG2 タンパク質が形質膜に移行せず、細胞内に留まる。
- (c) 薬物輸送における基質特異性または活性が変化する。

一方、Jonker らは、ABCG2 のオルソログである *Abcg2* 遺伝子をノックアウトしたマウスを作製し、興味深い報告をした<sup>6)</sup>。即ち、クロロフィルの分解物でポルフィリン類似骨格を持つフェオフォルバイド a (図 1B) によって、*Abcg2* ノックアウトマウスはポルフィリン症に酷似する皮膚の光線過敏症を発症したのである。

ポルフィリンはヘモグロビン、ミオグロビンのほか、全ての体内細胞におけるシトクロムの補欠分子族ヘムの基本骨格であり、生命維持に不可欠な生体物質である。しかし一方で、400-600 nm の光によって励起され、活性酸素種である一重項酸素を生成するという特徴を持つ。一重項酸素は DNA の切断や脂質・タンパク質の酸化を引き起こし、細胞死を誘発する (図 1C)。ポルフィリン症はポルフィリンの過剰蓄積が原因となった疾患である。ヘム合成経路における各酵素の遺伝的障害により、ヘム合成の中間体が過剰に蓄積することでポルフィリン症は生じる。その症状は神経症状、精神症状、腹部症状など多岐にわたるが、多くの患者において皮膚の光線過敏症を合併することが特徴である。

筆者らは、ABCG2 によるポルフィリンの直接輸送を証明するために、野生型 ABCG2 を Sf9 昆虫細胞に発現させて、その細胞から形質膜ベシクルを調製した。形質膜ベシクルにおけるポルフィリン輸送を測定した結果、野生型 ABCG2 は ATP 依存的なポルフィリン能動輸送を示した。遺伝子多型の影響を検証するために、アミノ酸置換を伴う

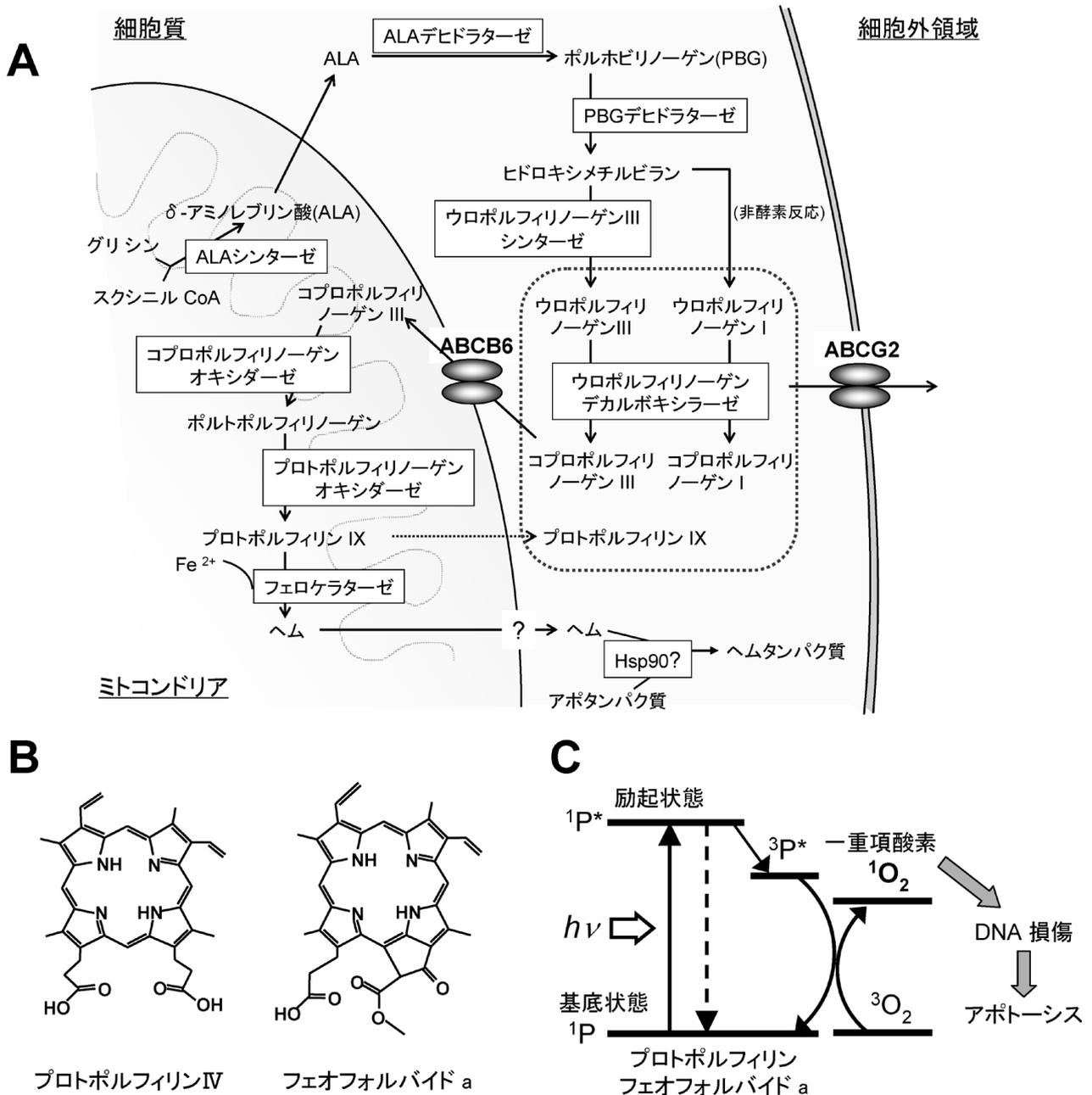


図 1

**A: ポルフィリン・ヘムの生合成**  
 ヘム生合成はミトコンドリアと細胞質の二つのコンパートメントで行われ、8種の酵素（枠付き）が関与する。最初の間体であるアミノレブリン酸（ALA）はミトコンドリアで生成し、速やかに細胞質へと移行する。ポルフィリン中間体であるウロポルフィリン、コプロポルフィリンは細胞質で生成する。コプロポルフィリンは ABCB6 によってミトコンドリアへ輸送される一方、細胞質内で過剰となったポルフィリンは ABCG2 によって細胞外へと排出されると考えられる。

**B: プロトポルフィリンとフェオフォルバイド a の化学構造**

**C: ポルフィリンによる一重項酸素生成のメカニズム**  
 ポルフィリンは 400-600 nm の可視光によって励起され、励起一重項状態となる。項間交差反応によって生じた三重項状態のポルフィリンはエネルギー変換により、酸素原子（三重項）を励起し、一重項酸素を生成する。一重項酸素は強力な酸化作用を持ち、細胞死を誘発する。

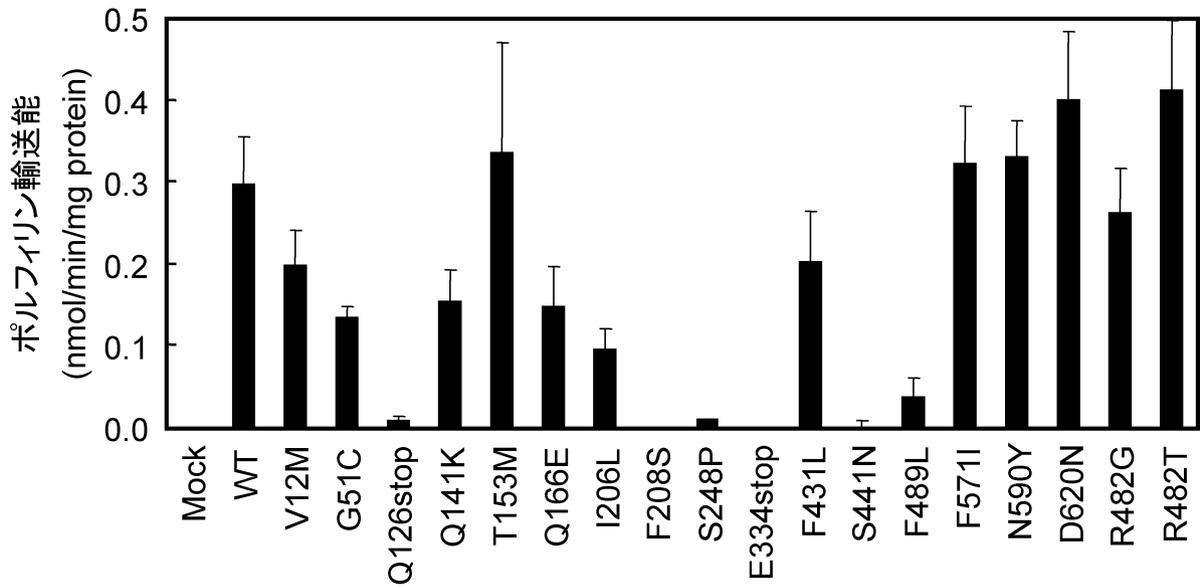
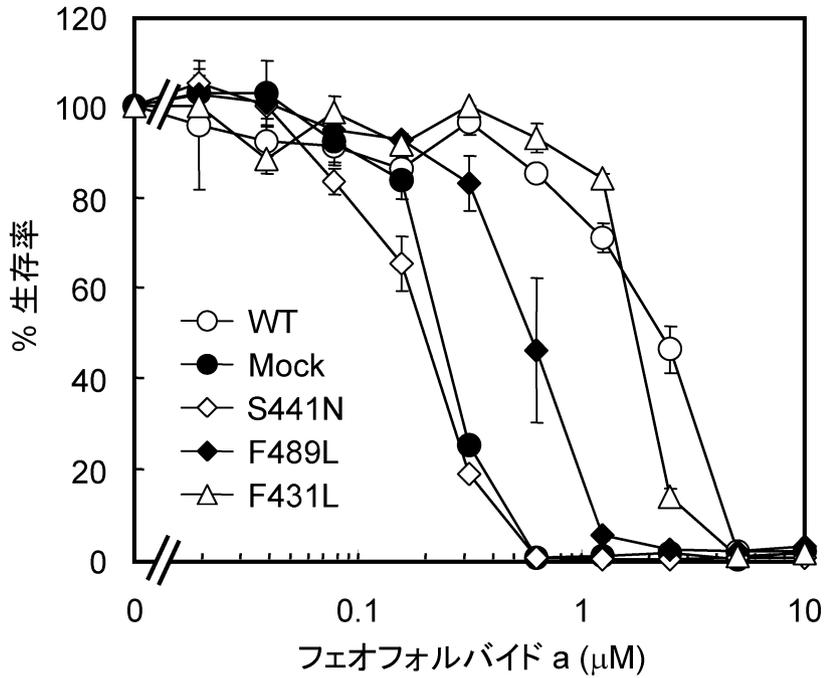
**A****B**

図2

A: 野生型 ABCG2 およびアミノ酸置換を伴う SNP バリエントにおけるポルフィリン輸送能

ヘマトポルフィリン輸送能は変異体間で異なり、特に Q126stop, F208S, S248P, E334stop, S441N, F489L の 6 種の変異体では大きく低下した。

B: フェオフォルバイド a による光感受性

野生型および各 SNP を導入したバリエントを HEK 細胞に発現させ、フェオフォルバイド a (0-10 μM) を加えて培養、光毒性に対する感受性を測定した。

16種のSNPバリエントをSf9細胞に発現させて、同様のポルフィリン輸送機能を測定した。その結果、6種類(Q126stop, F208S, S248P, E334stop, S441N, F489L)では野生型に比べポルフィリン輸送能が大きく低下することが判明した<sup>5)</sup>(図2A)。さらに、これらのバリエントをHEK293細胞に発現させてフェオフォルバイドaに起因する光感受性を調べたところ、F489Lでは野生型と比べ10倍以上、F208SとS441NではMock程度にまで感受性が上昇することが明らかとなった(図2B)。また、それぞれのバリエントについてHEK293細胞でのタンパク質発現量を調べたところ、F208SとS441Nの2種類では発現量が顕著に低下していた<sup>7)</sup>。この2種類のバリエントでは、変異によってタンパク質の構造が不安定化し、速やかに分解されていると考えられる。これらのSNPアリルを持つ人は、ポルフィリンの蓄積による光線過敏症を引き起こすリスクを持つことが予想される。

幹細胞においてもABCG2の高発現が認められている。造血幹細胞におけるABCG2の発現は造血幹細胞の未分化性の維持に関与していると考えられている<sup>8)</sup>。また、低酸素環境下においては、ABCG2がポルフィリンの蓄積を防ぐことで幹細胞を保護しているとも考えられている<sup>9)</sup>。さらに最近、ミトコンドリアのABCトランスポーターであるABCB6が、細胞質からミトコンドリアへのポルフィリン輸送に関与していることが報告された<sup>10)</sup>。ABCG2とABCB6は、ポルフィリン合成における細胞内コンパートメンテーションと恒常性において重要な役割を果たしていることが推測される(図1A)。

## 2. ABCG2における品質管理機構

ABCG2は、いわゆるハーフABCトランスポーターであるが、細胞形質膜上でCys残基を介したジスルフィド結合によりホモ二量体を形成し機能している<sup>11,12)</sup>。最近筆者らは、ABCG2の第5と第6膜貫通領域にある細胞外ループに存在するCys603がジスルフィド結合を形成して二量体形成に関与していることを報告した<sup>13,14)</sup>。

一方、ABCG2の細胞外ループには、二量体形成に関与するCys603の他、Cys592, Cys608の計三つのCys残基が存在する。二量体形成に関与しないCys592, Cys608にそれぞれ変異をいれたABCG2をHEK293細胞に発現させると、その発現量は野生型と比較して顕著に低下した。以上の結果より、Cys592, Cys608はペプチド内ジスルフィド結合を形成し、ABCG2のタンパク質品質管理と細胞形質膜への移行に関与する可能性が示唆された。図3は、

ABCG2タンパク質の一連の過程[転写・翻訳・合成・翻訳後修飾・細胞膜ソーティング・分解]予測を模式的に示す。タンパク質のフォールディングにおいて、ジスルフィド結合形成は重要な役割をしている。細胞内ジスルフィド結合が形成されないことにより、ABCG2はタンパク質としての構造が不安定化され、ミスフォールドタンパク質としてタンパク質分解経路へと分泌されていると考えられる<sup>15)</sup>。

興味深いことに、アミノ酸置換を伴う16種のSNPバリエントQ141K(Gln141Lys)のHEK293細胞でのタンパク質発現レベルは野生型の約50%であることがわかった。さらに、F208S(Phe208Ser)とS441N(Ser441Asn)のバリエントでは、mRNAレベルが野生型と同じであるにもかかわらず、タンパク質発現レベルは極めて低かった。これらの遺伝子多型では、ミスフォールドタンパク質と認識されて、ユビキチン化が起こりプロテアソームで分解されている可能性が示唆された<sup>7)</sup>。

## 3. 小胞体におけるタンパク質の品質管理

タンパク質の品質は、様々な管理機構によって精密に管理されている。タンパク質がそれぞれの機能や酵素活性などを最大限に発揮するためには、正しい立体構造を獲得していることが必要不可欠である。タンパク質のフォールディングにおいて重要な鍵を握っているのが、小胞体でなされる様々な翻訳後修飾で、代表的なものにN結合型糖鎖付加やジスルフィド結合形成があげられる。N結合型糖鎖付加は、タンパク質のアミノ酸コンセンサス配列(Asn-X-Ser/Thr)のAsn残基に起こる。N結合型糖鎖を持った糖タンパク質は、引き続いてゴルジ体で多様な糖鎖の修飾を受けた後、最終目的地へと輸送される。糖鎖は病原性や自己・非自己の認識に関わるなど多彩な機能を発揮している。一方で、ジスルフィド結合は、プロテインジスルフィドイソメラーゼ(PDI)やそのファミリータンパク質と呼ばれるシャペロンタンパク質の助けを借りて行われる。PDIファミリータンパク質によって、ジスルフィド結合の形成、掛け替えが行われることで、タンパク質のフォールディングはより促進される。PDIファミリータンパク質(例、ERp57)は、ジスルフィド結合を作らないタンパク質に対しても凝集抑制や高次構造形成の補助などを行う<sup>16,17)</sup>。

合成されたタンパク質のうち、ミスフォールドし、正しい高次構造がとれなかったものは、分泌されることなく小胞体内に蓄積される。これらのミスフォールドタンパク質

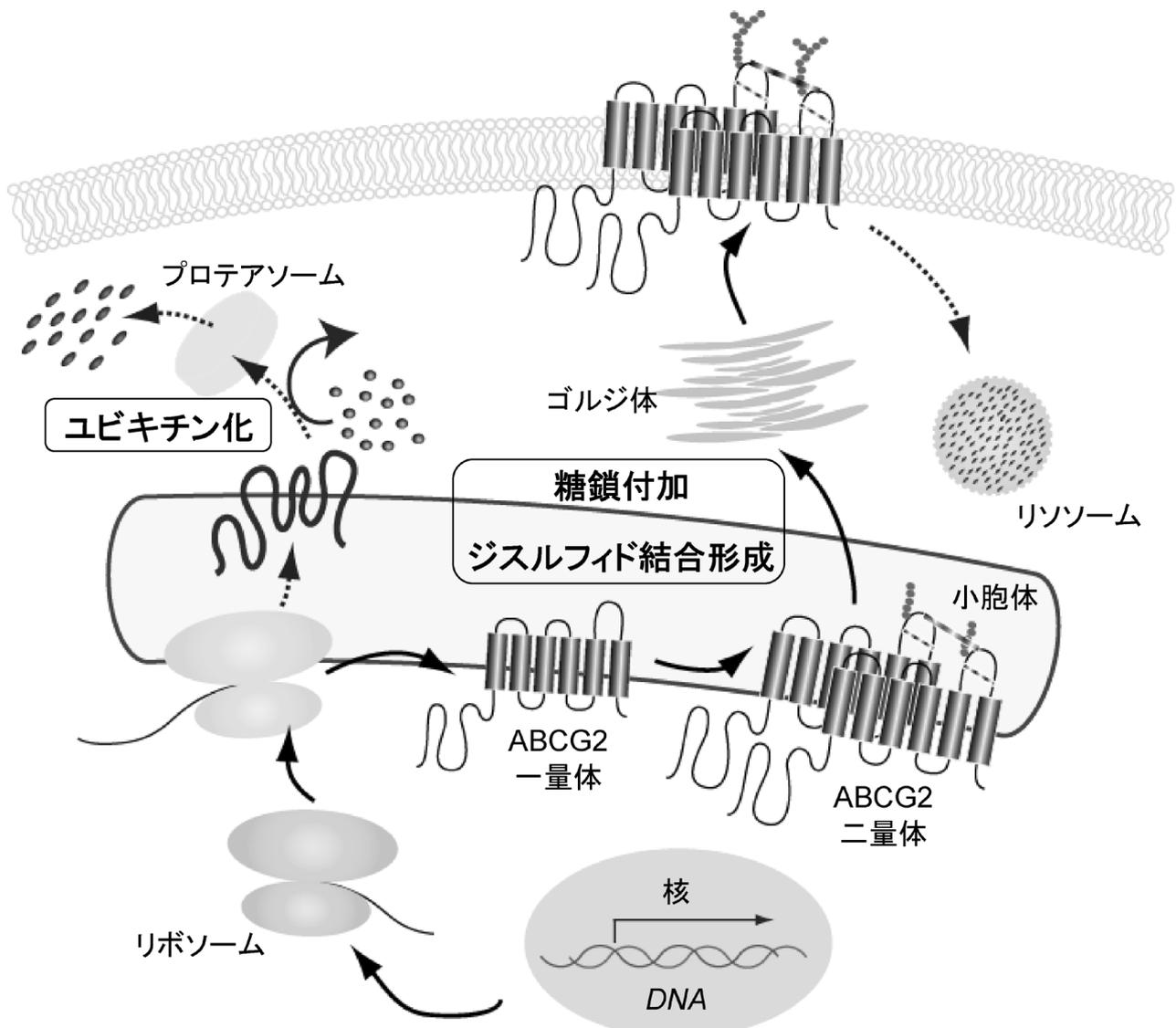


図3：ABCG2の細胞内移行予測図

リボソームにおいて合成された ABCG2 は、小胞体内において、翻訳後修飾（ジスルフィド結合、*N* 結合型糖鎖付加）を受ける。Cys 603 は二量体に関与するジスルフィド結合を形成し、Cys592 と Cys608 は分子内ジスルフィド結合を形成すると考えられる。また、Asn596 において *N* 結合型糖鎖付加を受ける。その後、ゴルジ体においてさらなる糖鎖修飾を受けた後、細胞膜にソーティングされる。一方、小胞体内で正しくフォールディングや翻訳後修飾のなされなかった ABCG2 は、ERAD 関連のシャペロンタンパク質と相互作用し、小胞体外へ排出、サイトゾルにおいてユビキチン化を受けプロテアソームによって分解されると考えられる。

は、小胞体膜上の親水性チャネルを通して小胞体の外にくみ出され、糖鎖の除去、ユビキチン化が起こった後、細胞質のプロテアソームタンパク質分解系により、小さなペプチドに分解される<sup>18)</sup>。ユビキチン・プロテアソーム系とオートファージ・リソソーム系の二つのタンパク質分解のうち、小胞体関連分解（ERAD）である「ユビキチン依存性タンパク質分解系」の発見によって、Arron Ciechanover,

Avram Hershko, Irwin Rose は 2004 年のノーベル化学賞に輝いた。そして現在、この分野は破竹の勢いで発展している。

#### おわりに

細胞内のタンパク質品質管理の異常によるミスfoldドタンパク質やユビキチン化タンパク質の細胞内異常蓄

積・凝集が原因と考えられる疾患は、アルツハイマー病などの神経変性疾患を始めとして様々報告されている。これまで、がんの多剤耐性の一因として注目されてきた ABCG2 であるが、今回新たに、ポルフィリン由来の光酸素障害を回避する生理的防御機構としての役割を見出した。また ABCG2 は、イリノテカンの代謝活性化体である SN-38, ミトキサントロン, トポテカンなどの抗がん剤をエネルギー依存的に細胞外に排出するポンプとして働き、その結果 ABCG2 を発現するがん細胞はこれらの抗がん剤に抵抗性を示す<sup>19)</sup>。がん細胞に発現した ABCG2 遺伝子多型と機能 (基質特異性)・発現レベルとの関係を解析することは、今後の多剤耐性克服にむけても重要となるであろう。

- 1) Allikmets, R., Schriml, L.M., Hutchinson, A., Romano-Spica, V., & Dean, M. (1998) *Cancer Res.*, 58, 5337-5339.
- 2) Doyle, L.A., Yang, W., Abruzzo, L.V., Krogmann, T., Gao, Y., Rishi, A.K., & Ross, D.D. (1998) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 95, 15665-15670.
- 3) Miyake, K., Mickley, L., Litman, T., Zhan, Z., Robey, R., Cristensen, B., Brangi, M., Greenberger, L., Dean, M., Fojo, T., & Bates, S.E. (1999) *Cancer Res.*, 59, 8-13.
- 4) Ishikawa, T., Tamura, A., Saito, H., Wakabayashi, K., & Nakagawa, H. (2005) *Naturwissenschaften*, 92, 451-463.
- 5) Tamura, A., Watanabe, M., Saito, H., Nakagawa, H., Kamachi, T., Okura, I., & Ishikawa, T. (2006) *Mol. Pharmacol.*, 70, 287-296.
- 6) Jonker, J.W., Buitelaar, M., Wagenaar, E., Van Der Valk, M.A., Scheffer, G.L., Scheper, R.J., Plosch, T., Kuipers, F., Elferink, R.P., Rosing, H., Beijnen, J.H., & Schinkel, A.H. (2002) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 99, 15649-15654.
- 7) Tamura, A., Wakabayashi, K., Onishi, Y., Takeda, M., Ikegami, Y., Sawada, S., Tsuji, M., Matsuda, Y., & Ishikawa, T. (2007) *Cancer Sci.*, 98, 231-239.
- 8) Zhou, S., Schuetz, J.D., Bunting, K.D., Colapietro, A.M., Sampath, J., Morris, J.J., Lagutina, I., Grosveld, G.C., Osawa, M., Nakauchi, H., & Sorrentino, B.P. (2001) *Nat. Med.*, 7, 1028-1034.
- 9) Krishnamurthy, P., Ross, D.D., Nakanishi, T., Bailey-Dell, K., Zhou, S., Mercer, K.E., Sarkadi, B., Sorrentino, B.P., & Schuetz, J.D. (2004) *J. Biol. Chem.*, 279, 24218-24225.
- 10) Krishnamurthy, P.C., Du, G., Fukuda, Y., Sun, D., Sampath, J., Mercer, K.E., Wang, J., Sosa-Pineda, B., Murti, K.G., & Schuetz, J.D. (2006) *Nature*, 443, 586-589.
- 11) Kage, K., Tsukahara, S., Sugiyama, T., Asada, S., Ishikawa, E., Tsuruo, T., & Sugimoto, Y. (2002) *Int. J. Cancer*, 97, 626-630.
- 12) Mitomo, H., Kato, R., Ito, A., Kasamatsu, S., Ikegami, Y., Kii, I., Kudo, A., Kobatake, E., Sumino, Y., & Ishikawa, T. (2003) *Biochem. J.*, 373, 767-774.
- 13) Henriksen, U., Fog, J.U., Litman, T., & Gether, U. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 36926-36934.

- 14) Wakabayashi, K., Nakagawa, H., Adachi, T., Kii, I., Kobatake, E., Kudo, A., & Ishikawa, T. (2006) *J. Exp. Ther. Oncol.*, 5, 205-222.
- 15) Wakabayashi, K., Tamura, A., Saito, H., Onishi, Y., & Ishikawa, T. (2006) *Drug Metab. Rev.*, 38, 371-391.
- 16) Ellgaard, L. & Helenius, A. (2001) *Curr. Opin. Cell Biol.*, 13, 431-437.
- 17) Ellgaard, L. & Helenius, A. (2003) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 4, 181-191.
- 18) Ye, Y., Shibata, Y., Kikkert, M., van Voorden, S., Wiertz, E., & Rapoport, T.A. (2005) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 102, 14132-14138.
- 19) Yoshikawa, M., Ikegami, Y., Sano, K., Yoshida, H., Mitomo, H., Sawada, S., & Ishikawa, T. (2004) *J. Exp. Ther. Oncol.*, 4, 25-35.

若林 香葉子, 田村 藍, 石川 智久  
(東京工業大学大学院生命理工学研究科)

Genetic polymorphisms of human ABC transporter ABCG2: Porphyria risk and ER quality control  
Kanao Wakabayashi, Ai Tamura, Toshihisa Ishikawa  
(Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology, Tokyo Institute of Technology B-60 4259 Nagatsuta, Midori-ku, Yokohama, Kanagawa, 226-8501, Japan)

## 神経変性はアポトーシスか？ —YAPdeltaC による神経細胞死制御—

### 1. はじめに

神経変性疾患における細胞死はアポトーシスなのだろうか？このような疑問は変性疾患のヒト患者脳病理を観察した経験のある者ならば一度は感じたことがあるのではなからうか。光学顕微鏡あるいは電子顕微鏡的にアポトーシスと言える神経細胞を認めることはないし、それらしい細胞があったとしても死後変化の可能性が高い。一時期流行した TUNEL 染色の陽性細胞がアポトーシスを意味しないことは明らかである。神経変性モデルマウスの解析においてさえ、アポトーシスが観察できないという報告もなされてきた<sup>1,2)</sup>。しかし、『神経変性=アポトーシス』とのコンセプトが余りに一般的になっているので、この疑問を口に出すことにはかなりの勇気が必要な状況にある。一方、最近の細胞死に関する基礎的研究の進歩は、細胞死がアポ