

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：81303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07231

研究課題名(和文) Pkm1-NAD 代謝軸を標的とした、小細胞肺がんの新規分子標的治療

研究課題名(英文) Targeting the PKM1-NAD metabolic axis in small cell lung cancer

研究代表者

伊藤 しげみ (Ito, Shigemi)

地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター(研究所)・がん薬物療法研究部・特任研究員

研究者番号：80600006

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)： NAD代謝を標的とする小細胞肺がんの新規治療の開発に向けて、基礎となるデータを収集した。NAD合成に関わる代謝酵素に対する阻害剤について、薬力学・薬物動態学的性質を含む性能評価を行った。その結果、新規阻害剤が既知阻害剤に優越することを確認できた。また、これら阻害剤による代謝ターゲット治療の治療効果を高めると期待される、食事療法の開発に取りくんだ。動物実験の結果、そのような食事療法との併用においても、新規阻害剤の方が、より低毒性であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小細胞肺がん(SCLC)は、高転移性で、治療(化学療法や放射線)を行っても大半が再発し、5年生存率は10%を切る難治がんである。この～20年、SCLCに対する治療には根本的進歩がないのが現状である。大規模ゲノム解析が行われてたが、druggableなドライバー変異は見つかっていない。本研究により、代謝特性をターゲットするSCLCで初めての分子標的治療の開発につながる成果を得ることができた。NAD代謝を標的とするがん治療は、他がん種にて試みられ頓挫してきた歴史があるが、適切な対象選択と標的手段の改良によって非常に有望な治療戦略となることを、本研究は示した。

研究成果の概要(英文)： This study was predicated on our previous finding that SCLC survival and/or proliferation are highly dependent on PKM1 and NAD metabolism. In this study, we have (1) evaluated in-vivo performance of small-molecule inhibitors, which target NAD biosynthesis, (2) developed novel dietary intervention which potentially improve the NAD-targeting therapy, and (3) accessed feasibility of the combination therapy. Our newly identified compound TLM-X markedly outperforms to FK866 in a pharmacokinetics/ pharmacodynamics study with relatively low toxicity. Combined therapy using TLM-X as pharmacological inhibitor with a dietary intervention show robust anti-tumor effects on SCLC tumors, and was well-tolerated in mice.

研究分野：腫瘍学

キーワード：代謝 がん

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

解糖系酵素の Pkm は、ワールブルグ効果における最重要因子の 1 つで、近年のがん代謝分野において、非常にシンボリックな存在となってきた。がんでは Pkm の特定 isoform (Pkm2) が特異的に発現しており、この Pkm2 発現が、ワールブルグ効果成立に必須である。しかし、その生物学的な意義は、不明の点も多かった。我々は、独自に開発した Pkm 遺伝子改変 (ノックイン) マウス群の解析から、定説を覆す、以下の重要な発見をした; (a) Pkm1・好気代謝は、がんを促進する。(b) がんの起源となる大半の細胞系譜では、元々 Pkm2 が発現しており、この Pkm2 発現/ワールブルグ効果が“がん抑制機構”としてはたらく。(c) 一部の高悪性肺がん (小細胞肺がん; SCLC) と起源細胞 (神経内分泌細胞) の系列は、共に、上皮系としては例外的に Pkm1 発現型で、この Pkm1 が SCLC に特段の悪性をもたらす。

以上の結果から、Pkm1 やその下流経路が、SCLC の新規治療標的となる可能性がでてきた。機序として、「Pkm1/好気代謝 NAD⁺代謝 オートファジー」のフローが浮上している。この作用により、Pkm1 は、アミノ酸供給をうながすとともに、品質の下がったミトコンドリアを積極的に排除し (mitophagy) 活性酸素種 (ROS) の発生を防いでいると考えられた。本研究は、これら知見に立脚して計画された。

2. 研究の目的

これまでの阻害剤や RNAi を用いた検討で、Pkm1 の下流で、NAD⁺合成が活性化し、その結果オートファジーが活性化されることが示唆されている。この一連の経路について、本課題では、とくに NAD 合成経路について、SCLC 新規治療標的としての適否を検証する。

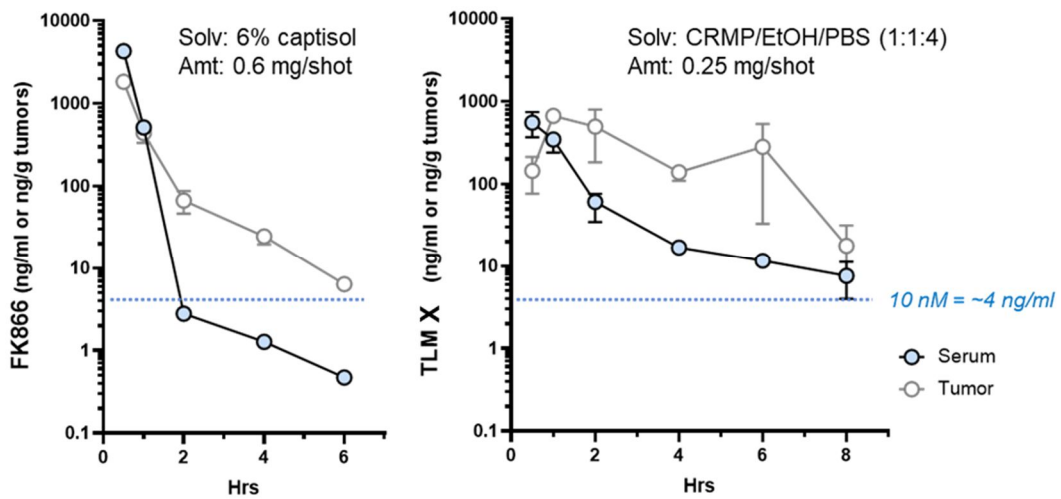
3. 研究の方法

従来、NAD 合成阻害剤としては、FK866 が最も広く使用されている。この薬剤は、これまでの予備的な検討から、培養系では強い細胞増殖抑制効果を示すものの、*in vivo* 実験では然したる抗腫瘍効果を示さない結果を得ていた。その理由として、二つの理由が示唆された:

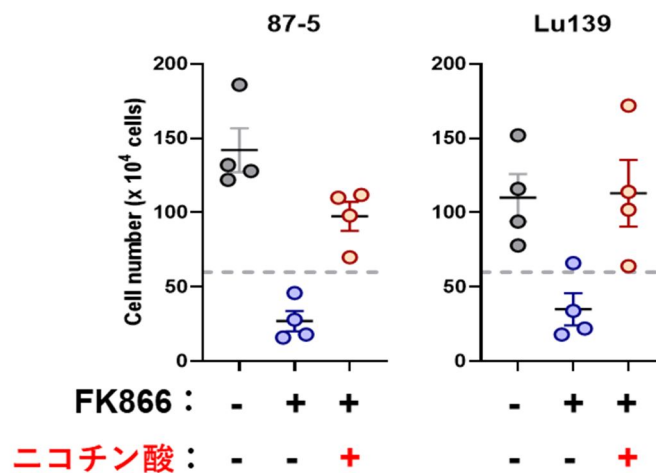
FK866 の体内動態 (薬力学・薬物動態学的性質) が不良である。培地には添加されていない NAD 前駆体が、腫瘍細胞によって利用されている。これらの問題を改善するために、FK866 とは全く異なる新規阻害剤 (TLM-X) を得て、*in vivo* 実験を行った。また、栄養学的な観点から、NAD 合成阻害治療の実効性を高める食事療法について検討を行った。

4. 研究成果

(1) Lu139 ヒト SCLC 細胞株を移植した担がんマウスを用いて、FK866 の体内動態 (薬力学・薬物動態学的) 解析を行った。血中および腫瘍における FK866 レベルは、投薬後 30 分がピークであり、その後非常に速やかに減少していった。有効濃度を 10 nM とした場合、投薬後 2 時間のタイミングで、血中 FK866 レベルはこの濃度を下回った。一方で TLM-X の場合、血中および腫瘍における薬剤レベルは、やや緩やかに上昇あるいは減少し、投薬後 8 時間経過の時点でも、血中で 10 nM を保っていた。試験管内での酵素阻害活性は、FK866 よりも、TLM-X の方がむしろ強いこと、培養系での増殖抑制活性も同様であること、等とあわせて、TLM-X の性能は FK866 を優越することが強く示唆された。



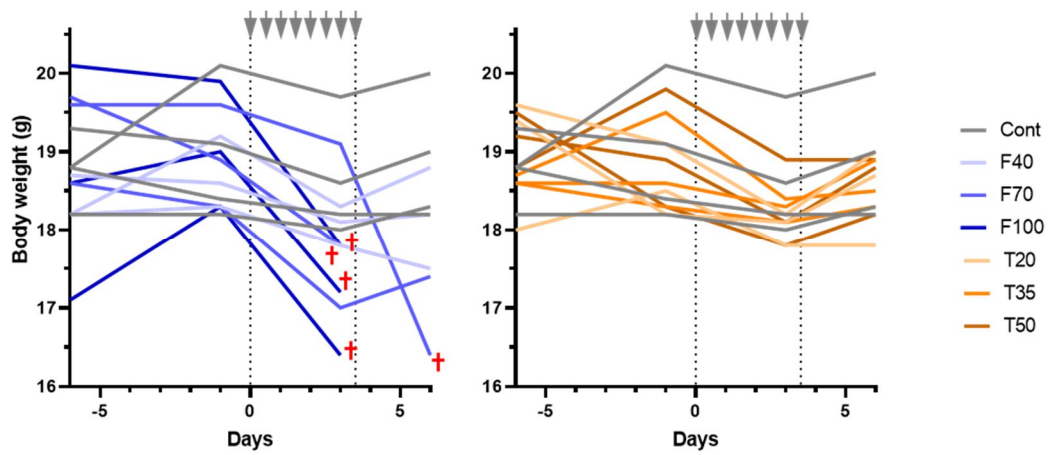
(2) SCLCにおけるニコチン酸を基質にした NAD 合成について検討した。SCLC の培養に通常用いられる RPMI 培地はニコチン酸不含である。一方、ヒトを含む高等動物では、ニコチンアミドの 1/5 ~ 1/10 の血中濃度で、ニコチン酸が存在することが知られている(絶対量については議論が続いている)。培養系にて、FK866 処理によって SCLC の NAD レベルは著しく減少し、細胞生存/増殖が強く抑制されるという結果を得ているが、ここにニコチン酸を補完したらどうなるか、検討した。ニコチン酸量は、大過剰量を加えた。その結果、FK866 によって誘導される細胞死・増殖抑制が、培地への大過剰ニコチン酸添加によって、大部分あるいはほぼ完全にレスキューされた。これらの結果から、FK866 あるいは TLM-X を用いた薬物治療において、ニコチン酸からの NAD 合成が、治療効果を減弱させるメカニズムが考えられた。



(3) 血中ニコチン酸レベルを低下させると期待される特殊な食事を考案し、動物実験を行った。この特殊食と飲水のみで、マウスを一見正常に ~ 4 か月間飼育することができた。よって、この特殊食自体の毒性は、少なくとも許容範囲にあると思われた。

上記の特殊食にて飼育中のマウスに、FK866 あるいは TLM-X を投与して、経過を観察した。その結果、FK866 投与群では明らかな体重減少がみとめられ、高用量投与群では全例が死亡した。一方、TLM-X 投与群では、全投与期間を通じて体重減少の程度はわずかであり、また一過性であった。これら結果から、血中ニコチン酸レベルを低下させると期待される食事療法との併用においては、FK866 よりも、TLM-X の方が適切であると考えられた。現段階にて詳細は不明で

あるが、前述の PK/PD 解析でみられた投薬直後の速やかな血中濃度の上昇が、FK866 と本特殊食を組み合わせたときの急性毒性の原因ではないかと推察された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nomura Miyuki, Morita Mami, Tanuma Nobuhiro	4. 巻 9
2. 論文標題 A metabolic vulnerability of small-cell lung cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 32278-32279
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.25964	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Morita M, Ito S, Tanuma N, et al.	4. 巻 33(3)
2. 論文標題 Pkm1 confers metabolic advantages and promotes cell-autonomous tumor cell growth	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Cell	6. 最初と最後の頁 355 ~ 367
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ccell.2018.02.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kudo Kei, Nomura Miyuki, Sakamoto Yoshimi, Ito Shigemi, Morita Mami, Kawai Masaaki, Yamashita Yoji, Ito Kiyoshi, Yamada Hidekazu, Shima Hiroshi, Yaegashi Nobuo, Tanuma Nobuhiro	4. 巻 594
2. 論文標題 Divergent metabolic responses dictate vulnerability to NAMPT inhibition in ovarian cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 1379 ~ 1388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.13736	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Imai Takayuki, Ito Shigemi, Oikawa Tomoyuki, Asada Yukinori, Matsumoto Ko, Miyazaki Takefumi, Yamazaki Tomoko, Satoh Ikuro, Noguchi Tetsuya, Matsuura Kazuto	4. 巻 46
2. 論文標題 Risk factors for cervical lymph node metastasis in endoscopically resected superficial hypopharyngeal cancers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 424 ~ 430
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2018.09.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Abe Jiro, Tanuma Nobuhiro, Nomura Miyuki, Ito Shin, Kasugai Isao, Sato Ikuro, Tamai Keiichi, Mochizuki Mai, Yamaguchi Kazunori, Shima Hiroshi, Okada Yoshinori, Yasuda Jun	4. 巻 522
2. 論文標題 Novel activating KRAS mutation candidates in lung adenocarcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 690 ~ 696
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.11.151	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	田沼 延公 (Tanuma Nobuhiro) (40333645)	地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター (研究所)・がん薬物療法研究部・主任研究員 (81303)	
研究分担者	佐藤 郁郎 (Sato Ikuro) (50225918)	地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター (研究所)・ティッシュバンクセンター・部長 (81303)	