

令和 2 年 7 月 13 日現在

機関番号：13802

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16537

研究課題名(和文)脂質解析に基づく大腸癌抗癌剤耐性機序の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the anticancer drug resistant mechanisms in colorectal cancer using a global lipid analysis

研究代表者

平出 貴乗(HIRAIDE, TAKANORI)

浜松医科大学・医学部・特任助教

研究者番号：70780386

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト大腸癌由来固形腫瘍のxenograftモデルを用いて抗がん剤5-FU耐性群および感受性群の脂質変化を解析した結果、5-FU耐性群において飽和脂肪酸の含有量が高く、逆に脂肪酸鎖内に1個の二重結合を有する一価不飽和脂肪酸の含有量が低下していることを確認。大腸がんの細胞株を使用し、飽和脂肪酸に一価不飽和結合を入れ込む酵素Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1)を阻害することや外から飽和脂肪酸を添加し、細胞内の脂肪酸を変化させる事で抗がん剤耐性を示す事を確認。細胞膜内の飽和脂肪酸含有量が増える事で膜の流動性が低下し、5-FUへの薬剤耐性をもたらす事を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

集学的治療により大腸癌の生命予後は改善されているものの、依然として我が国の癌死亡の上位を占めている。予後の向上には、発見時や術後再発時における転移・浸潤のコントロールと薬剤耐性回避が鍵であり、本研究は脂質の観点から抗癌剤耐性機構を調べた。その結果、細胞膜内の飽和脂肪酸含有量の違いが、抗がん剤5-FUへの薬剤耐性をもたらすことが明らかになり、今までの抗がん剤耐性の観点とは異なり、がん細胞における膜脂質の病態生理への関与解明や癌治療への応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Resistance to chemotherapy is a major obstacle for the patients with unresectable colorectal cancer, although what factors induce chemoresistance is yet to be elucidated. The aim of this study was to examine whether lipid composition affects sensitivity to chemotherapeutic agents.

Lipidomic analysis using colorectal cancer xenograft-derived spheroid model revealed that saturated fatty acids (SFA)-containing lipids were abundant in spheroid showing chemoresistance to 5-fluorouracil (5-FU). To confirm the importance of SFA-containing lipids in chemoresistance, In vitro model using colorectal cancer cell lines, genetic or pharmacological inactivation of stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD1), the key enzyme converting SFA to mono unsaturated fatty acids (MUFA), increased SFA proportion in membranous lipids and decreased cell membrane fluidity, resulting in chemoresistance to 5-FU. The ratio of SFA/MUFA in cellular membranous lipids affects the sensitivity to chemotherapeutic agents.

研究分野：消化器外科

キーワード：抗がん剤耐性 脂質 飽和脂肪酸 質量分析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

1980年以降、がんは日本の死因の第1位であり、2014年のがん死亡数は1985年の約2倍になっている。特に大腸癌は手術療法、化学療法、放射線療法等の進歩によって生命予後が改善されているものの、依然として我が国のがん死亡の上位を占めている。予後を向上させるためには、発見時もしくは切除後再発時に高度転移・浸潤している症例での転移・浸潤のコントロールと薬剤耐性回避が鍵となる。薬剤耐性に関わる因子として細胞膜上のタンパク質(T.R. Wilson, et al: Annals of Oncology, 2006; 17: 315-24)、micro RNAの発現の変動(Yang N, et al: Cancer Res. 2008; 68: 10307-14)など様々な報告がなされているが、いまだ治療応用に至っていない。

新たな研究の場として、がんと脂質合成・代謝経路との関連が注目されており、がん細胞内脂肪酸合成の上昇(Schulze A, et al: Nature 2012, 491: 364-73)をはじめとして、乳癌・前立腺癌の予後と脂肪酸合成酵素 Fatty acid synthase (FASN) 発現の関連 (Kuhajda FP, et al: Cancer Res. 2006; 66: 5977-80)、肝臓癌の予後とコレステロール合成関連蛋白 Sterol regulatory element binding protein(SREBP)発現の関連(Yamashita et al. J Hepatol. 2009; 50: 100-10)、などの報告がある。しかし、抗癌剤耐性機序と脂質合成・代謝経路との関係性を解析した報告は非常に少ない。

## 2. 研究の目的

集学的治療により大腸がんの生命予後は改善されているものの、依然として我が国の癌死亡の上位を占めている。予後の向上には、発見時や術後再発時における転移・浸潤のコントロールと薬剤耐性回避が鍵となる。本研究は今までにはなかった Lipidomics 等を用いた脂質解析から抗癌剤耐性機構を調べ、癌細胞における膜脂質の病態生理への関与解明やがん治療への応用を目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) ヒト大腸癌由来固形腫瘍の xenograft モデル(PDX モデル)からスフェロイドを作成し、5-FU 添加培養液中での細胞増殖率を調べた。また、5-FU 耐性群および感受性群の脂質変化を質量分析法により網羅的分析・同定を行った。

(2) 薬剤耐性に関連する脂質変化をもたらす責任酵素を同定し、大腸癌細胞株でその酵素遺伝子 knockdown や阻害剤に伴う細胞膜内脂質や薬剤耐性の変化を解析した。細胞膜内脂肪酸変化による細胞膜流動性の変化は膜環境感受性色素 Laurdan および Membrane Fluidity Kit を用いて検証した。

## 4. 研究成果

(1) 5-FU 耐性スフェロイドは感受性スフェロイドと比較し、飽和脂肪酸含有リン脂質含有量が高く、逆に脂肪酸鎖内に1個の二重結合を有する一価不飽和脂肪酸を持つリン脂質の含有量が低下していた。

(2) 飽和脂肪酸に一価不飽和結合を入れ込む酵素 Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1)が薬剤耐性に関与する酵素として同定された。siRNA 法による SCD-1 knockdown や SCD-1 阻害剤添加は大腸癌細胞株 (HCT116, DLD1) 5-FU への耐性をもたらした (Fig. 1)。また、細胞培養液中への飽和脂肪酸 (ステアリン酸: C18:0) 添加による膜内飽和脂肪酸含有リン脂質の増加は細胞膜流動性を低下させ (Fig. 2) 5-FU への薬剤耐性をもたらした (Fig. 3)。

今後、さらなる脂質研究の発展により、癌細胞における膜脂質の病態生理への関与解明や癌治療への応用が期待できる。

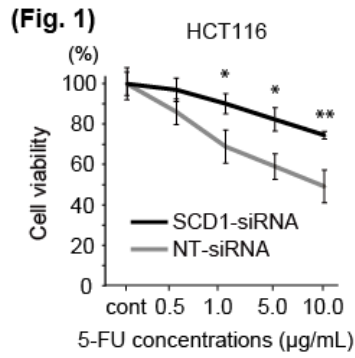


Fig. 1 SCD-1 遺伝子 knockdown における膜脂質の構成が 5-FU 耐性に関与

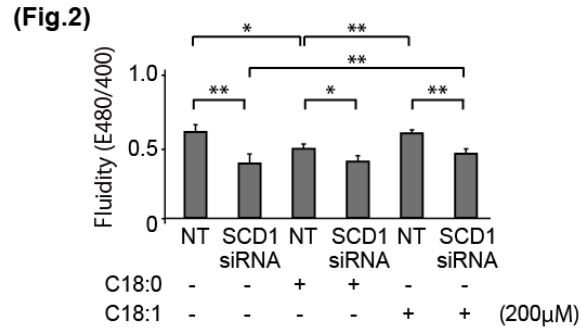


Fig. 2 飽和脂肪酸添加による細胞膜流動性の変化

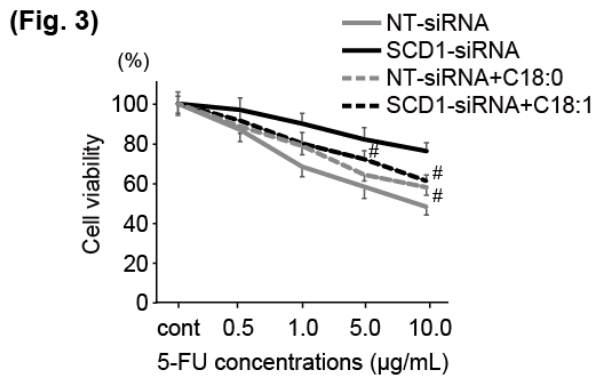


Fig. 1, 2: Values are mean ± SD; \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ .

Fig. 3: Values are mean ± SD, #,  $P < 0.05$  compared to NT-siRNA.

Fig. 3 細胞膜の流動性が 5-FU 耐性に関与

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 平出 貴乗
2. 発表標題 Saturated fatty acid in the phospholipid plays an important role in chemoresistance in colorectal cancer
3. 学会等名 American Association for Cancer Research Annual Meeting 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 平出 貴乗
2. 発表標題 細胞膜内の飽和脂肪酸は大腸癌における抗癌剤耐性に関与する
3. 学会等名 第118回 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年～2019年

〔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