

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07233

研究課題名（和文）脳腫瘍における GTP 代謝スイッチの分子機構と意義の解明

研究課題名（英文）Mechanism and significance of GTP metabolic switch in brain tumors

研究代表者

小藤 智史（Kofuji, Satoshi）

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・講師

研究者番号：00508153

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000 円

研究成果の概要（和文）：脳腫瘍の一つである神経膠芽腫における核酸代謝の意義について研究を行った。核酸の一つであるグアノシン三リン酸の合成酵素を阻害すると、神経膠芽腫細胞の増殖および腫瘍形成が抑制されることを見出した。さらに、その原因としてタンパク質を合成する機構であるリボソームの合成にあることを見出した。グアノシン三リン酸合成の阻害がリボソーム合成の阻害を通して核小体ストレスを引き起こすことを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果は、グアノシン三リン酸代謝が神経膠芽腫の治療における新たな標的となりうることを示唆している。グアノシン三リン酸代謝は神経膠芽腫細胞特異的に亢進している代謝であり、この代謝の阻害は正常細胞への影響が少ない。そのため、副作用の少ない治療法の確立へとつながることが期待できる。また、がん細胞におけるグアノシン三リン酸代謝と核小体活性のつながりを見出したという点で学術的に意義深い。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the significance of nucleotide metabolism in glioblastoma, a malignant brain tumor. Inhibition of the synthesis of guanosine triphosphate suppressed proliferation and tumorigenesis of glioblastoma cells. Mechanistically, the synthesis of ribosomes, which is a machinery of protein synthesis, was directly connected to guanosine triphosphate metabolism. Moreover, inhibition of guanosine triphosphate metabolism also caused nucleolar stress.

研究分野：がん代謝

キーワード：脳腫瘍 グアノシン三リン酸 核小体 代謝

1. 研究開始当初の背景

脳腫瘍はがん全体における比率で考えると5%弱とそれほど多いがんではない。しかし、一度発症すると、脳という組織の特異性のため治療が困難である。脳腫瘍の中でも神経膠芽腫は悪性度が高く、予後が悪い。その理由として発症原因となるグリア細胞が正常組織の中に染み込むように広がっていくため、正常組織とがん組織の境界が不明瞭になり完全に摘出することが困難であることが挙げられる。治療にあたっては、手術、放射線治療、化学療法が併用されているが、完治のための有効な薬がほとんど存在しないのが現状である。

核酸(ヌクレオチド)は遺伝子の実態であるデオキシリボ核酸(DNA)やそこから転写されたリボ核酸(RNA)の構成物質である。また、細胞内でエネルギーやシグナル伝達にも使われる。これらのことから増殖が盛んな細胞ではヌクレオチドの需要が高い。ヌクレオチドの一つであるグアノシン三リン酸(GTP)はプリン塩基と呼ばれる骨格を有している。細胞内のGTPの供給はグルコースからプリン塩基を合成する新生経路とプリン塩基を再利用する再利用経路によって行われる(図1)。GTP合成においては、イノシンモノリン酸(IMP)からキサントシンモノリン酸(XMP)を合成する反応を担うイノシンモノリン酸デヒドロゲナーゼ(IMPDH)が律速酵素とされている。

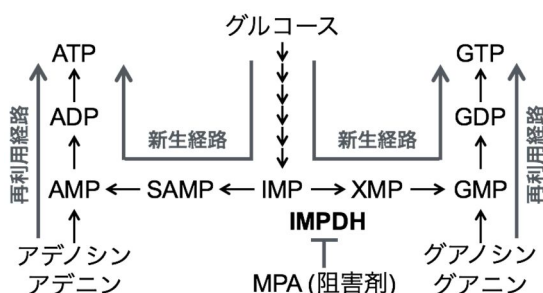


図1 プリンヌクレオチド代謝

2. 研究の目的

代表者は、神経膠芽腫細胞におけるヌクレオチド代謝の意義を解析する過程で、GTPの新生経路が活性化していることを見出した。この新生経路の活性化は正常グリア細胞では確認されないことから、神経膠芽腫細胞特異的なものと考えられる。この結果を受けて、本研究では神経膠芽腫細胞において特異的に変化するGTP代謝スイッチの分子機構とその意義を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

神経膠芽腫細胞においてIMPDHの重要性を調べるために、CRISPR/Cas9の技術を用いて遺伝子欠損細胞を樹立した。作製した細胞において細胞内のGTP量の測定および安定同位体を用いたグルコースフラックス解析を行った。グルコースから新生経路を通して合成されたGTPがリボソームRNAに取り込まれたか否かをリボソームRNAを精製し、質量分析器で調べた。IMPDHの阻害により、核小体ストレス引き起こされたか否かを核小体のサイズを指標に調べた。

4. 研究成果

(1) IMPDH 欠損細胞における解析

神経膠芽腫細胞において2つのIMPDHのアイソザイム(IMPDH1とIMPDH2)をそれぞれ欠損させた細胞において初めに細胞内のGTP濃度の測定を行ったところ、IMPDH1欠損細胞では細胞内のGTP量に変化は見られなかった。一方、IMPDH2欠損細胞では細胞内GTP量の顕著な低下を検出した。IMPDH1とIMPDH2の両方を欠損した細胞では、GTP量がIMPDH2欠損細胞に比べてわずかに低下した。さらに、グルコースフラックス解析では、IMPDH1欠損細胞において新生経路でのGTP合成がわずかに低下した。IMPDH2欠損細胞では新生経路でのGTP合成がほとんど確認できなかった。IMPDH二重欠損細胞では新生経路を介したGTP合成が全く確認できなかった。以上の結果から、神経膠芽腫細胞においてIMPDH2が細胞内GTP量の維持に重要であり、新生経路を介したGTPの合成にIMPDH2が必要であることが示唆された。また、IMPDH2欠損細胞およびIMPDH二重欠損細胞において細胞増殖アッセイを行ったところ、外来性にIMPDHの遺伝子を発現させた際に、低下した細胞増殖能が回復することが示唆された。以上のことから、神経膠芽腫細胞におけるIMPDHの重要性が明らかとなった(図2)。

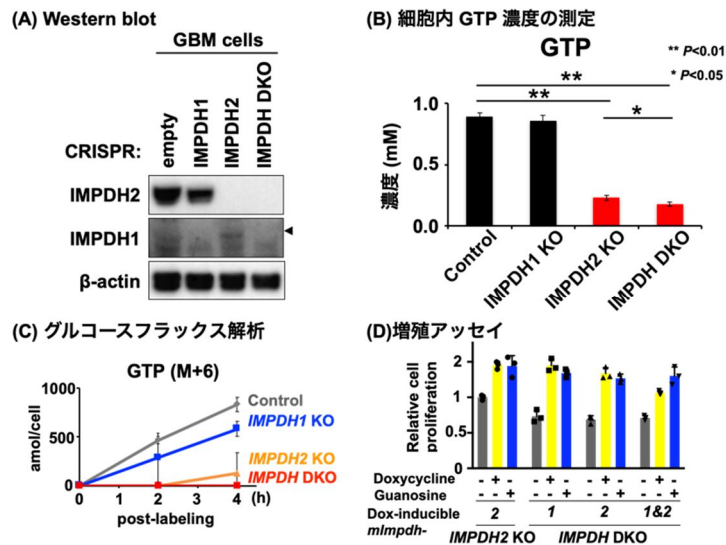


図 2 IMPDH 欠損細胞における解析

(2) 新生経路により合成された GTP の運命

次に、神経膠芽腫細胞において IMPDH 依存的に合成された GTP がどのように使用されているのかについて検討をおこなった。ヌクレオチドの主な利用先として RNA 合成がある。そこで、安定同位体を用いて GTP の追跡を行ったところ、リボソーム RNA とトランスファー RNA において、他のヌクレオチドと比べて GTP がより取り込まれていることが明らかとなった (図 3)。よって、細胞はリボソーム RNA とトランスファー RNA の合成を亢進するために GTP の新生経路を活性化させていることが示唆された。

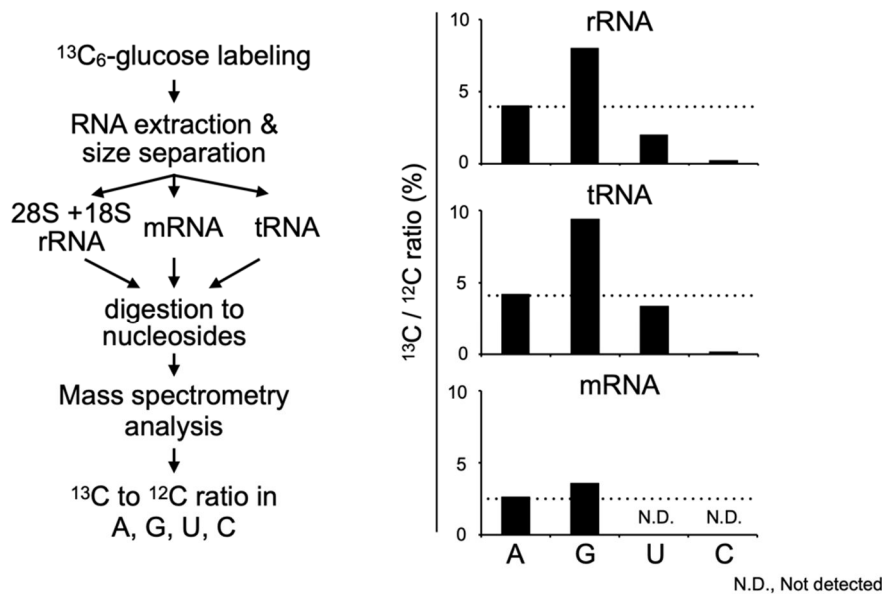


図 3 新生経路を通して合成された GTP の追跡

(3) 新生経路阻害時の核小体の形態変化

リボソーム RNA 合成は核小体で行われている。さらに、IMPDH 阻害時のトランスクリプトームと脳腫瘍患者由来のサンプルにおけるトランスクリプトームの解析を行ったところ、両者で変化する遺伝子発現に核小体の共通性があった。そこで、IMPDH 阻害時に核小体の形態に影響があるか否かを解析した。その結果、IMPDH の阻害より、神経膠芽腫細胞の核小体が縮小することが明らかとなった (図 4)。この現象は核小体ストレスを示しており、IMPDH の阻害により核小体ストレスが生じたことが明らかとなった。

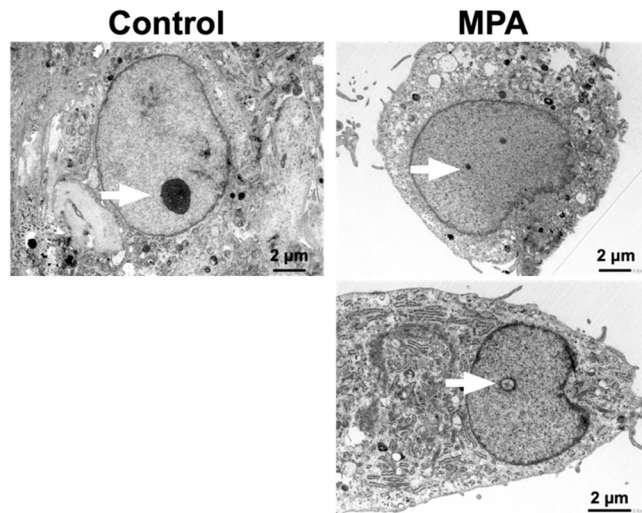


図 4 新生経路阻害時の核小体の形態変化

以上の結果から、神経膠芽腫細胞ではリボソーム RNA およびトランスファー RNA 合成を上昇させるために GTP 新生経路を活性化していること、この活性化に IMPDH2 が必要であること、そして、これらの活性化が核小体の機能に影響を与えることが明らかとなった。

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 4件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kofuji Satoshi, Sasaki Atsuo T	4. 巻 168
2. 論文標題 GTP metabolic reprogramming by IMPDH2: unlocking cancer cells' fuelling mechanism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 319~328
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvaa085	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 該当する
1. 著者名 Kofuji S, et al.	4. 巻 21
2. 論文標題 IMP dehydrogenase-2 drives aberrant nucleolar activity and promotes tumorigenesis in glioblastoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Cell Biology	6. 最初と最後の頁 1003-1014
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41556-019-0363-9.	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 該当する
1. 著者名 Wolfe K, Kofuji S, Yoshino H, Sasaki M, Okumura K, Sasaki AT	4. 巻 516
2. 論文標題 Dynamic compartmentalization of purine nucleotide metabolic enzymes at leading edge in highly motile renal cell carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 50-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.05.190.	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 該当する
1. 著者名 Naffouje R, Grover P, Yu H, Sendilnathan A, Wolfe K, Majd N, Smith EP, Takeuchi K, Senda T, Kofuji S, Sasaki AT	4. 巻 11
2. 論文標題 Anti-Tumor Potential of IMP Dehydrogenase Inhibitors: A Century-Long Story.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers (Basel)	6. 最初と最後の頁 E1346
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers11091346.	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 該当する

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小藤智史
2. 発表標題 グアニンヌクレオチド代謝リプログラミングが制御する腫瘍形成のメカニズム
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小藤智史
2. 発表標題 物質代謝異常によるがん発症機構の解明
3. 学会等名 第1回 細胞死コロキウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小藤智史
2. 発表標題 神経膠芽腫における de novo GTP 合成経路の意義
3. 学会等名 第18回生命科学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Satoshi Kofuji, Atsuo Sasaki
2. 発表標題 GTP-metabolic reprogramming that regulates the nucleolar activity and tumorigenesis
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小藤智史、佐々木敦朗
2. 発表標題 脳腫瘍における核小体の活性化制御とGTP代謝リプログラミング
3. 学会等名 第140年会日本薬学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小藤智史
2. 発表標題 神経膠芽腫における GTP 代謝の役割
3. 学会等名 第 17 回生命科学研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小藤智史
2. 発表標題 神経膠芽腫と GTP 代謝
3. 学会等名 第1回 HiHA&HIRAKU 若手研究者 Workshop
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小藤智史、佐々木敦朗
2. 発表標題 神経膠芽腫における GTP 代謝亢進の意義
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

120年の謎・がんの「鬼の目」を閉じるには？ - がんのエネルギー産生と配分の仕組みを発見 -
<https://www.hiroshima-u.ac.jp/news/52594>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	University of Cincinnati			