

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：81303

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H01036

研究課題名（和文）ワールブルグ効果が腫瘍にもたらす陰と陽、およびそれら分子基盤の解明

研究課題名（英文）The yin and yang of the Warburg effect of tumors.

研究代表者

田沼 延公（Tanuma, Nobuhiro）

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・上席主任研究員

研究者番号：40333645

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 35,000,000円

研究成果の概要（和文）：腫瘍に特徴的な代謝形質として最も良く知られるものに、ワールブルグ効果がある。ところが、高い認知度の一方、その発見から約100年が経過した現在も、その意義は良く分かっていない。本研究では、ワールブルグ効果が腫瘍に対してもつ正と負、両側面の詳細について研究した。反ワールブルグ効果型の解糖系酵素PKM1が一部がんにもたらす代謝メリットの詳細を解明した。一方で、ワールブルグ効果が特定シグナル伝達経路との相互作用を通じて、自身への免疫寛容を導く分子機構の一端を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんとそのワールブルグ効果に関しては今なおその意義が固まっておらず、それらを包括的に理解しようとする試みは極めて重要である。小細胞肺がんでの結果は、標的治療の開発が進んでいないこの難治がんに対する新たなターゲット治療開発に大きく貢献すると期待できる。腫瘍免疫との相互作用に関する研究結果は、がん進展におけるワールブルグ効果の真の意義を知るための端緒となる可能性があり、今後の研究のさらなる発展が期待される。

研究成果の概要（英文）：Massively enhanced uptake of glucose together with high lactate production in tumor cells are called Warburg effect. Despite century of research, the roles for the Warburg effect in carcinogenesis remains to be understood. Here we studied both positive and negative aspects of the Warburg effect on tumors in detail. We established metabolic benefits conferred by PKM1 that reverse the Warburg effect. We have also elucidated a part of mechanisms by which the Warburg effect leads to immune tolerance via interactions with specific signaling pathways.

研究分野：腫瘍学

キーワード：がん 代謝 がんターゲット治療

1. 研究開始当初の背景

腫瘍に特徴的な代謝形質として最も良く知られるものに、ワールブルグ効果がある。具体的には、著しく高いグルコース取り込みと、高い乳酸産生を指す。ところが、高い認知度の一方、その発見から約 100 年が経過した現在も、その意義は良く分かっていない。

2. 研究の目的

これまでの研究により、我々は、ワールブルグ効果が、定説に反し腫瘍細胞にとって代謝上のハンデとなり得ること、一方で、非細胞自律的な機序によりがん促進的な作用も併せもつこと、を見出だしていた (ワールブルグ効果二面性)。本研究では、ワールブルグ効果二面性の詳細や分子基盤の解明を目的として研究を行った。

3. 研究の方法

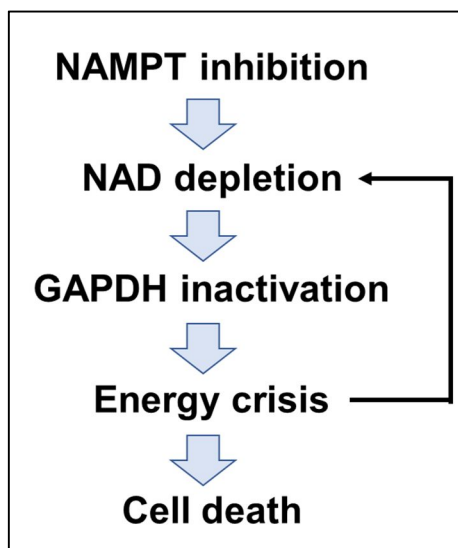
ワールブルグ効果が腫瘍にもたらすデメリットについては、細胞の総乳酸産生を低下させる PKM1 を高発現する小細胞肺癌 (SCLC) を中心に解析を行った ()。この代謝形質が腫瘍にもたらすメリットとして、腫瘍免疫の抑制という観点から解析を行った ()。については、培養系における種々の代謝解析に加え、マウス移植腫瘍を用いた治療モデルでも実験を行った。については、syngenic 野生型マウス (免疫不全ではない) への移植腫瘍モデルを中心に検討のうえ、腫瘍細胞自律的な部分を培養系にて検証した。免疫チェックポイント阻害には、チェックポイントタンパクに対する中和抗体を用いた。

4. 研究成果

(1) PKM1 (アンチワールブルグ効果型) がもたらす代謝メリットの実体

小細胞肺癌は、PKM1 発現型の珍しいタイプのがんで、PKM1 が NAD サルベージを亢進すること、SCLC は、NAD サルベージ経路の阻害に著しく脆弱であることを我々は見出していた。細胞株パネルを用いた一連の実験、および DepMap データセットを使った解析により、SCLC が、非小細胞肺癌 (NSCLC) と比べ、NAD サルベージ阻害に著しく脆弱であることが確立された。換言すると、SCLC は、NAD レベルの低下に著しく脆弱である (NAD 依存)。

薬効メカニズムとしては、サルベージ経路阻害が NAD 枯渇をもたらし、それが解糖系遮断を引き起こして細胞に深刻なエネルギー欠乏をまねくことが分かった。興味深いことに、解糖系遮断による ATP 減少には、培地中のグルコースが必須であった。一方、NSCLC の多くは NAD サルベージに対して耐性か、または、少なくとも感受性が低い。その原因として、解糖系を遮断してもエネルギー状態を保持できる性質をもつことが示唆された。



NAD 前駆体を過摂取することによって生体内の NAD レベルを上昇させることが出来るという研

究がある。それらに触発され、では逆に、前駆体の摂取制限をしたら何が起きるのかを調べることにした。その結果、NAD サルベージ阻害剤を使った治療の効果を高めるため、栄養学的アプローチが極めて有効であることが動物実験にて明らかになった。具体的には、NAD の栄養ソースであるナイアシン類ビタミンの摂取を制限することにより、NAD サルベージ阻害時の腫瘍 NAD レベルを顕著に低下させることができ、抗腫瘍効果も劇的に高まることが確認できた。治療時にみられる腫瘍細胞 NAD 低下を起点とする代謝変化についても調べ、培養系で観察されたのと同様のことが起きることを確認した。一方で、食事に含まれる NAD の栄養ソースとして最大のものはトリプトファンであるが、トリプトファン制限食は、高い毒性のわりに治療メリットがあまり大きくなかった。

ナイアシン食事制限がもたらす治療相乗効果について詳細なメカニズム検証を行った。重要なことに、食事に含まれるナイアシン類と血中ナイアシン類の構成が全く異なっていることが分かった。食事中のニコチン酸が宿主代謝系の働きによって他のナイアシン類へと変換され、腫瘍細胞の NAD 合成に寄与していることが示唆された。

SCLC 以外の NAD 依存がんを探索し、前立腺小細胞がん・および去勢抵抗性前立腺がんの一部が、同様の NAD 依存を示すことを明らかにした。これらがんに対しても、マウスモデルにて NAD ターゲット治療が高い治療効果を発揮した。

がん治療において、食事介入が治療効果を著しく向上させる例を、網羅的に調べた。それらの多くはまだ動物実験の段階にあるが、多くの実験データが蓄積しつつあり、遠くない将来の臨床応用が期待できる状況にあることが分かった。



(2) ワールブルグ効果がもたらす、非細胞自律的な腫瘍促進メカニズム

これまでの研究から、腫瘍細胞のワールブルグ効果(総乳酸産生の上昇)に、自身への免疫寛容を誘導する作用があることが示唆されていた。この点に関する研究を行った。

野生型シンジェニックマウスへの移植によるアログラフト系にて、ワールブルグ効果に、自身への免疫寛容を誘導する作用があることが確認された。反ワールブルグ効果型の代謝変化によって、免疫チェックポイント阻害治療の感受性が高まることも分かった。

そのメカニズムを知るため、バルク腫瘍の遺伝子発現解析を行った。結果にもとづく GO 解析・GSEA 解析によって、いくつかの免疫抑制メカニズムが示唆された。中でも、いくつかの免疫関連シグナル伝達経路の異常がみとめられた。腫瘍浸潤白血球の性状解析結果も、上記結果を支持していた。それら結果をふまえ、あらためて培養系での検討を行い、vivo で観察された遺伝子発現の違いが、腫瘍細胞自律的なものであることを確認した。より詳細な検討を行い、ワールブルグ効果型代謝と免疫シグナル伝達との相互作用を見出した。中和抗体を使った実験等により、ワールブルグ効果によって、上記シグナル伝達のオートクライン/パラクラインループが抑制されることを発見した。

上記現象の一般性について、いくつかのマウス系統にて実験系を構築し、検証を行った。その結果、全てではないが、複数の細胞株/実験系にて、期待された実験結果を得ることができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Fukui K, Nomura M, Kishimoto K, Tanuma N, Kurosawa K, Kanazawa K, Kato H, Sato T, Miura S, Miura K, Sato I, Tsuji H, Yamashita Y, Tamai K, Watanabe T, Yasuda J, Tanaka T, Satoh K, Furukawa T, Jingu K, Shima	4. 巻 in press
2. 論文標題 PP6 deficiency in mice with KRAS mutation and Trp53 loss promotes early death by PDAC with cachexia-like features.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15315	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kishimoto K, Kanazawa K, Nomura M, Tanaka T, Shigemoto-Kuroda T, Fukui K, Miura K, Kurosawa K, Kawai M, Kato H, Terasaki K, Sakamoto Y, Yamashita Y, Sato I, Tanuma N, Tamai K, Kitabayashi I, Matsuura K, Watanabe T, Yasuda J, Tsuji H, Shima H	4. 巻 10(13)
2. 論文標題 Ppp6c deficiency accelerates K-ras ^{G12D} -induced tongue carcinogenesis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Med.	6. 最初と最後の頁 4451-4464
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.3962	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kikuchi N, Soga T, Nomura M, Sato T, Sakamoto Y, Tanaka R, Abe J, Morita M, Shima H, Okada Y, Tanuma N	4. 巻 530
2. 論文標題 Comparison of the ischemic and non-ischemic lung cancer metabolome reveals hyper activity of the TCA cycle and autophagy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 285-291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.07.082.	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, Kudo K, Shima H, Tanuma N	4. 巻 112
2. 論文標題 Dietary intervention as a therapeutic for cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Sci	6. 最初と最後の頁 498-504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14777.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kanazawa K, Kishimoto K, Nomura M, Kurosawa K, Kato H, Inoue Y, Miura K, Fukui K, Yamashita Y, Sato I, Tsuji H, Watanabe T, Tanaka T, Yasuda J, Tanuma N, Shima H	4. 巻 112(6)
2. 論文標題 Ppp6c haploinsufficiency accelerates UV-induced BRAF(V600E)-initiated melanomagenesis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Sci	6. 最初と最後の頁 2233-2244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14895.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ito S, Sato I, Mochizuki M, Yamaguchi K, Tamai K, Minato T, Tanuma N, Shima H, Yasuda J	4. 巻 41
2. 論文標題 Robustness of a Cancer Profiling Test Using Formalin-fixed Paraffin Embedded Tumor Specimens.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 1341-1348
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.14891.	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 4(9)
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 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(3)
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 -

1. 著者名 Kikuchi Nほか	4. 巻 -
2. 論文標題 Comparison of the ischemic and non-ischemic lung cancer metabolome reveals hyperactivity of TCA cycle and autophagy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncol Lett	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 田沼 延公	4. 巻 91(1)
2. 論文標題 ワールブルグ効果について、PKMノックインモデルを通してもう一度見つめなおす	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 38～43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910038	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 田沼 延公	4. 巻 Vol 39 No 11.
2. 論文標題 解糖系酵素PKMとがん代謝，アップデート	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 実験医学7月号	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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9件（うち招待講演 9件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Tanuma N
2. 発表標題 Targeting NAD metabolism in cancer.
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術集会 JCA-AACR Joint Symposia “Cancer Metabolism”（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tanuma N
2. 発表標題 Metabolism-targeting therapy and precision nutrition in cancer
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術集会 モーニングレクチャー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tanuma N
2. 発表標題 A dietary intervention enhances new metabolism-targeting therapy of deadly lung cancer in mouse preclinical models.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会 Symposia “Metabolism in Cancer”（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tanuma N
2. 発表標題 Alternative splicing of PKM as a potential therapeutic target in cancer.
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田沼延公
2. 発表標題 がんグルコース代謝の新コンセプトに基づいた治療戦略
3. 学会等名 2019年度 日本生化学会東北支部 奨励賞講演（仙台）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田沼延公
2. 発表標題 実は良く分かっていない“がん代謝”：新規理論モデルと治療応用
3. 学会等名 第56回日本生化学会北海道支部例会 特別講演（札幌）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田沼延公
2. 発表標題 PKMとNAD+代謝：標的治療・食事療法
3. 学会等名 第7回 がん代謝研究会（仙台）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanuma N
2. 発表標題 Pkm1 mediates metabolic advantages and promotes cell-autonomous tumor cell growth
3. 学会等名 AACR Symposium “New Horizons in Cancer Research” (Shenzhen) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanuma N
2. 発表標題 Cancer glucose metabolism revisited and its clinical implications
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Asia Conference “Kinase and Phosphatase Signaling” : 2019 (Suzhou) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 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
研究分担者	安田 純 (Yasuda Jun) (00281684)	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)・発がん制御研究部・部長 (81303)	
研究分担者	島 礼 (Shima Hiroshi) (10196462)	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・部長 (81303)	
研究分担者	盛田 麻美 (Morita Mami) (20647193)	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 (81303)	
研究分担者	佐藤 卓 (Sato Taku) (90814541)	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・共同研究員 (81303)	

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