

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号： 12501

研究種目： 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(A））

研究期間： 2019～2021

課題番号： 19KK0407

研究課題名（和文）ミトコンドリアと細胞内代謝から捉える肥満とがんの分子基盤の解明

研究課題名（英文）Mitochondrial function and metabolism analysis approach to new molecular basis of cancer and obesity

研究代表者

永野 秀和（Nagano, Hidekazu）

千葉大学・大学院医学研究院・特任講師

研究者番号： 60788876

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,700,000円

渡航期間： 19ヶ月

研究成果の概要（和文）：本研究ではミトコンドリア機能と抗腫瘍効果を結びつける一つの現象として、フェロトーシスに注目した。

コロンビア大学のCarol Prives教授との共同研究でフェロトーシス関連分子探索のためのnon-target proteomicsを行った。その結果、フェロトーシス特有のフェリチンやシスチン/グルタミン酸輸送体SLC7A11の発現上昇、酸化に関わるタンパク群が顕著に変化を認めた。脂質代謝に関連する分子を検索するとRXRAの発現低下やフォスホリパーゼの活性に関わる分子群の発現変化が認められ、フェロトーシスを制御する脂質関連分子としてPPARとRXRAの相互作用を示唆する重要な知見が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コロンビア大学のCarol Prives教授との共同研究で、ミトコンドリアにおける代謝変化と抗腫瘍効果についてフェロトーシスに注目して研究を行った。その結果、フェロトーシスを制御する脂質関連分子としてPPARとRXRAの相互作用を示唆する重要な知見が得られた。この知見は、肥満とがんないし腫瘍の制御を結ぶメカニズムをフェロトーシスの観点から捉えることができることを示唆している。フェロトーシスは、細胞内での不飽和脂肪酸とミトコンドリア機能異常による過酸化脂質の蓄積によって引き起こされる非常に特徴的な細胞死で、これを制御することによって肥満やがんといった病気に対する新たな治療法の開発に繋がる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we focused on ferroptosis as one phenomenon that links mitochondrial and tumor suppressor function. In collaboration with Professor Carol Prives in Columbia University, we conducted non-target proteomics to reveal the ferroptosis-related molecules. As a result, the expression of ferritin and cystine / glutamate transporter SLC7A11 were increased with ferroptosis inducer treatment. The proteins involved in α -oxidation was significantly changed. Exploring of molecules involved in lipid metabolism revealed that the expression of RXRA was decreased. This result suggests that the interaction between PPAR and RXRA is important as a lipid-related molecule that regulates ferroptosis.

研究分野： 代謝および内分泌学関連

キーワード： ミトコンドリア フェロトーシス がん 脂質代謝

1. 研究開始当初の背景

今日の先進国においては、エネルギー摂取過剰と活動の低下によって、内分泌系の異常をきたし、肥満や2型糖尿病などの代謝疾患を引き起こすことが問題となっている。また糖尿病の死因の第1位は、長い間心血管疾患であったが、現在は悪性疾患となり、大腸がん、腎臓がん、肝臓がんなどのがん種では肥満・糖尿病がそのリスク因子となることが明らかとなってきた。その分子メカニズムに目を向けると、発がんや脂肪生成には共通の分子基盤が存在し、その両者を結びつけるオルガネラとして、ミトコンドリアの存在が注目されている。ミトコンドリアは、超複合体と呼ばれる高次構造を形成することで、電子伝達系と酸化的リン酸化を起こし、エネルギー供給を行う。一方、エネルギー供給だけでなく、TCA サイクルを通じて、脂肪酸合成など細胞の分化や増殖に必要なバイオマスを供給するという側面を持つ。本研究の意義は、がんと肥満における共通の分子シグナル経路の中で代謝環境応答変化・細胞内外の代謝制御と細胞増殖・浸潤・腫瘍造成を直接的に結びつけるメカニズムを、ミトコンドリア超複合体の新たな分子基盤解明研究を通じて捉えることである。

2. 研究の目的

がんや肥満における共通の分子シグナルの明らかにすることで、細胞内外の代謝制御と細胞増殖・浸潤・腫瘍造成を直接的に結びつけるメカニズムを捉えることを目的としている。その一つのオルガネラとして、ミトコンドリア超複合体に着目する。ミトコンドリア共役因子 DPYSL4 は、ミトコンドリア呼吸の調節とがん抑制機能を有する分子であるが、そのクロストークを説明する機序は不明である。3次元培養であるオルガノイド、ノックアウトマウスの作成、プロテオーム解析を統合し、ミトコンドリア機能と肥満-がん連関を結ぶメカニズムを解明する。

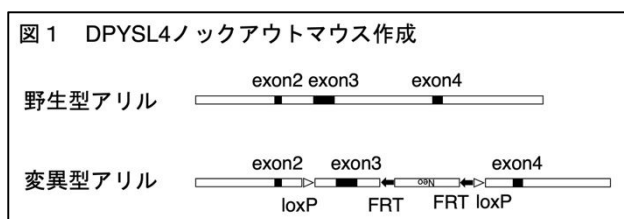
3. 研究の方法

DPYSL4 ノックアウトマウスにおける肥満病態の解明:DPYSL4 のストレートノックアウトマウスを用いた報告はこれまではなく、まずはノックアウトマウスの作成とその表現系の観察を行う。

これまでの基研究課題にて行った大腸がん細胞株を用いたメタボローム解析の結果から、DPYSL4 ノックアウト細胞では、フマル酸・コハク酸の増加という好氣的回路の抑制を認めるものの解糖系代謝産物への変化はほとんど見られないという結果を得ていた。すなわち、がんにおけるミトコンドリア機能を裏付ける結果が得られていた。これらミトコンドリア機能と抗腫瘍効果とを結びつける一つの現象として、フェロトーシスに注目することとした。そのために、フェロトーシス関連分子探索のための non-target proteomics を行った。サンプルは、コントロール群に加えて、フェロトーシス誘導剤であるエラスチン投与群、フェロトーシスを抑制することが報告されている MDM2 阻害薬 (MEL23) + エラスチン群および MDMX 阻害薬 (NCS-207895) + エラスチン群の4群でタンパク発現量の比較検討をした。

4. 研究成果

主に in vitro で解析した DPYSL4 の酸素消費、細胞内代謝変化、抗腫瘍効果を in vivo へ拡大して、観察する目的で DPYSL4 のストレートノックアウトマウスを作成した。DPYSL4 のストレートノックアウトマウスを用いた報告はこれまではなく、イントロン2とイントロン3に loxP 配列を挿入するためのターゲットベクターを作成し、BL6系マウス ES 細胞からノックアウトマウスを作成した(図1)。



コロンビア大学に拠点を置いてからは、同大学生物科学科 Carol Prives 教授との共同研究で、ミトコンドリアにおける代謝変化と抗腫瘍効果について、フェロトーシスの観点から研究を推進した。フェロトーシスは、鉄依存の過酸化脂質の蓄積によって起こされ、その過程で、脂質代謝に関連するメバロン酸経路が関与することが知られている。したがって、まずフェロトーシス関連分子探索のための non-target proteomics を行った。フェロトーシス感受性の高い線維肉腫細胞株を使用し、フェロトーシス誘導剤エラスチンの投与によるタンパク発現変化を検討した。その結果、フェロトーシス特有のフェリチンやシスチン/グルタミン酸輸送体 SLC7A11 の発現上昇を認めた。そして、β酸化に関わるタンパク質の発現量に顕著な変化を認めた(図2)。これまでの Carol 教授の研究室の業績から、フェロトーシス誘導は DPYSL4 をターゲットとするがん抑制遺伝子 p53 の制御因子 MDM2 もしくは MDMX の阻害によって抑制され、その一つの機序として PPARα が活性調節を受けることが報告されている。興味深いことに脂質代謝に関連する分子を検索すると RXRA の発現低下(図3)やフォスホリパーゼの活性に関わる分子群の発現変化を認めた。特に RXRA タンパクレベルでの発現変化は、フェロトーシスを制御する脂質関連分子として PPAR と RXRA の相互作用を示唆する重要な知見だと考えられた。

図2 フェロトーシス誘導時のタンパク発現誘導

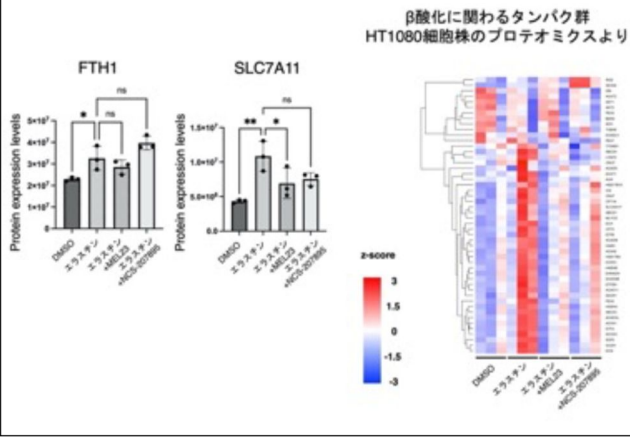
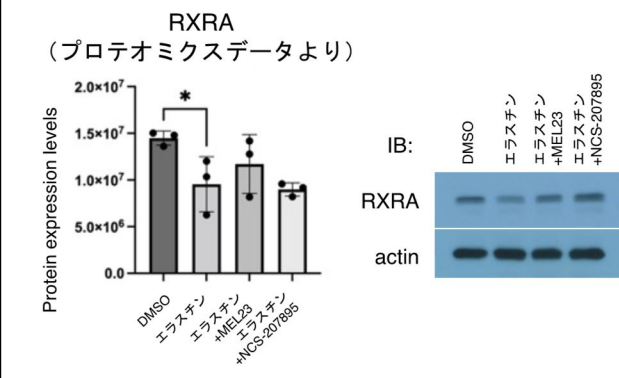


図3 核内受容体RXRAの発現変化



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Horiguchi Kazuhiko, Yoshida Yusaku, Iwaku Kenji, Emoto Naoya, Kasahara Toshihiko, Sato Junichiro, Shimura Hiroki, Shindo Hisakazu, Suzuki Satoru, Nagano Hidekazu, Furuya Fumihiko, Makita Noriko, Matsumoto Fumihiko, Manaka Katsunori, Mitsutake Norisato, Miyakawa Megumi, Yokoya Susumu, Sugitani Iwao	4. 巻 68
2. 論文標題 Position paper from the Japan Thyroid Association task force on the management of low-risk papillary thyroid microcarcinoma (T1aN0M0) in adults	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 763 ~ 780
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ20-0692	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 Kubota Yoshitaka, Nagano Hidekazu, Kosaka Kentaro, Ogata Hideyuki, Nakayama Akitoshi, Yokoyama Masataka, Murata Kazutaka, Akita Shinsuke, Kuriyama Motone, Furuyama Nobutaka, Kuroda Masayuki, Tanaka Tomoaki, Mitsukawa Nobuyuki	4. 巻 321
2. 論文標題 Epigenetic modifications underlie the differential adipogenic potential of preadipocytes derived from human subcutaneous fat tissue	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 C596 ~ C606
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpccell.00387.2020	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 Ogata H, Yamazaki Y, Tezuka Y, Xin Gao, Omata K, Ono Y, Kawasaki Y, Tanaka T, Nagano H, Wada N, Oki Y, Ikeya A, Oki K, Takeda Y, Kometani M, Kageyama K, Terui K	4. 巻 78
2. 論文標題 Renal Injuries in Primary Aldosteronism: Quantitative Histopathological Analysis of 19 Patients With Primary Adosteronism	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hypertension	6. 最初と最後の頁 411 ~ 421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.17436	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 Ochiiwa H, Ailiken G, Yokoyama M, Yamagata K, Nagano H, Yoshimura C, Muraoka H, Ishida K, Haruma T, Nakayama A, Hashimoto N, Murata K, Nishimura M, Kawashima, Y, Ohara O, Okubo S, Tanaka T.	4. 巻 40
2. 論文標題 TAS4464, a NEDD8-activating enzyme inhibitor, activates both intrinsic and extrinsic apoptotic pathways via c-Myc-mediated regulation in acute myeloid leukemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 1217 ~ 1230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-020-01586-4	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 Saiga A, Hajime Yokota H, Nagano H, Sawada K, Kubota Y, Wada T, Horikoshi T, Tanaka T, Uno T	4. 巻 41
2. 論文標題 131I-6-iodomethyl-19-norcholesterol adrenal scintigraphy as an alternative to adrenal venous sampling in differentiating aldosterone-producing adenoma from bilateral idiopathic hyperaldosteronism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nuclear Medicine Communications	6. 最初と最後の頁 1226 ~ 1233
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MNM.0000000000001293	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 Deguchi-Horiuchi H, Koide H, Sakuma I, Gao Y, Higuchi S, Nagano H, Hashimoto N, Horiguchi, K, Iwadate Y, Inoshita N, Yokote K, Tanaka T.	4. 巻 68
2. 論文標題 Two cases of symptomatic secondary hypophysitis due to Rathke's cleft cysts treated with glucocorticoids: long-term follow-up	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 269 ~ 279
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ20-0361	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 Kubota Y, Nagano H, Ishii K, Kono T, Kono S, Akita S, Mitsukawa N, Tanaka T.	4. 巻 20
2. 論文標題 Small intestinal bacterial overgrowth as a cause of protracted wound healing and vitamin D deficiency in a spinal cord injured patient with a sacral pressure sore: a case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12876-020-01423-8	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 Yoshida T, Nakayama A, Tamura A, Higuchi S, Sakuma I, Nagano H, Saulo J.A. Felizola, Takemoto M, Tatsuno I, Koide H, Yokote K, Tanaka T	4. 巻 105
2. 論文標題 A Case of Hashimoto's Thyroiditis with Multiple Drug Resistance and High Expression of Efflux Transporters	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism	6. 最初と最後の頁 399 ~ 406
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/clinem/dgz073	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 Nagano H, Kono T, Saiga A, Kubota Y, Fujimoto M, Felizola Saulo J A, Ishiwata K, Tamura A, Higuchi S, Sakuma I, Hashimoto N, Suzuki S, Koide H, Takeshita N, Sakamoto S, Ban T, Yokote K, Nakamura Y, Ichikawa T, Uno T, Tanaka T	4. 巻 105
2. 論文標題 Aldosterone Reduction Rate After Saline Infusion Test May Be a Novel Prediction in Patients With Primary Aldosteronism	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism	6. 最初と最後の頁 e319 ~ e327
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/clinem/dgz092	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 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 高 躍, 大和梓, 永野秀和, 松田達磨, 堀口健太郎, 岩立康男, 福原紀章, 西岡宏, 田中知明
2. 発表標題 GH産生下垂体腺腫のproteogenomic landscapeおよび臨床的特性
3. 学会等名 第32回日本間脳下垂体腫瘍学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石田晶子, 中山哲俊, 永野秀和, 小出尚史, 龍野一郎, 田中知明, 横手幸太郎
2. 発表標題 RhoAおよびWntシグナルを介したAKAP13の骨代謝調節機構
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河野聡美, 村田和貴, 藤本真徳, 中山哲俊, 樋口誠一郎, 橋本直子, 佐久間一基, 永野秀和, 田中知明
2. 発表標題 シングルセル解析から捉えた副腎性クッシング症候群の分子病態
3. 学会等名 第31回臨床内分泌代謝Update
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒田裕太, 瀧 由樹, 五十嵐活志, 類家裕太郎, 内藤久美子, 石渡一樹, 河野聡美, 石田晶子, 藤本真徳, 永野秀和, 鈴木佐和子, 小出尚史, 小野 啓, 田中知明, 横手幸太郎
2. 発表標題 PA患者の診断における生理食塩水負荷2時間値の有用性の検討
3. 学会等名 第31回臨床内分泌代謝Update
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 橋本直子, 河野聡美, 河野貴史, 樋口誠一郎, 佐久間一基, 永野秀和, 田中知明
2. 発表標題 ツッシング症候群5例におけるオシドロスタットの有用性の検討
3. 学会等名 第31回臨床内分泌代謝Update
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高 躍, 村田和貴, 大和 梓, 永野秀和, 松田達磨, 堀口健太郎, 岩立康男, 福原紀章, 西岡 宏, 山田正三, 井下尚子, 田中知明
2. 発表標題 Multi-Omicsから見た下垂体神経内分泌腫瘍の特性
3. 学会等名 第32回間脳・下垂体・副腎系研究
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中山哲俊, 横山真隆, 永野秀和, 橋本直子, 山形一行, 村田和貴, 田中知明
2. 発表標題 3次元培養における変異p53のSREBP依存的コレステロール合成経路を介した乳がん悪性化形質に対する作用機構
3. 学会等名 第80回日本癌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高 躍, 松田達磨, 村田和貴, 永野秀和, 橋本直子, 堀口健太郎, 岩立康男, 福原紀章, 西岡 宏, 田中知明
2. 発表標題 ノンターゲットプロテオミクスとRNAシーケンスを用いた下垂体神経内分泌腫瘍の統合解析
3. 学会等名 第39回内分泌代謝学サマーセミナー
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中山哲俊, 横山真隆, 宮 英博, 赤嶺博行, 高 躍, 永野秀和, 山形一行, 橋本直子, 村田和貴, 田中知明
2. 発表標題 SREBP依存のコレステロール合成経路を介した変異p53の乳がん悪性化形質に対する作用機構
3. 学会等名 第39回内分泌代謝学サマーセミナー
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高 躍, 永野 秀和, 大和 梓, 橋本 直子, 堀口 健太郎, 岩立 康男, 福原 紀明, 西岡 宏, 田中 知明
2. 発表標題 Multi-Omicsから見た機能性下垂体腺腫の転写ネットワークの役割
3. 学会等名 第30回臨床内分泌代謝Update
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中山 哲俊, 横山 真隆, 永野 秀和, 山形 一行, 橋本 直子, 村田 和貴, 田中 知明
2. 発表標題 3次元培養を用いた乳がん悪性化形質に対する変異p53・SREBP依存のコレステロール合成経路の協調的作用機構
3. 学会等名 第79回日本癌学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中山哲俊 横山真隆 永野秀和 山形一行 橋本直子 村田和貴 田中知明
2. 発表標題 Cooperative Mechanism of p53 and SREBP-dependent Mevalonate Pathway in Malignant Formation of Breast Cancer
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大和 梓, 永野 秀和, 山形 一行, 橋本 直子, 高 躍, 岩立 康男, 福世 真樹, 金田 篤志, 井下 尚子, 福原 紀章, 西岡 宏, 山田 正三, 田中 知明
2. 発表標題 GH産生下垂体腫瘍におけるSDHxの体細胞copy数減少症例は治療抵抗性を示す
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高 躍, 永野 秀和, 堀口 健太郎, 橋本 直子, 中山 哲俊, 樋口 誠一郎, 山形 一行, 横山 真隆, 岩立 康男, 田中 知明
2. 発表標題 マルチオミクス解析から捉える下垂体腺腫の特徴
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 樋口 誠一郎, 高 躍, 姚 躍, 大和 梓, 橋本 直子, 永野 秀和, 中山 哲俊, 西村 基, 山形 一行, 横山 真隆, 藤井 陽一, 小川 誠司, 田中 知明
2. 発表標題 コルチゾール産生腺腫における新規PRKACA変異同定と機能解析
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 橋本 直子, 大和 梓, 樋口 誠一郎, 永野 秀和, 小出 尚史, 柴田 貴久, 伴 俊明, 内田 大学, 横手 幸太郎, 田中 知明
2. 発表標題 実地臨床における2型糖尿病患者に対するルセオグリフロジンの効果の検討
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Akitoshi Nakayama, Masataka Yokoyama, Hidekazu Nagano, Naoko Hashimoto, Kazuyuki Yamagata, Kazutaka Murata, Tomoaki Tanaka
2. 発表標題 Mechanism of Mutant p53 Using Three-dimensional Culture on Breast Cancer Malignant Phenotype via SREBP-dependent Cholesterol Synthesis Pathway
3. 学会等名 ndocrine Society 's Annual Meeting 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021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
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	プリヴェス キャロル (Prives Carol)	Columbia University・Department of Biological Science・Professor	

	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
その他の研究協力者	田中 知明 (Tomoaki Tanaka) (50447299)	千葉大学・大学院医学研究院・教授 (12501)	

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	Columbia University			