

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08735

研究課題名(和文) グルコース飢餓時における白血病細胞の新たな解糖系活性化機構の解明

研究課題名(英文) New glycolytic activation mechanism in leukemic cells during glucose starvation

研究代表者

齋藤 祐介 (Saito, Yusuke)

北海道大学・医学研究院・客員研究員

研究者番号：20585674

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：AML細胞の解糖系亢進は抗がん剤抵抗性に寄与するため、解糖系阻害はAMLの重要な治療戦略である。AML細胞がグルコース飢餓時に利用する糖質としてマンノースを同定した。マンノースはマンノース-6-リン酸イソメラーゼ(PMI)により解糖系からTCA回路に動員されATPを産生した。その一方でPMI発現を抑制した白血病細胞では過剰な中間代謝産物が蓄積し、解糖系代謝や酸化的リン酸化を阻害しATPは枯渇した。さらに、PMI発現抑制株にマンノース食を与えた群では白血病発症は抑制された。PMI処理能力を越えたマンノース負荷は白血病細胞のエネルギーを枯渇させることを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は白血病細胞が糖質飢餓状態において代替糖質を利用することで生存することを証明した。これまで解糖系を標的とした治療薬は臨床応用には至っておらず、PMI阻害剤の開発やマンノースの過剰投与が白血病細胞のエネルギーを枯渇させる新規治療として期待される。

研究成果の概要(英文)：Because leukemia cells proliferate by consuming glucose as an energy source, an alternative nutrient source is essential when glucose levels in bone marrow are insufficient. We profiled sugar metabolism in leukemia cells and found that mannose is an energy source for glycolysis, the tricarboxylic acid (TCA) cycle. Leukemia cells express high levels of phosphomannose isomerase (PMI), which mobilizes mannose to glycolysis; consequently, even mannose in the blood can be used as an energy source for glycolysis. Conversely, suppression of PMI expression or a mannose load exceeding the processing capacity of PMI inhibited transcription of genes related to mitochondrial metabolism and TCA cycle, thus suppressing the growth of leukemia cells. Our findings reveal a new mechanism for glucose starvation resistance in leukemia.

研究分野：がん代謝

キーワード：白血病 解糖系 マンノース

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急性白血病は化学療法・造血幹細胞移植あるいは分子標的療法の開発によってその治療成績は向上したものの、治療抵抗性の白血病の生存率は頭打ちの状態が続いており新規治療戦略の開発が急務である。白血病細胞は AKT, mTOR といった代謝制御分子を巧妙に操ることで解糖系あるいは酸化的リン酸化からのエネルギー維持が可能となる。解糖系の活性化は白血病発症における重要なプロセスであり急性骨髄性白血病(AML)では解糖系代謝関連遺伝子群の発現亢進が抗がん剤抵抗性に寄与することが報告されている(Chen WL, et al. Blood 2014)。白血病細胞がグルコースの取り込みと解糖系を活性化する過程では大量のグルコース消費が生じ骨髄内のグルコースの枯渇が生じる。申請者は、グルコース以外で白血病細胞がエネルギー源として利用可能な糖質を同定するため、代謝解析装置である細胞外フラックスアナライザーを用いて、11種類の糖質を添加し白血病細胞の解糖系代謝活性を評価し、マンノースが解糖系のエネルギー基質として利用可能であることを見出した。マンノースは単糖の一種であり、マンノース-6-リン酸イソメラーゼ(PMI)により解糖系の中間体であるフルクトース-6-リン酸に変換されることで解糖系に入り代謝される。マンノース代謝が白血病発症・増殖にどのように関与しているのかこれまで明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、1)白血病細胞のグルコース飢餓時におけるマンノース代謝のエネルギー供給機構を明らかにする。2) 白血病発症におけるマンノース代謝の必要性を明らかにする。3)白血病の治療標的としてのマンノース代謝酵素である PMI 阻害療法の抗白血病効果を検証する。これらの一連の解析により白血病細胞が新たな糖質を利用することでグルコース飢餓耐性を獲得している生存戦略を解明し、マンノースの代謝を阻害することで白血病細胞を真の飢餓状態に誘導する治療を開発する。

3. 研究の方法

1) 白血病細胞におけるマンノース代謝動態解析

白血病細胞におけるマンノースが重要な代謝経路を担うことを証明するため、安定同位体で標識されたマンノースを白血病細胞株 K562 に添加し、解糖系、TCA 回路、ペントースリン酸経路にどのように代謝されるか FLUX 解析を行う。

2) マンノース摂取による正常造血への影響の検討

野生型マウスに、マンノース食を与え生化学的検査、末梢血検査、骨髄造血細胞の解析を行い、コントロール食との変化を解析する。

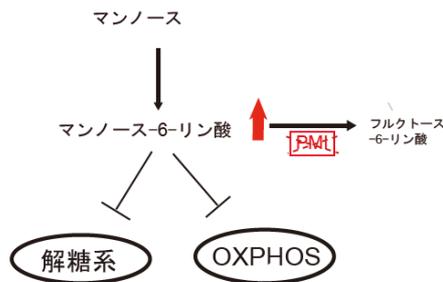
3) マウス白血病モデルを用いたマンノース代謝標的療法の開発

PMI 活性が高い癌腫では PMI を阻害あるいは発現抑制することで細胞増殖を抑制できる可能性がある。PMI 発現抑制白血病細胞株について細胞増殖能と解糖系活性を評価する。さらに PMI 発現抑制株を免疫不全マウスに移植し、生存期間、白血病細胞増殖能を評価する。PMI 抑制白血病を移植したマウス白血病モデルに、マンノース食を与え白血病増殖を抑制できるか検討する。

4. 研究成果

1) 白血病細胞におけるマンノース代謝動態解析

マンノース代謝を制御するマンノース-6-リン酸イソメラーゼ (PMI)の白血病細胞での機能を明らかにするため、PMI 発現抑制 AML 細胞株を作成し代謝フラックス解析を行なった。PMI を発現する AML に取り込まれたマンノースは解糖系、PPP、TCA 回路に代謝され ATP を産生する。一方で PMI 発現抑制 AML ではマンノース 6 リン酸が蓄積し解糖系の中間代謝産物が減少することに加えて PPP と TCA 回路の代謝産物が減少した。これらの結果から PMI 抑制状態のマンノース負荷は解糖系の抑制のみならず TCA 回路や PPP も抑制することで細胞増殖を阻害することが明らかとなった (図 1)。



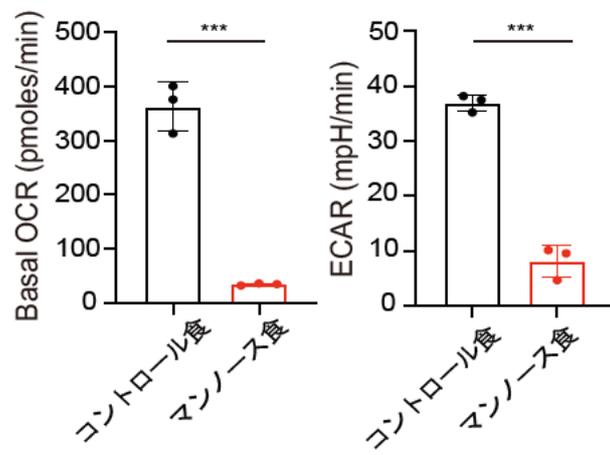
(図 1)

2) マンノース摂取による正常造血への影響の検討

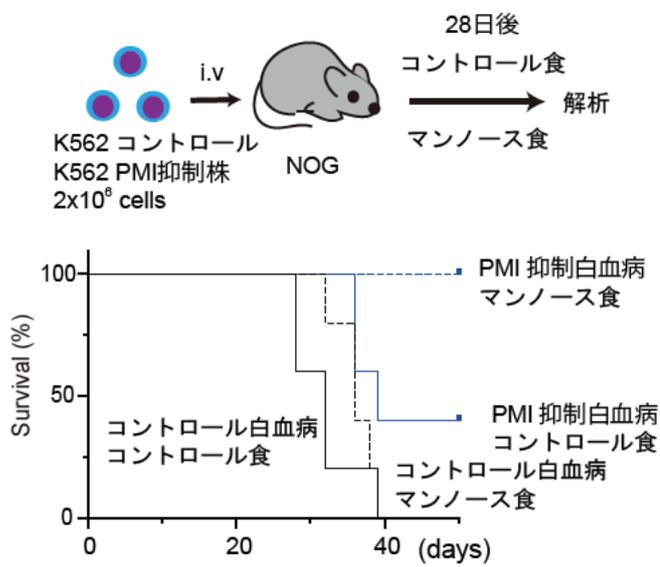
次にマンノース負荷の造血能および白血病細胞増殖への影響を検討するため、マウス食餌のスクロースをマンノースに置換したマンノース食を作成し解析を行なった。また、マンノース食群は正常食群と比較して骨髓細胞に有意差はなかったものの造血幹細胞が有意に低下し、骨髓単球前駆細胞は有意に増加した。

3) マウス白血病モデルを用いたマンノース代謝標的療法の開発

グルコースをマンノースに置換した食餌を作製し、マンノースの *in vivo* における抗白血病効果を検討した。慢性骨髓性白血病急性転化のマウス白血病モデルで、マンノース食群はコントロール食と比較して生存期間が延長し、白血病細胞の解糖系活性および OXPHOS の低下とミトコンドリア関連遺伝子群の発現低下を認めた (図 2)。また、PMI 抑制 K562 細胞を NOG マウスに皮下接種したゼノグラフトにマンノース食を与え 15 日後の腫瘍増殖を評価した。コントロールではマンノース食による増殖抑制効果は認めなかったが、PMI 抑制株では腫瘍体積、重量ともに有意に減少した。K562 を経静脈的に移植したゼノグラフトモデルでは、PMI 発現抑制株にマンノース食を与えた群で白血病発症は抑制された (図 3)。PMI で処理できないマンノース負荷は解糖系のみならず OXPHOS を抑制し白血病細胞のエネルギーを枯渇させることを証明した。



(図 2)



(図 3)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Saito Yusuke, Kinoshita Mariko, Yamada Ai, Kawano Sayaka, Liu Hong Shan, Kamimura Sachiyo, Nakagawa Midori, Nagasawa Syun, Taguchi Tadao, Yamada Shuhei, Moritake Hiroshi	4. 巻 112
2. 論文標題 Mannose and phosphomannose isomerase regulate energy metabolism under glucose starvation in leukemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4944 ~ 4956
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15138	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2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yusuke Saito
2. 発表標題 Mannose and phosphomannose isomerase regulate energy metabolism under glucose starvation in leukemia
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤 祐介
2. 発表標題 白血病代謝解析を新規治療開発につなげる
3. 学会等名 第62回 日本小児血液・がん学会学術集会（招待講演）
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
---------------------------	-----------------------	----

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