

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：32703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K10193

研究課題名(和文)細胞膜エネルギーセンサーGPRC5Bに着目した頭頸部扁平上皮癌へのケトン食の導入

研究課題名(英文) Introduction of a ketogenic diet to head and neck squamous cell carcinoma focusing on the cell membrane energy sensor GPRC5B

研究代表者

生駒 丈晴 (Ikoma, Takeharu)

神奈川県立大学・歯学部・助教

研究者番号：10638290

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)：近年、GPRC5Bという遺伝子が見出された。この遺伝子は細胞外のエネルギー量を感じ、その情報を細胞内に伝達する機能を有することから糖尿病の研究で注目されている。この遺伝子をノックアウトすると、生体におけるエネルギーバランスは崩壊し、飢餓状態に陥りやすくなること、さらには、高栄養食を与えても貯蔵エネルギーを蓄えられず肥満にならないことが示されている。そこで申請者は、エネルギーセンサーであるGPRC5Bが、癌細胞においても必要とするエネルギー量を感じ取るのか、さらには、エネルギー量を感じた場合、癌細胞に及ぼす影響は如何なるものかを証明することを目的とした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の最大の特徴は、現在、GPRC5Bは糖尿病との関連性に注目されており、頭頸部癌のみならず多臓器に発生する悪性腫瘍においても研究対象となっていないことである。その理由は、GPRC5Bノックアウトマウスはインスリン感受性が高く、肥満による2型糖尿病の発症が抑制されたことに起因する。実際、糖尿病の治療対象と期待される遺伝子が、癌にとっては好都合な遺伝子であることが多い。GPRC5Bと癌細胞のエネルギー代謝の関連性への着目は、癌研究におけるさきがけであり新たな一歩となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Recently, a gene called GPRC5B was discovered. This gene has attracted attention in diabetes research because it has the function of sensing the amount of extracellular energy and transmitting that information into the cell. It has been shown that when this gene is knocked out, (1) the energy balance in the body is disrupted and starvation becomes more likely, and (2) even if a highly nutritious diet is given, the stored energy cannot be stored and obesity does not occur. Therefore, the applicant will (1) prove whether GPRC5B, an energy sensor, can detect the amount of energy required by cancer cells, and (2) what effect it will have on cancer cells if it senses the amount of energy.

研究分野：頭頸部扁平上皮癌

キーワード：頭頸部扁平上皮癌 扁平上皮癌 GPRC5B BOSS ケトン食

1. 研究開始当初の背景

近年、BOSS/GPRC5B という遺伝子が見出された。この遺伝子は細胞外のエネルギー量を感じ、その情報を細胞内に伝達する機能を有することから糖尿病の研究で注目されている。着目すべきは、この遺伝子をノックアウトすると、(1) 生体におけるエネルギーバランスは崩壊し、飢餓状態に陥りやすくなること、さらには、(2) 高栄養食を与えても貯蔵エネルギーを蓄えられず肥満にならないことが示されている。癌細胞は正常細胞と比較し、増殖するためには非常に多くのエネルギーを必要とする。また、環境の変化に応じて、取り込むエネルギー源は糖のみならず、アミノ酸など他の物質に依存することで増殖し続ける能力を有することも報告されている。

エネルギーは生物が生存するために必須である。それゆえ、エネルギーの代謝すなわち細胞におけるエネルギーの貯蔵と消費のバランスが崩れることは、肥満や若い瘦といった重大な疾病を引き起こす。通常、生体は恒常性によりある程度のバランスを保つことは認識されているものの、如何なる分子が生体にとって必要となるエネルギー量を検知しているかは不明であった。近年、理化学研究所が細胞および生体にとって必要とするエネルギー量を検知する受容体（エネルギーセンサー）が細胞膜上に存在することを明らかにした。もともとこの受容体は、ショウジョウバエの複眼形成に関与する分子として同定され BOSS/GPRC5B と名付けられていた。その後この分子は、(1) 7 回膜貫通型受容体であること、(2) ショウジョウバエにおいて細胞外に突出した領域は複眼形成、その他の領域は細胞のエネルギーセンサーに関与することが明らかとなった。当然、複眼を持たない生物では、細胞外に突出した複眼形成に関与する領域は欠失している。しかしながら、その他の領域に関しては哺乳類においても非常によくアミノ酸配列は保存されており、ショウジョウバエと同様にエネルギーセンサーとして必要な役割を果たしていることが明らかとなっている。現在この分子は、糖の取り込みやインスリン感受性においても関与し、糖尿病との関連性について関心が高まっている。

2. 研究の目的

申請者の研究テーマである癌細胞においても、過剰な糖の取り込みすなわち糖代謝異常が癌細胞の増殖に重要とされている。そこで癌細胞における糖代謝異常は、BOSS/GPRC5B 遺伝子の機能の欠落によって生じると仮定し、図.1 に示すよう Kaplan-Meier プロット（患者サンプルをもとにマイクロアレイを行った解析データベース）で BOSS/GPRC5B の遺伝子発現レベルと癌患者の予後について検索を行った。驚くことに、予想を反して、BOSS/GPRC5B が高発現している癌を有する患者は、非常に予後が悪い結果を得た。これまで申請者らは、癌細胞における代謝（主に糖代謝）について研究に従事してきた。我々にとって「なぜエネルギーの恒常性を担うはずの BOSS/GPRC5B が高発現すると、癌患者の予後が悪くなるのか」は非常に興味深く、また、癌細胞における BOSS/GPRC5B の役割を解明することは、今後の癌研究において重要であると考えられた。そこで申請者は、(1) エネルギーセンサーである BOSS/GPRC5B が、癌細胞においても必要とするエネルギー量を感じ取るのか、さらには、(2) エネルギー量を感じ取った場合、癌細胞に及ぼす影響は如何なるものかを証明することを目的とした。

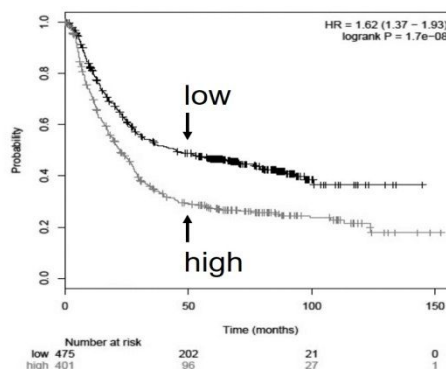


図.1 BOSS/GPRC5B の発現レベルによる癌患者の予後

3. 研究の方法

令和2年度の研究では、癌細胞の異常な糖の取り込みが BOSS/GPRC5B の機能異常(欠損もしくは発現過剰)によって引き起こされるのかを検討するものであった。本研究を進めるうえで基礎となる部分で、一般的な細胞株や患者検体を使用し、これまで明らかにされていなかった癌細胞での BOSS/GPRC5B 発現量を確認するものだった。確認できる範囲の細胞株で均一的に発現しているわけではなく、一部で遺伝子発

現の増加がみられるという結果を得ていた。令和3年度では BOSS/GPRC5B の発現が高い細胞には BOSS/GPRC5B に対する sh-RNA、低い細胞には BOSS/GPRC5B 強制発現ベクターを遺伝子導入し、糖代謝に対する機能解析を進めた。令和4年度はこれまでの研究成果をまとめ、論文として報告した。

4. 研究成果

BOSS/GPRC5B は、細胞外グルコース量を感じ、グルコース代謝、およびインスリン抵抗性に関与していることが明らかとなっている。多くの癌細胞は生存および成長のために、高血糖の環境を維持することが必要となっている。

そこで我々は、The Human Protein Atlas のデータを使用して、BOSS/GPRC5B 発現と頭頸部扁平上皮癌を含む癌患者の予後との関連について検索した。その結果、頭頸部扁平上皮癌、胃癌、膵臓癌、結腸直腸癌および乳癌の患者において BOSS/GPRC5B が高発現を示した場合、5年生存率は大幅に低下することが明らかとなった。

またグルコース代謝における BOSS/GPRC5B の役割を、BOSS/GPRC5B 発現レベルが異なる6つの頭頸部扁平上皮癌細胞株を使用して評価したところ、BOSS/GPRC5B 発現が高い細胞株ほど急速な細胞増殖を促進することが明らかとなった。

標準培養下で正常な BOSS/GPRC5B 発現ベクターと BOSS/GPRC5B 過剰発現ベクターを細胞株に導入し、細胞株の生存率について検討したが、差異は認めなかった。しかし、グルコース欠乏培養条件下では、BOSS/GPRC5B 過剰発現細胞は生存率の増加とアポトーシスの減少を示した。

この結果から、頭頸部扁平上皮癌を含む、さまざまながん患者における BOSS/GPRC5B の高発現と低い5年生存率との関連性が明らかとなり、今後 BOSS/GPRC5B が癌治療の標的分子となる可能性について示唆された。

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 Keisuke KANAMORI, Shigeyuki OZAWA, Hiroshi IWABUCHI, Takeharu IKOMA, Kenji SUZUKI, Kae TANAKA, Natsuko YOSHIMURA SAWAI, Takahiro ABE, Yasumasa KATO, Ryu-Ichiro HATA, Masaru KOBAYASHI	4. 巻 44
2. 論文標題 GPRC5B (G protein-coupled receptor class C group 5 member B) suppresses glucose starvation-induced apoptosis in head-and-neck squamous cell carcinoma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.44.1	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 金森慶亮、小澤重幸、生駒丈晴、鈴木健司、田中香衣、沢井奈津子、小関理恵子、岩淵博史、安部貴大
2. 発表標題 糖尿病原因遺伝子GPRC5BIはグルコース飢餓によって誘導される頭頸部扁平上皮癌細胞のアポトーシスを抑制する
3. 学会等名 NPO法人日本口腔科学会
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
研究分担者	小澤 重幸 (Ozawa Shigeyuki) (40434394)	神奈川歯科大学・歯学部・特任准教授 (32703)	

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