

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 11 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22700868

研究課題名（和文）癌細胞の糖代謝亢進による細胞内シグナル伝達制御の分子メカニズム

研究課題名（英文）Molecular mechanisms by which increased glucose metabolism regulates signaling pathways in cancer

研究代表者

小野寺 康仁（ONODERA YASUHIITO）

北海道大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：90435561

研究成果の概要（和文）：本研究では、乳がん細胞の3次元培養系を用いて、がん細胞の糖代謝亢進によるシグナル経路制御メカニズムを解析した。特に、解糖系から分岐するヘキソサミン合成経路に着目し、この経路に関与する酵素の活性が、がん細胞のシグナル活性や悪性形質において根幹的な役割を果たしていることを明らかにした。また、同経路の下流で行われるタンパク質の O-GlcNAc 修飾や、それに関与する酵素の活性が重要であることも見出した。がん細胞特異的に O-GlcNAc 修飾を受けるタンパク質の同定を行い、それぞれのがん細胞における機能や O-GlcNAc 修飾の意義について解析を継続している。

研究成果の概要（英文）：In this study, using three dimensional culture of breast cancer cells, the principal investigator examined mechanisms by which increased glucose metabolism regulates signaling pathways in cancer cells. In particular, the PI focused on hexosamine biosynthesis pathway (HBP), which branches from glycolytic pathway, and found that the enzymes in HBP play fundamental roles in signaling activity and malignant phenotype in cancer cells. Moreover, O-GlcNAc modification of proteins, which is downstream of HBP, and the enzyme responsible for O-GlcNAc modification were also found to be essential. Target proteins modified with O-GlcNAc specifically in cancer cells were also identified, and the roles of the proteins and the modification are now under investigation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：乳癌、糖代謝、3次元培養

### 1. 研究開始当初の背景

がん細胞における解糖系の亢進は、シグナル経路の活性化の結果として起こり、がん細胞の増殖や生存の手段として利用されていると考えられていた。一方で、様々な代謝経路の活性がシグナル活性や細胞の様々な機能を制御することが広く知られていた。

研究代表者はがん細胞における糖代謝亢進はシグナル経路によって制御されるばかりではなく、シグナル活性やがん形質の維持に必須であることを見出した。すなわち、糖代謝亢進ががん形質獲得において原因的な役割を果たすことが示唆された。

### 2. 研究の目的

糖代謝亢進によるシグナル経路活性化のメカニズムを明らかにするため、本研究では解糖系から分岐するヘキソサミン合成経路に着目し、その役割を解析する。ヘキソサミン合成経路の下流に位置する、タンパク質のN-結合型グリコシル化およびO-GlcNAc化経路の役割についても解析し、がん形質におけるこれらの経路の重要性を検討する。

また、これらの解析により、がん治療における新たな分子標的や、がんの性状を判断する分子マーカーの候補を見出すことを目標とする。

### 3. 研究の方法

上記のような糖代謝によるシグナル活性の制御は3次元培養環境下において顕著にみられる。したがって、全ての解析は再構成基

底膜（マトリゲル）を用いた乳癌細胞（および正常乳腺上皮細胞）の3次元培養を用いて行った。

薬剤やsiRNAを用いてヘキソサミン合成経路やN-結合型グリコシル化、O-GlcNAc化に関する酵素を阻害し、シグナル活性やがん形質（上皮極性の喪失など）に与える影響を確認した。これによって重要であることが示唆された酵素については、乳癌組織を用いたマイクロアレイ解析のデータベース等を用いて、発現量と予後の相関についての解析も行った。

また、糖代謝亢進に伴い、乳癌細胞特異的にO-GlcNAc修飾を受けるタンパク質の同定を行い、それらのがん細胞における役割やO-GlcNAc修飾の意義について検討した。

### 4. 研究成果

上記の方法により、ヘキソサミン合成経路とその下流におけるO-GlcNAc修飾が、がん形質の獲得において非常に重要であることが確認できた。これらの経路に寄与する酵素の発現について、複数のマイクロアレイ解析の結果を用いて解析を行ったところ、当該の酵素の発現量増加は乳癌患者の予後不良と相関することが示唆された。

さらに、幾つかの解糖系酵素の発現量と組み合わせると同様の解析を行った場合、より顕著な相関性が見出された。すなわち、がん細胞がヘキソサミン合成経路と解糖系の双方を活性化している場合は非常に予後が悪く、逆にどちらも活性が低い場合は非常に予後が良いことが示唆された。これらの結果は、他

の解析の結果と合わせて学術誌に投稿し、現在査読中である。

一方、N-結合型グリコシル化経路は細胞の生存には必須であったが、これは正常細胞も同様であったため、がん細胞特異的な事象ではなく、がん治療の分子標的としては適切でないことが示唆された。

O-GlcNAc 修飾の重要性が確認できたため、どのようなタンパク質ががん細胞特異的に当該の修飾を受けているか、探索を行った。幾つかのタンパク質が候補として得られており、現在それらの役割や O-GlcNAc 化の意義についての検討を進めているところである。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Onodera Y., Nam JM., Hashimoto A., Norman JC., Shirato H., Hashimoto S. And Sabe H. Rab5c promotes AMAP1-PRKD2 complex formation to enhance  $\beta 1$  integrin recycling in EGF-induced cancer invasion. *J Cell Biol* (Editorially Accepted), 査読有
- ② Nam JM., Onodera Y., Bissell MJ. And Park CC. Breast cancer cells in three-dimensional culture display an enhanced radioresponse after coordinate targeting of integrin  $\alpha 5 \beta 1$  and fibronectin. *Cancer Res*, 70:5238-5248, (2010), 査読有, doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-2319

[学会発表] (計 6 件)

- ① 小野寺康仁, AMAP1 promotes  $\beta 1$

integrin recycling via PRKD2 and Rab5c in EGF-induced invasion of breast cancer cells (104/120), 第 70 回日本癌学会学術総会, 2011 年 10 月 3 日, 名古屋国際会議場 (愛知県)

- ② 小野寺康仁, Glucose metabolism and intracellular trafficking in tumor malignancy, 第 63 回日本細胞生物学会大会, 2011 年 6 月 27 日, 北海道大学 (北海道)
- ③ 小野寺康仁, Intracellular trafficking and glucose metabolism in tumor malignancy, 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会合同大会, 2010 年 12 月 9 日, 神戸ポートアイランド (兵庫県)
- ④ 小野寺康仁, Roles of intracellular trafficking and glucose metabolism in tumor malignancy, 第 69 回日本癌学会学術総会, 2010 年 9 月 22 日, 大阪国際会議場 (大阪府)
- ⑤ 小野寺康仁, Intracellular traffic and glucose metabolism in tumor malignancy, 第 62 回本細胞生物学会大会, 2010 年 5 月 20 日, 大阪国際会議場 (大阪府)
- ⑥ 小野寺康仁, 癌細胞の休眠と再活性化: 糖代謝と小胞輸送の関与, 第 2 回シグナルネットワーク研究会, 2010 年 5 月 14 日, 千里ライフサイエンスセンター (大阪府)

[その他]

ホームページ等

<http://www.hucc.hokudai.ac.jp/~g21001/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小野寺 康仁 (ONODERA YASUHITO)

北海道大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：90435561

### (2) 研究分担者 なし

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者 なし

( )

研究者番号：