

平成 30 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20874

研究課題名(和文) 癌細胞特異的に発現するOR7C1の分子機構解明と新規治療法開発へ向けた基礎的研究

研究課題名(英文) Uncovering the molecular mechanisms of OR7C1 in cancer biology.

研究代表者

武井 則雄 (Takei, Norio)

北海道大学・産学・地域協働推進機構・特任助教

研究者番号：50523461

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：OR7C1は癌幹細胞特異的に発現する分子として同定され、癌病態増悪化への関与が示唆されている機能未知のGPCRである。本研究では、OR7C1の癌生物学における機能を明らかにすることを目的として、OR7C1遺伝子欠損細胞株(KO)を樹立し、野生型細胞株(WT)との比較解析を行った。結果、KOでは、*in vivo*における腫瘍形成能および転移能の減弱が認められた。また*in vitro*における細胞増殖能を検証した結果、糖および特定のアミノ酸に依存して、細胞増殖能の抑制が認められた。以上の結果から、OR7C1は癌細胞におけるエネルギー代謝において重要な役割を果たしていると考えられた。

研究成果の概要(英文)：OR7C1 is a G protein coupled receptor and expressed in cancer stem cell and suggested the possibility as a novel factor of poor prognosis. However, the function in cancer remain unclear. In this study, to uncover the importance of OR7C1 expression in cancer biology, we generated conventional OR7C1 knockout clones by using the CRISPR/Cas9 system. As a result, OR7C1 KO decreased tumorigenicity and metastasis *in vivo* and cell proliferation under specific medium conditions *in vitro*. In conclusion, our findings suggest that OR7C1 is predominantly activated under specific condition such as starvation and contributes to cancer progression. Collectively, OR7C1 could be used as both a diagnostic biomarker of cancer exacerbation and a therapeutic target.

研究分野：分子生物学

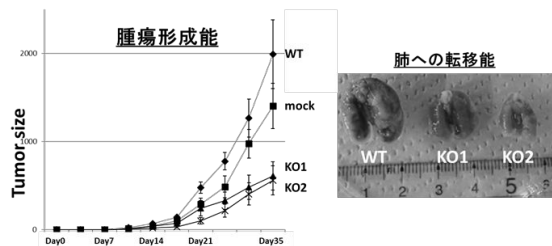
キーワード：GPCR OR7C1 CRISPR/Cas9 糖代謝 癌 嗅神経細胞



なお、タンパクレベルでの発現消失も試みたが、本分子に対する市販抗体は推定分子量サイズに顕著な非特異的バンドが検出されたことから、タンパクレベルでの解析を目指し、現在新規抗体を作成中である。

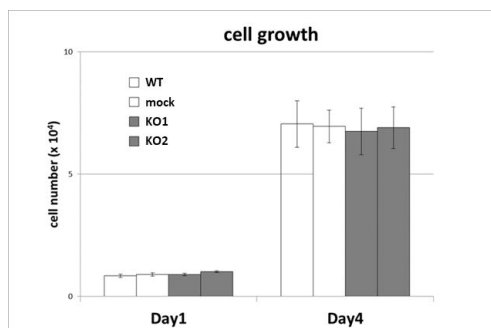
(2) xenograft model を用いた腫瘍形成能、転移能の検証

WT と KO 細胞を用いて、nude マウス皮下移植による xenograft model ならびに尾静注による肺転移モデルによる癌病態への影響を検証した。結果、KO 群で顕著な腫瘍形成能抑制と、肺転移能抑制効果が認められた。

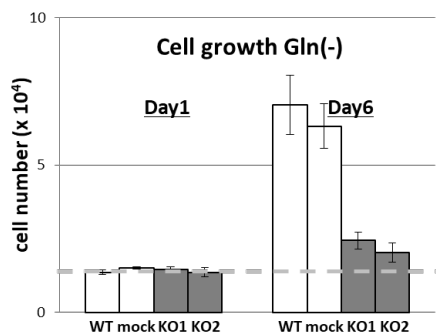


(3) WT と KO における in vitro 細胞増殖能の比較解析

はじめに、通常培養下での細胞増殖能を検証したところ、WT と KO 間ではその細胞増殖能に有意差は認められなかった。



そこで、様々な栄養成分を調整した複数の培養液を用い、その条件下での細胞増殖能を WT と KO 群で検証した結果、Glutamine 濃度依存的な顕著な細胞増殖能抑制が KO で認められた。

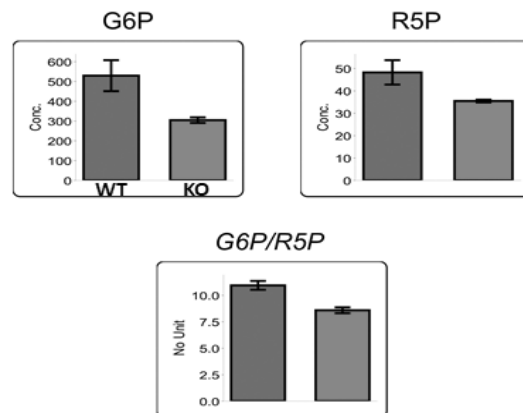


(4) メタボローム解析を用いた OR7C1 の機能探索

上述の様に、KO 群では Glutamine 濃度に依存した細胞増殖能に変化が認められたことから、OR7C1 はエネルギー代謝系に関与している可能性が考えられる。そこで、WT

および KO 細胞株を用いてメタボローム解析を行い、網羅的な代謝変化を検証した。その結果、期待した通り、KO 群では、解糖系の中間代謝物質であるグルコース 6-リン酸ならびにグルコース 6-リン酸からのペントースリン酸経路への、ボトルネック反応で本経路により変換されるリボース 5-リン酸の両者の減少が KO 群で認められた。

がん細胞は正常細胞とは異なり、解糖系を利用して ATP を得ることが知られており（ワールブルグ効果）、加えて癌細胞の増殖には、ATP の他に、代謝性要求、すなわち核酸、アミノ酸、リン脂質、脂肪酸が必須であることから、癌細胞はワールブルグ効果により、ペントースリン酸経路も利用することで炭素骨格、NADPH を得ていると考えられている (Vander et al, Science, 2009)。以上のことから OR7C1 は本経路に関与する重要な分子であることが推察された。



< 引用文献 >

Morita R, Hirohashi Y, Torigoe T, Ito-Inoda S, Takahashi A, Mariya T, Asanuma H, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Kubo T, Kutomi G, Mizuguchi T, Terui T, Ishitani K, Hashino S, Kondo T, Minagawa N, Takahashi N, Taketomi A, Todo S, Asaka M, Sato N. Olfactory Receptor Family 7 Subfamily C Member 1 Is a Novel Marker of Colon Cancer-Initiating Cells and Is a Potent Target of Immunotherapy. Clin Cancer Res. 1;22(13):3298-309, 2016  
Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science. 324(5930) 1029-33, 2009

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 3 件)

Fujii M, Yoneda A, Takei N, Sakai-Sawada K, Kosaka M, Minomi K,

Yokoyama A, Tamura Y. Endoplasmic reticulum oxidase 1α is critical for collagen secretion from and membrane type 1-matrix metalloproteinase levels in hepatic stellate cells. J Biol Chem. 査読有, 292(38):15649-15660, 2017. doi: 10.1074/jbc.M117.783126.

Takei N, Yoneda A, Sakai-Sawada K, Kosaka M, Minomi K, Tamura Y. Hypoxia-inducible ERO1α promotes cancer progression through modulation of integrin-β1 modification and signalling in HCT116 colorectal cancer cells. Sci Rep. 査読有, 7(1):9389, 2017. doi: 10.1038/s41598-017-09976-7.

Tamura Y, Yoneda A, Takei N, Sawada K. Spatiotemporal Regulation of Hsp90-Ligand Complex Leads to Immune Activation. Front Immunol. 査読有, 7:201, 2016. doi: 10.3389/fimmu.2016.00201.

[学会発表](計 7件)

武井則雄、米田明弘、澤田香織、小坂まりな、味吞憲二郎、田村保明 ERO1αは低酸素環境下において integrin-β1 の立体構造形成に関与し癌細胞増殖に寄与する 第12回臨床ストレス応答学会大会 2017年

米田明弘、武井則雄、澤田香織、小坂まりな、味吞憲二郎、田村保明 癌細胞における HSP47 の IRE1α 活性調節機構 第12回臨床ストレス応答学会大会 2017年

米田明弘、武井則雄、澤田香織、小坂まりな、味吞憲二郎、田村保明。癌細胞における HSP47 の ER ストレスセンサー IRE1α の活性調節機構 第40回日本分子生物学会年会(ConBio2017) 2017年

武井則雄、米田明弘、澤田香織、田村保明 低酸素誘導性 ERO1α は大腸がん細胞株においてがん増殖に寄与する 第76回日本癌学会学術総会 2017年

米田明弘、武井則雄、澤田香織、小坂まりな、味吞憲二郎、田村保明 HSP47 は ER ストレスセンサー IRE1α の活性抑制を介して癌細胞増殖を調節する 第76回日本癌学会学術総会 2017年

Akihiro Yoneda, Norio Takei, Kori Sakai-Sawada, Marina Kosaka, Kenjiro Minomi, Yasuaki Tamura. Heat

shock protein 47 maintain cancer cell survival through its inhibitory effect on ER stress sensor IRE1α activity American Association for Cancer Research 2017年

米田明弘、藤井瑞希、武井則雄、澤田香織、横山敦郎、田村保明。肝星細胞における小胞体酸化還元酵素 ERO1α の機能解析 第39回日本分子生物学会年会 2016年

[図書](計 0件)

[産業財産権]

○出願状況(計 0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況(計 0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

武井 則雄 (TAKEL, Norio)  
北海道大学・産学・地域協働推進機構・難治性疾患治療部門・特任助教  
研究者番号: 50523461

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号:

### (4) 研究協力者

( )