

平成 29 年 5 月 7 日現在

機関番号：81303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19080

研究課題名(和文) 癌代謝を制御するPKM2を標的とした胃癌、膵癌治療の基礎的検討

研究課題名(英文) Role of PKM2 in gastric and pancreatic cancer, as a regulator of cancer metabolism

研究代表者

横山 美沙 (Yokoyama, Misa)

地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター(研究所)・がん幹細胞研究部・共同研究員

研究者番号：90727471

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)：PKM2を標的とした治療法確立のために、1)PKM2は癌遺伝子として治療標的と成り得るのか；2)PKM2の発現抑制が正常細胞に対して影響するのか；3)なぜ、癌はPKM1ではなくPKM2型となるのかを明らかにすることを目的とした。臨床検体及び細胞株を用いた検討の結果、胃癌および膵癌においてPKM2は癌細胞の増殖に関与することが明らかになった。PKM2は胃癌、膵癌の進展に重要な役割を演じており、治療標的となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the role of PKM2 in the development of gastric and cancer development, we evaluated molecular mechanisms of PKM2 using clinical tissue sample and cancer cell lines. We demonstrated that PKM2 plays critical roles of cell growth in gastric and pancreatic cancer. These data suggested that PKM2 is a good target for therapy.

研究分野：腫瘍学

キーワード：PKM2

1. 研究開始当初の背景

癌細胞では、好気性の環境においても嫌気呼吸による解糖系が亢進しており、Warburg 効果として知られている。これは、癌細胞を取り巻く低酸素などの微小環境への適応のためと考えられていたが、活性酸素(reactive oxygen species, ROS)の産生を抑制することにも関与していることが明らかになってきている。ROS は DNA に障害を与え変異を誘導することで癌化を促進すると考えられていた。しかし、癌幹細胞の性質維持には細胞内の ROS レベルを低く保つことが重要であることや癌化過程や癌進展にも ROS の解毒化が重要な役割を演じていることが示されている。このように、ROS の制御などによって癌化や進展に関与している Warburg 効果を調整しているのが、ピルビン酸キナーゼ(PK)の M2 型(PKM2)であることが報告された(Christofk HR, et al. Nature 2008)。この報告によると、正常細胞では PK の M1 型が発現し、癌になると M2 型が発現するようになる。PKM1 と PKM2 は同じ PKM 遺伝子によってコードされ相互排他的なスプライシングによってどちらかの蛋白が産生される。従って、彼らは正常細胞に癌化が生じる過程でスプライシングによって PKM1 が PKM2 にスイッチすることを提唱し、癌細胞で PKM2 をノックアウトして PKM1 を発現させると Warburg 効果が消失し、癌細胞の増殖も抑制されることを示した。その後もがん細胞では PKM2 が優位に発現し、正常部に比べ発現が高いことも多くの癌種で報告された。PKM2 の触媒酵素としての活性が PKM1 に比べ低いことから、癌にとって PKM の酵素活性低下が重要との説も唱えられている。しかし、ごく最近になり、様々な正常上皮でも PKM2 の発現が PKM1 と比べ優位であり、PKM1 から PKM2 へのスイッチングは起こらない可能性、また、

PKM2 の発現を抑制しても癌化が促進するといった以前の報告に相反する結果もみられるようになり、PKM2 は癌にとって促進的に働くといった仮説に疑問が生じてきている。

PKM2 は癌遺伝子として機能しているのか？あるいは代謝酵素として癌の悪性化に寄与しているのかについては結論が得られていない。そこで、申請者は PKM2 を標的とした膵癌、胃癌の治療法の確立に向けたさらなる検証について計画した。

2. 研究の目的

本申請者は PKM2 を標的とした胃癌、膵癌治療法確立のために、1)PKM2 は癌遺伝子として治療標的と成り得るのか；2)PKM2 の発現抑制が正常細胞に対して影響するのか；3)なぜ、癌は PKM1 ではなく PKM2 発現優位となるのかを明らかにする。

3. 研究の方法

PKM2 を標的とした治療法確立のために、1)PKM2 は癌遺伝子として治療標的と成り得るのか；2)PKM2 の発現抑制が正常細胞に対して影響するのか；3)なぜ、癌は PKM1 ではなく PKM2 型となるのかを明らかにすることを目的に以下のことを行う：

- 1) ヒト臨床検体、胃癌マウス(Gan マウス)、膵癌マウス (Pdx1-Cre;LSL-Kras^{G12D} マウス)の癌化・進展過程における PKM2 の発現を解析する；
- 2) さらに、胃癌マウス、膵癌マウスと PKM1, PKM2 ノックイン、PKM ノックアウトマウスを作製し、経時的に腫瘍の進展を解析し、PKM の発現型と癌の関連を明らかにする；
- 3) 上記で生じた癌組織を用いてメタボローム解析と網羅的遺伝子解析を行い、PKM 発現型と癌特有の代謝の関連とそれに付随して変動する分子を同定す

る。

4. 研究成果

1. 胃癌における PKM2

健常ボランティアの正常胃粘膜において PKM2 が、PKM1 より優位に発現していた。胃癌 ESD 症例、手術症例の癌部でも、PKM2 が優位に発現しており、その発現は正常粘膜と比べ有意に増強していた(図1)。手術症例 80 例において PKM2 発現と臨床病理学的因子との関連を検討すると、PKM2 高発現群で静脈侵襲例が有意に多かった。PKM2 発現抑制胃癌細胞株は、コントロール細胞株と比べ、*in vitro* で細胞増殖能、遊走能、足場非依存性増殖能、sphere 形成能が低下し、*in vivo* において皮下腫瘍増殖と肝転移が抑制されていた。また、PKM2 ノックダウン胃癌細胞ではセリン依存性の細胞増殖亢進を認めなかった。さらに、CagA は Erk 経路を介して PKM2 の発現を誘導していた。

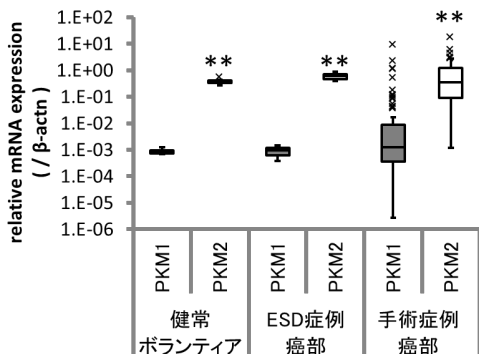


図1. 正常胃粘膜と胃癌 ESD 症例・手術症例における PKM1、PKM2 発現

2. 膵癌における PKM2

10 例の膵癌手術検体を用いて、癌部、正常膵管をマイクロダイゼクションによって削り出し、PKM の発現を検討すると、正常部、癌部ともに PKM1 と比べ PKM2 が優位に発現していた。正常部と比べ癌部で PKM2 の高い発現を認めた。膵癌細胞株 ASDPC-1, MIAPaCa-2, PANC-1 において、PKM2 が PKM1 より優位に発現していた。PKM2 をこれらの細胞株でノックダウンすると細胞増殖能は *in vitro*, *in vivo* において抑制された。さらに、細胞移動能も低下していた。

以上の結果より、PKM2 は胃癌、膵癌の進展に重要な役割を演じており、治療標的となる可

能性が示唆された。

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 1 件)

Shiroki T, Yokoyama M, Tanuma N, Maejima R, Tamai K, Yamaguchi K, Oikawa T, Noguchi T, Fujiya T, Shima H, Sato I, Murata-Kamiya N, Hatakeyama M, Iijima K, Shimosegawa T, Satoh K. The enhanced expression of PKM2 is involved in the gastric cancer development via regulating cancer specific metabolism. Cancer Sci 2017 Feb 24. [Epub ahead of print]

〔学会発表〕(計 3 件)

- 1) 横山美沙, 渋谷莉恵, 坂本良美, 田沼延公, 望月麻衣, 中村真央, 玉井恵一, 田中伸幸, 山口壹範, 菅村和夫, 佐藤賢一. ピルビン酸キナーゼM2(PKM2)と膵癌細胞増殖
第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会 2015年 12月1-4日 (神戸)
- 2) 横山美沙, 渋谷莉恵, 坂本良美, 田沼延公, 望月麻衣, 中村真央, 玉井恵一, 山口壹範, 田中伸幸, 菅村和夫, 佐藤賢一. ピルビン酸キナーゼM2(PKM2)と膵癌細胞増殖
第47回 日本膵臓学会大会 2016年 8月4-7日 (仙台)
- 3) 横山美沙, 渋谷莉恵, 坂本良美, 田沼延公, 玉井恵一, 田中伸幸, 山口壹範, 菅村和夫, 佐藤賢一. ピルビン酸キナーゼM2(PKM2)と膵癌細胞増殖
第39回 日本分子生物学会年会 2016年 11月30日-12月2日 (横浜)

〔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 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

横山 美沙 (MISA, Yokoyama)

地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城
県立がんセンター (研究所)・がん幹細胞
研究部・共同研究員

研究者番号：90727471