

令和元年6月18日現在

機関番号：81303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07187

研究課題名(和文) 化学・放射線療法で誘導される細胞老化の臨床的意義と、これを標的とする耐性がん根絶

研究課題名(英文) Targeting metabolic reprogramming during therapy-induced cellular senescence in tumor cells.

研究代表者

佐藤 郁郎 (Sato, Ikuro)

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)・ティッシュバンクセンター・部長

研究者番号：50225918

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：がんは解糖系酵素Pkmの特定isoform(Pkm2)を選択的に発現していて、このPkm2発現がワールブルグ効果(ブドウ糖が好氣的に代謝されにくい性質)に深く関与する。一方、化学・放射線療法の様なDNA損傷を伴う治療に晒された腫瘍細胞が、細胞老化を起こすことが知られている(治療誘導性の細胞老化)。興味深いことに、治療誘導性細胞老化の局面において、前述のPkm2発現が減少し、代わりにもう1つのアイソフォーム、Pkm1の発現上昇が起きることを我々は観察していた。本研究は、そのようなPkm2 Pkm1のスイッチが、細胞内代謝ネットワークに及ぼす影響等を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞老化に伴いグルコース取り込みが亢進することが報告されている。本研究では、取り込まれた大量のグルコースが、腫瘍細胞にてどのように代謝されるのか、重要な知見を得ることができた。他研究にて細胞老化に伴う代謝変化にPdK-Pdhの制御が関与することが示唆されていたが、加えて、Pkm1-Pkm2の制御も重要であることを明らかにできた。Pkm1がNAD合成系を活性化するという知見は、“NAD合成がSASP(senescence-associated secretory phenotype)現象と密接に関連する”とする他グループからの報告と合致しており、今後、さらなる詳細の解明が期待される。

研究成果の概要(英文)：Expression of Pkm2, which diverts glucose-derived carbon from catabolic to biosynthetic pathways, is selectively expressed in most of cancer cells. This prevalence of Pkm2 in cancer is thought to be associated with a phenomenon known as the Warburg effect. Chemo- and radio-therapy, inducing DNA damage, often induce cellular senescence in tumor cells (therapy-induced cellular senescence). Previously, we have found that Pkm2 expression goes down while expression of another Pkm-isoform (Pkm1) increases. In this study, we figure out how Pkm1 affect the metabolism in senescent tumor cells.

研究分野：腫瘍学

キーワード：細胞老化 代謝

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通) 基盤 C (郁郎)

1. 研究開始当初の背景

化学・放射線療法は、腫瘍細胞に、細胞死や細胞老化を誘導する。短期的にはどちらも腫瘍縮小や無憎悪につながるが、老化細胞は長く生き残り、種々のかたちで治療抵抗性や再発に寄与する点が問題である。

2. 研究の目的

我々は最近、解糖系酵素 Pkm(がんの代謝特性を決定づける分子)のアイソザイム変換(Pkm スイッチ)を介する代謝変化が、老化細胞の特異形質獲得において極めて重要であることを見出した。本課題では、治療誘導性細胞老化における Pkm スイッチが、細胞老化関連プログラムに影響する分子機構を明らかにすることを目的として、種々の検討を行った。

3. 研究の方法

いくつかのヒト細胞株をシスプラチン (CDDP) あるいはドキソルビシン (DOXO) にて一晚処理した後、それら薬剤をウォッシュアウトし、増殖停止細胞の培養を続けた。そのような長期培養によって、再び増殖能を獲得した細胞を、細胞老化克服細胞 (細胞老化経験細胞) とした。

4. 研究成果

(1) これまでの解析で、抗がん剤処理によって細胞老化を誘導する系にて、解糖系酵素 Pkm のスプライシングアイソフォームが Pkm2 型から Pkm1 型へとシフトすることを見出している。そこで、このスプライシング変化が、グルコースやグルタミンの代謝に如何に影響するかを、安定同位体を用いたトレーサー解析を行なって、詳細に検討した。Pkm1 発現型の細胞は、Pkm2 発現型と比べて、グルコースの異化反応が亢進していること、逆に、グルタミン代謝が減弱していることが明らかになった。他のさまざまな解析からグルコース由来炭素が NAD 合成へと動員されていることをうかがわせる結果が得られた。

(2) 元来、細胞老化は不可逆的な増殖停止状態と定義されるが、腫瘍細胞の場合、老化状態から逸脱し、再増殖をはじめること想定されている。このような腫瘍細胞の老化経験が、さらなる悪性化をもたらしている可能性を検討するため、シスプラチンで細胞を処理したのち、長期培養の後に再増殖をはじめた細胞を単離した。

(3) 細胞老化に伴う PKM1 発現誘導が細胞内代謝ネットワークに及ぼす影響を解析した。実験条件の改良等により、PKM1 によって、グルコース由来炭素のペントースリン酸経路への流入が上昇することを明らかにできた。また、少なくとも PKM1 発現細胞において、グルコース由来炭素が NAD に変換されていることが確認できた。一連の結果から、PKM1 によって解糖系・ペントースリン酸経路が亢進し、その結果生じた PRPP が NAD 合成へと動員されていることが示唆される。

(4) 前年度において取得した、細胞老化を経験したのち、それを克服した細胞株の解析を行った。通常の培養条件では、親株との比較において、増殖速度に大きな違いはみとめられなかった。また、マウスへの移植実験でも、通常の移植条件では、有意な差異はみとめられなかった。今後、段階希釈移植実験等でも検証していきたい。

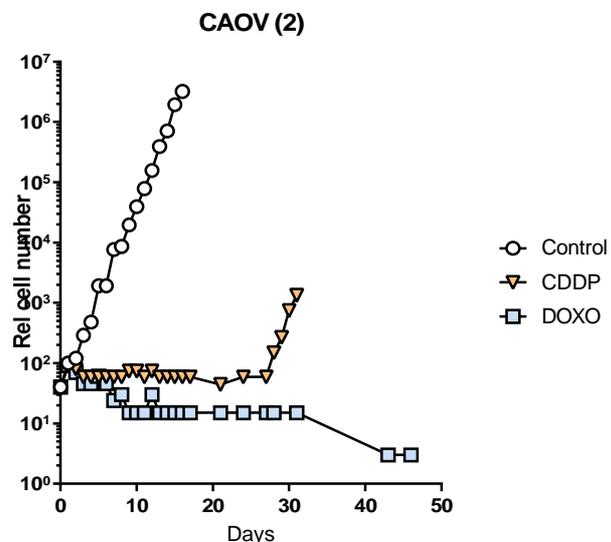
(5) 一方、いくつかの細胞株を用いたモデルにおいて、化学療法と NAD 合成阻害の併用が、著しい相乗効果を示すことを、動物実験にて確認することができた。同時に、上記治療に抵抗性を示す腫瘍/株も存在することが分かり、現在、そのメカニズムを探っている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計9件)

Mochizuki M, Nakamura M, Sibuya R, Okazaki T, Abe J, Nakagawa T, Takahashi S, Yamazaki T, Imai T, Takano A, Ito H, Yokose T, Miyagi Y, Daigo Y, Sato I, Satoh K, Sugamura K, Yamaguchi K, Tamai K.: CD271 is a negative prognostic factor and essential for cell proliferation in lung squamous cell carcinoma. Lab Invest. 2019 doi: 10.1038/s41374-019-0246-5、査読あり

田沼延公、ワールブルグ効果について、PKM ノックインモデルを通してもう一度見つめな



おす、生化学、査読なし、 91(1):38-43. 2019

Kobayashi M, Saito R, Miki Y, Nanamiya R, Inoue C, Abe J, Sato I, Okada Y, Sasano H.: The correlation of p22phox and chemosensitivity in EGFR-TKI resistant lung adenocarcinoma. *Oncotarget* 10(10):1119-1131. 2019. doi: 10.18632/oncotarget.26637、査読あり

Sato K, Saiki Y, Arai K, Ishizawa K, Fukushige S, Aoki K, Abe J, Takahashi S, Sato I, Sakurada A, Okada Y, Horii A.: S100A10 upregulation associates with poor prognosis in lung squamous cell carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 505(2):466-470. 2018. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.09.118、査読あり

Okazaki T, Tamai K, Shibuya R, Nakamura M, Mochizuki M, Yamaguchi K, Abe J, Takahashi S, Sato I, Kudo A, Okada Y, Satoh K.: Periostin is a negative prognostic factor and promotes cancer cell proliferation in non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 9(58):31187-31199. 2018. doi: 10.18632/oncotarget.25435、査読あり

Kurosawa K, Inoue Y, Kakugawa Y, Yamashita Y, Kanazawa K, Kishimoto K, Nomura M, Momoi Y, Sato I, Chiba N, Suzuki M, Ogoh H, Yamada H, Miura K, Watanabe T, Tanuma N, Tachi M, Shima H.: Loss of protein phosphatase 6 in mouse keratinocytes enhances K-rasG12D-driven tumor promotion. *Cancer Sci*. 109(7):2178-2187. 2018 doi: 10.1111/cas.13638、査読あり

盛田麻美、佐藤卓、田沼延公、ピルビン酸キナーゼ M のアイソフォーム Pkm1 はがんの増殖を細胞自律的に促進する、DOI: 10.7875/first.author.2018.038、2018/4/2 ライフサイエンス新着論文レビュー、査読なし

Morita M, Sato T, Nomura M, Sakamoto Y, Inoue Y, Tanaka R, Ito S, Kurosawa K, Yamaguchi K, Sugiura Y, Takizaki H, Yamashita Y, Katakura R, Sato I, Okada Y, Watanabe H, Kondoh G, Matsumoto S, Kishimoto A, Obata M, Matsumoto M, Fukuhara T, Motohashi H, Suematsu M, Komatsu M, Nakayama K, Watanabe T, Soga T, Shima H, Maemondo M and Tanuma N: Pkm1 confers metabolic advantages and promotes cell-autonomous tumor cell growth. *Cancer Cell*, 33(3):355-367. 2018、査読あり

Katayama H, Tamai K, Shibuya R, Nakamura M, Mochizuki M, Yamaguchi K, Kawamura S, Tochigi T, Sato I, Okanishi T, Sakurai K, Fujibuchi W, Arai Y, Satoh K.: Long non-coding RNA HOTAIR promotes cell migration by upregulating insulin growth factor-binding protein 2 in renal cell carcinoma. *Sci Rep*. 20;7(1):12016. 2017; doi: 10.1038/s41598-017-12191-z.、査読あり

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：田沼 延公

ローマ字氏名：TANUMA, Nobu-hiro

所属研究機関名：宮城県立がんセンター（研究所）

部局名：がん薬物療法研究部

職名：主任研究員

研究者番号（8桁）：40333645

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。