

令和元年6月10日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21361

研究課題名(和文) 肺がん上皮間葉転換の代謝特性の解明および治療法の開発

研究課題名(英文) Metabolic hallmark of epithelial-mesenchymal transition in non-small cell lung cancer

研究代表者

田畑 祥 (TABATA, Sho)

慶應義塾大学・政策・メディア研究科(藤沢)・訪問講師

研究者番号：30708342

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)：本研究では、上皮間葉転換(EMT)の誘導因子であるTransforming Growth Factor-(TGF-)で刺激した非小細胞肺癌細胞において、トランスクリプトーム解析とメタボローム解析を組み合わせ、EMTによる代謝変化を包括的に調べた。その結果、EMTによる特異的アミノ酸代謝を見出し、その代謝を制御する4つの代謝遺伝子を同定した。また、その代謝遺伝子の発現はEMTに必須であり、がんEMTを標的とした治療に貢献する可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでのEMT研究では、EMTに関連する遺伝子の転写、翻訳機構、非コードRNAの制御、選択的スプライシングやタンパク質安定性など、様々な分子機構が報告されている。しかしながら、EMT特異的な代謝変化およびその機構については十分な理解がなされていない。今回、EMTにおける網羅的な代謝解析を行い、特異的アミノ酸代謝を見出し、その代謝を制御する代謝遺伝子を同定した。本結果は、がんEMTの理解を深めることができ、がん治療の開発に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a key event in cancer metastasis that directly contributes to poor prognosis. Here, we found that the loss of amino acids elicited by TGF- signaling are important for transdifferentiation and consequently contribute to metastasis and anti-cancer drug resistance. These findings suggest that the loss of amino acids induced by TGF- is critical for EMT in cancer cells, and indicate a potential target for therapeutics.

研究分野：がん代謝

キーワード：がん代謝 上皮間葉転換

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本人の死因第一位は“がん”であり、そのなかでも肺がんが占める割合が最も多い。その原因として、肺がんは多臓器へ転移しやすいことが上げられる。約70%の肺がん患者で発見時に多臓器転移が認められ、予後不良の最大の因子であると考えられている。多くのがん研究者によって、転移をターゲットとした治療法の開発が進められているが、未だ十分な成果は得られていない。

上皮間葉転換 (Epithelial-Mesenchymal Transition: EMT) は、がん転移において重要なプロセスの一つで、上皮細胞が間葉系細胞に変化する現象である。EMT を獲得したがん細胞は極性の喪失、移動・浸潤能が亢進し、がんの転移に大きく貢献する。近年、EMT による代謝変化が、間葉系形質の維持に重要であることが報告されており、がん転移の治療標的として注目されている。最近の報告では、ピリミジン代謝に関与するジヒドロピリミジン脱水素酵素、中心代謝を制御するグルタミンナーゼやピルビン酸脱水素酵素キナーゼ4などの酵素が、EMTの代謝変化を制御していることが明らかになっている (Shaul Y. D. et al., Cell, 158:1094-109, 2014; Sun Y. et al., Cancer Metab., 2: 20, 2014; Ulanet D. B. et al., PLoS One 9:e115144, 2014)。しかしながら、EMTの代謝機構は部分的な経路しか解析されておらず、十分に理解されていない。

2. 研究の目的

本研究では、がんの EMT について網羅的な代謝解析を行い、新規分子機構を探索する。さらに、EMTの代謝機構を標的とした治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

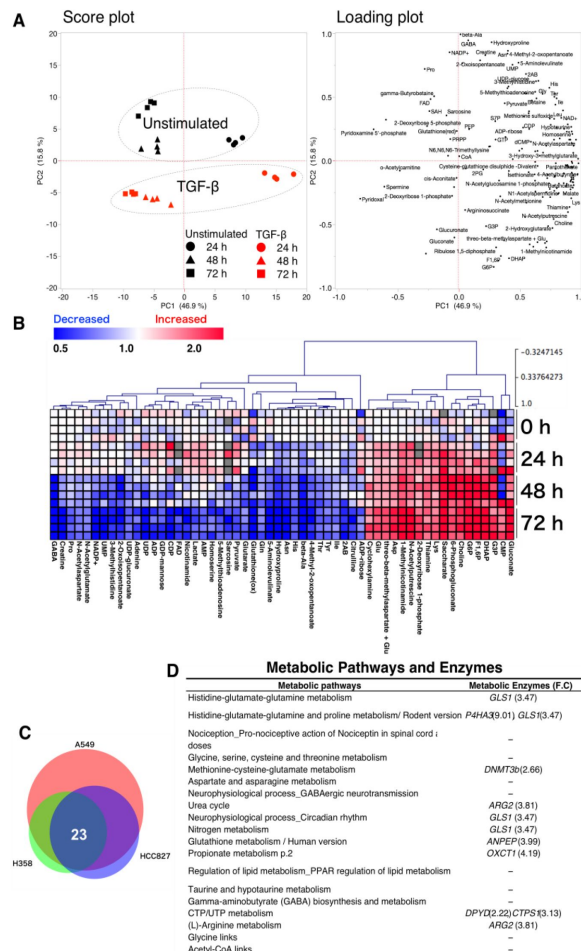
我々は、(慶應義塾大学の曾我朋義教授が開発した) CE-MS 法による網羅的な代謝解析 (メタボローム解析) 技術を有している。CE-MS 法は、代謝物質のほとんどがイオン性であることから、イオン性化合物に対して高分離能を有するキャピラリー電気泳動 (CE) と高感度、高選択的検出器である質量分析計 (MS) を組み合わせた測定技術であり、数千種類のイオン性代謝物質の測定が可能である (Soga T. et al., J. Proteome Res., 2:488-494, 2003)。そこで本研究では、CE-MS を用いたがん EMT におけるメタボローム解析を行った。また、このメタボローム解析にマイクロアレイによるトランスクリプトーム解析を組み合わせ、EMT 特異的代謝の Key 遺伝子を探索し、がん転移の治療標的になるか検討した。

4. 研究成果

トランスフォーミング増殖因子 (TGF) - β で EMT を誘導した非小細胞肺がん細胞3種 (A549、HCC827 および H358) のメタボローム解析では、(各細胞で) 約200代謝物質が同定・評価することができた (図A; A549細胞の主成分分析の結果)。また、TGF- β 誘導性 EMT で有意に (FDR < 0.05) 増減した各代謝物を (A549細胞で) 調べたところ、58代謝物質が変化していた (図B)。次に、パスウェイエンリッチメント解析で EMT によって変動する代謝経路を探索した結果、(A549、HCC827 および H358細胞で共通して変化する代謝経路として) 19代謝経路が見出された (図C、D)。その大半はアミノ酸代謝に関わる経路だった。

トランスクリプトーム解析を用いて上記代謝の Key となる遺伝子を探索したところ、アミノ酸代謝に関与する4つの候補遺伝子を見出した。TGF- β で EMT を誘導した肺がん細胞および内在性間葉系肺がん細胞において、上記4遺伝子の発現をそれぞれの siRNA で抑制したところ、N-cadherin (間葉系マーカー) の発現低下が認められ、間葉系分化の抑制効果が示唆された。さらに、その4遺伝子に対する siRNA および阻害剤は、EMT による運動能およびエルロチニブ (抗がん剤) 耐性を抑制した。

上記結果から、EMT による特異的アミノ酸代謝を見出し、その代謝を制御する4つの Key 遺伝子を同定した。また、その Key 遺伝子の発現は EMT に必須であり、がん EMT を標的とした治療に貢献する可能性がある。



5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 8 件)

Nishihara T, Kuno S, Nonaka H, Tabata S, Saito N, Fukuda S, Tomita M, Sando S, Soga T. Beta-galactosidase-responsive synthetic biomarker for targeted tumor detection. Chem Commun (Camb). 54:11745-11748. 2018 (査読有)

Tabata S*, Yamamoto M, Goto H, Hirayama A, Ohishi M, Kuramoto T, Mitsuhashi A, Ikeda R, Haraguchi M, Kawahara K, Shinsato Y, Minami K, Saijo A, Toyoda Y, Hanibuchi M, Nishioka Y, Sone S, Esumi H, Tomita M, Soga T, Furukawa T*, Akiyama SI. Thymidine catabolism promotes NADPH oxidase-derived reactive oxygen species (ROS) signalling in KB and yumoto cells. Sci Rep. 8:6760. 2018 (査読有) *: 責任著者

Furukawa T, Tabata S, Yamamoto M, Kawahara K, Shinsato Y, Minami K, Shimokawa M, Akiyama SI. Thymidine phosphorylase in cancer aggressiveness and chemoresistance. Pharmacol. Res. 132:15-20. 2018 (査読有)

Hirayama A, Abe H, Yamaguchi N, Tabata S, Tomita M, Soga T. Development of a sheathless CE-ESI-MS interface. Electrophoresis 39:1382-1389. 2018 (査読有)

Satoh K, Yachida S, Sugimoto M, Oshima M, Nakagawa T, Akamoto S, Tabata S, Saitoh K, Kato K, Sato S, Igarashi K, Aizawa Y, Kajino-Sakamoto R, Kojima Y, Fujishita T, Enomoto A, Hirayama A, Ishikawa T, Taketo MM, Kushida Y, Haba R, Okano K, Tomita M, Suzuki Y, Fukuda S, Aoki M, Soga T. Global metabolic reprogramming of colorectal cancer occurs at adenoma stage and is induced by MYC. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 114:E7697-E7706. 2017 (査読有)

Tabata S*, Yamamoto M, Goto H, Hirayama A, Ohishi M, Kuramoto T, Mitsuhashi A, Ikeda R, Haraguchi M, Kawahara K, Shinsato Y, Minami K, Saijo A, Hanibuchi M, Nishioka Y, Sone S, Esumi H, Tomita M, Soga T, Furukawa T*, Akiyama SI*. Thymidine Catabolism as a Metabolic Strategy for Cancer Survival. Cell Reports 19:1313-1321. 2017 (査読有) *: 責任著者

Nishihara T, Inoue J, Tabata S, Murakami S, Ishikawa T, Saito N, Fukuda S, Tomita M, Soga T. Synthetic Biomarker Design by Using Analyte-Responsive Acetaminophen. Chembiochem 18:910-913. 2017 (査読有)

Yamanaka R, Tabata S, Shindo Y, Hotta K, Suzuki K, Soga T, Oka K. Mitochondrial Mg(2+) homeostasis decides cellular energy metabolism and vulnerability to stress. Sci. Rep. 6:30027. 2016 (査読有)

[学会発表] (計 5 件)

田畑 祥、曾我 朋義 オンコメタボライト L-2HG による新規がん生存シグナル 第 6 回がんと代謝研究会、鹿児島、2018 年 5 月

中宿 文絵、田畑 祥、坂本 毅治、平山 明由、山田 忠明、衣斐 寛倫、矢野 聖二、富田 勝、曾我 朋義 多層オミックス解析による肺がん上皮間葉転換における新規代謝機構の探索 第 6 回がんと代謝研究会、鹿児島、2018 年 5 月

中宿 文絵、田畑 祥、山田 忠明、富田 勝、矢野 聖二、曾我 朋義 非小細胞肺癌におけるメタボローム解析による肺がん上皮間葉転換を標的とした治療法の開発 平成 28 年度共同利用・共同研究拠点シンポジウム、石川、2017 年 10 月

中宿 文絵、田畑 祥、山田 忠明、富田 勝、矢野 聖二、曾我 朋義 非小細胞肺癌における TGF- β 誘導性上皮間葉転換の代謝特性 平成 29 年度共同利用・共同研究拠点シンポジウム、石川、2017 年 2 月

中宿 文絵、田畑 祥、山田 忠明、後東久嗣、矢野 聖二、西岡 安彦、曾我 朋義、富田 勝 Metabolic Hallmark of TGF- β -induced Epithelial Mesenchymal Transition in Non-Small Cell Lung Cancer、第 75 回日本癌学会学術総会、神奈川、2016 年 10 月

[図書] (計 2 件)

古川 龍彦, 田畑 祥, 曾我 朋義 チミジン異化経路を介したがん細胞の低栄養抵抗性と悪性化 生化学 (日本生化学学会) 91:50-57. 2019

田畑 祥, 秋山 伸一 がんと代謝 (項: チミジン代謝とがん) 実験医学 (羊土社) 30: 2421-2427. 2012