

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月7日現在

機関番号：11501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16826

研究課題名(和文)メタボローム解析による卵巣癌新規治療法の探索

研究課題名(英文)Metabolomic analysis for discovering new therapeutic target of ovarian cancer cells treated with paclitaxel

研究代表者

清野 学 (Seino, Manabu)

山形大学・医学部・助教

研究者番号：40594320

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：化学療法耐性を獲得した卵巣癌は予後不良である。この研究の目的は、卵巣癌のパクリタキセル獲得耐性メカニズムを明らかにすることである。

ヒト卵巣癌細胞株A2780と低濃度パクリタキセル存在下で3か月間維持した細胞AM-P3のパクリタキセル投与による代謝経路変化をメタボローム解析を用いて網羅的に検討した。A2780と比較しA-PM3でアスパラギンおよびアスパラギン酸濃度が上昇していた。またA2780ではパクリタキセル処理によりTCA回路に関連する代謝物が上昇していたが、A-PM3では変化が見られなかった。卵巣癌においてアスパラギン/アスパラギン酸は新たな治療標的となりうる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巣癌の化学療法ではプラチナ系薬剤とタキサン系薬剤を用い、その多くが同時併用を行う。再発時には薬剤耐性を獲得している場合が多い。その際に問題となるのはプラチナ系薬剤に対する抵抗性であると考えられているが、タキサン系薬剤に対する抵抗性も注目されておりタキサン耐性克服は卵巣癌患者の予後改善に寄与すると考えられている(BMC Cancer, 2015; 15; 536)。卵巣癌のタキサン耐性獲得化機序についての報告は散見されるものの、実臨床に応用されているものはない。本課題の卵巣癌タキサン耐性獲得化におけるメタボローム解析は新規性のある研究で臨床的に大きな意義のあるものと考えている。

研究成果の概要(英文)：Ovarian cancer is most lethal gynecological cancer. The aim of this study is elucidated mechanism of acquiring chemoresistance, especially paclitaxel in ovarian cancer cells. We compared metabolic profiles and reactions to paclitaxel in both a wild type A2780, human ovarian cancer cell line, and A-PM3, a cell line derived from A2780 exposed to paclitaxel for three months, using a capillary electrophoresis CE-MS/MS system. Asparagine and aspartic acid concentrations in A-PM3 were higher than these in A2780. Metabolites related tricarboxylic acid (TCA) cycle in A2780 were elevated after treated with paclitaxel but were unchanged in A-PM3. Our data show that asparagine and aspartic acid concentrations in ovarian cancer cells exposed to paclitaxel are elevated. Asparagine and aspartic acid may be related to acquired resistance to paclitaxel and asparagine/aspartic acid metabolism may be targets for new ovarian cancer therapy.

研究分野：婦人科癌

キーワード：卵巣癌 化学療法耐性 メタボローム解析

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

1. 研究開始当初の背景

進行卵巣癌治療において化学療法は必須の治療であり、化学療法の効果が患者予後に直結するほど重要である。これまで化学療法耐性に関して多くの研究がなされてきたが、臨床応用にまで結びついているものは少なく未だ解決されていない大きな課題である。近年癌細胞の代謝産物を網羅的に解析するメタボローム解析が新たな研究手法として確立され、様々な研究報告がなされている。代謝経路・代謝産物は様々なシグナル伝達の結果であり、細胞の表現型に直接結びつくと考えられる。そのため代謝経路の解析から新規治療法の探索を行うことは効率的であると考えられる。

卵巣癌の化学療法ではプラチナ系薬剤とタキサン系薬剤を用い、その多くが同時併用を行う。再発時には薬剤耐性を獲得している場合が多い。その際に問題となるのはプラチナ系薬剤に対する抵抗性であると考えられているが、タキサン系薬剤に対する抵抗性も注目されておりタキサン耐性克服は卵巣癌患者の予後改善に寄与すると考えられている (BMC Cancer, 2015; 15; 536)。卵巣癌細胞のタキサン耐性獲得化機序についての報告は散見されるものの、実臨床に応用されているものはない。本課題の卵巣癌細胞のタキサン耐性獲得化におけるメタボローム解析は新規性のある研究で臨床的に大きな意義のあるものと考えている。

2. 研究の目的

本研究では卵巣癌の化学療法 (タキサン) 耐性獲得に着目し、タキサン耐性獲得に寄与する代謝経路をメタボローム解析を用いて明らかにすることとした。この研究によりこれまで有効な治療法のなかった薬剤抵抗性卵巣癌の新規治療法開発・予後改善につながることを最終目的とする。

3. 研究の方法

ヒト卵巣癌細胞 A2780 細胞を低濃度パクリタキセルに3か月間暴露した細胞株 (AM-P3 細胞) を樹立した。親株である A2780 細胞と AM-P3 細胞のパクリタキセルに対する反応の差異を比較するために、それぞれの細胞にパクリタキセル 24 時間処理を行った後に細胞内代謝産物を回収し、LC-MS/MS を用いてメタボローム解析を行った。

4. 研究成果

我々は卵巣癌のパクリタキセル獲得耐性について TCA サイクルとアスパラギン代謝に着目した。パクリタキセル暴露細胞 AM-P3 と親株 A2780 にそれぞれパクリタキセル処理を行い代謝反応の違いを解析したところ、親株では TCA サイクルに関わる代謝産物が増加したがパクリタキセル暴露細胞では変化がみられなかった (図 1)。また、パクリタキセル暴露細胞では親株に比べアスパラギン酸およびアスパラギン濃度が上昇していた (図 2)。パクリタキセル暴露細胞では TCA サイクルの上流のシグナル変化が起きていること、パクリタキセル耐性獲得にアスパラギン酸、アスパラギン代謝が関与している可能性が示唆された。

アスパラギン代謝に関わるアスパラギン合成酵素は膀胱癌のシスプラチン耐性に関わるという報告がある。さらに、乳がんモデルマウスにおいてアスパラギン抑制が転移を抑制したという報告もみられ、癌の薬剤耐性や転移などにアスパラギン代謝が関与している可能性が示唆されている。卵巣癌についてはアスパラギンをアスパラギン酸に分解する

L-asparaginase を投与したところ、卵巣癌細胞の浸潤や増殖を抑制したと報告されている (Yu M, et al. J Cell Mol Med 2012, 16, 2369-2378)が、卵巣癌の薬剤耐性獲得にこれらの経路が関わるという報告は未だなく、薬剤耐性卵巣癌の新規治療標的となりうる可能性が十分考えられる。

図1

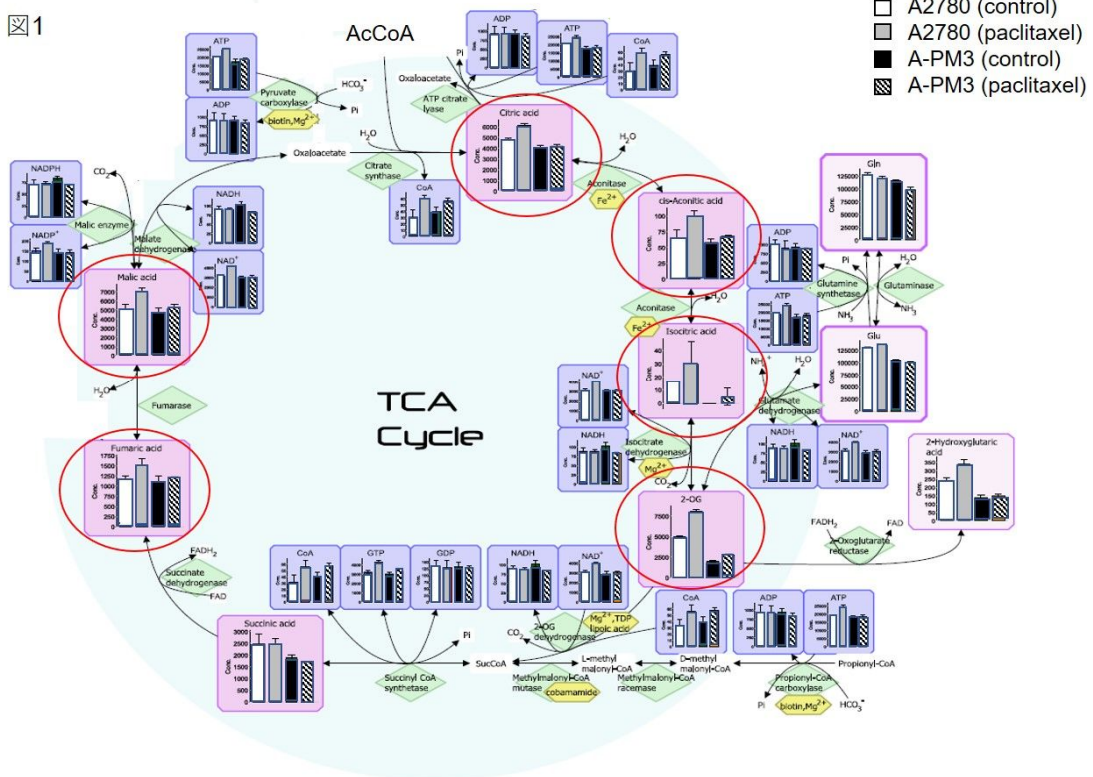
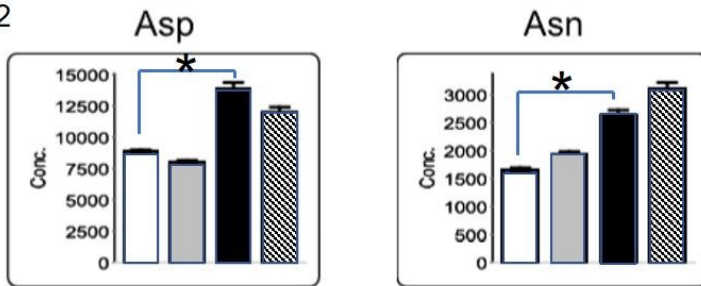
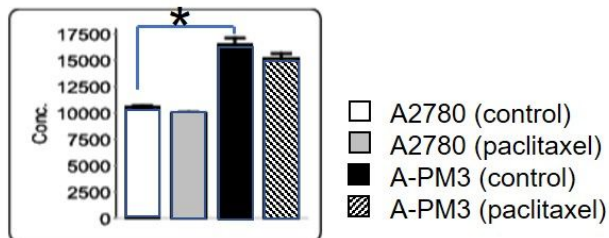


図2



Total Oxaloacetate-related Amino Acids



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

1. **Seino M**, Ohta T, Sugiyama A, Sakaki H, Sudo T, Tsutsumi S, Shigeta S, Tokunaga H, Toyoshima M, Yaegashi N, Nagase S.
Metabolomic analysis of uterine serous carcinoma with acquired resistance to paclitaxel., **Oncotarget** (査読有り) 9, 31985-31998, 2018.
2. Narumi M, Takahashi K, Yamatani H, **Seino M**, Yamanouchi K, Ohta T, Takahashi T, Kurachi H, Nagase S.
Oxidative Stress in the Visceral Fat Is Elevated in Postmenopausal Women with Gynecologic Cancer. **J Womens Health (Larchmt)**(査読あり) 27, 99-106, 2018.
3. Okada M, Kuramoto K, Takeda H, Watarai H, Sakaki H, Seino S, **Seino M**, Suzuki S, Kitanaka C.
The novel JNK inhibitor AS602801 inhibits cancer stem cells in vitro and in vivo., **Oncotarget** (査読有り) 7, 27021-27032, 2017.

〔学会発表〕(計 1 件)

1. **Seino M**, Ohta T, Suzuki Y, Sakaki H, Sudo T and Nagase S.
Metabolomic analysis of ovarian cancer cells treated with paclitaxel. 17th BIENNIAL MEETING OF THE INTERNATIONAL GYNECOLOGIC CANCER SOCIETY, Kyoto, Japan, September 14-16, 2018

〔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 :

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 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

<http://yamagata-obgy.com/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(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。