

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19555

研究課題名(和文)核内アミノ酸による細胞制御機構の解明

研究課題名(英文)Regulation of cellular function by intracellular/intranuclear amino acids

研究代表者

森井 英一(Morii, Eiichi)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：10283772

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文):アミノ酸はタンパク質を構成するが、それ以外にも細胞内の代謝に深く関与することがわかっている。今回の研究では、細胞内の代謝のみならず遺伝子発現にもアミノ酸が深く関与することを明らかにした。セリンはアミノ酸の一種であるが、光学異性体としてD体とL体が存在する。通常はL体が生理活性を有するが、D体をL体に変換するセリンラセマーゼが大腸癌で高発現していることに注目した。その結果、セリンラセマーゼは細胞制御に重要なピルビン酸をD体、L体のいずれのセリンからも産生する重要な役割を担っていることがわかった。また様々な遺伝子のepigeneticな発現制御にも関与していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アミノ酸は従来、タンパク質やペプチドの構成体としてしか考えられていなかったが、それ以外にも様々な細胞機能に関与することが明らかにされつつある。本研究では、これまでアルギニン代謝が腫瘍の悪性化に重要であることを明らかにしており、さらに今回、エネルギー代謝に重要な役割を担うピルビン酸の産生にもセリンの光学異性体を変換する物質が関与することを新たに見出し、これらが遺伝子発現をも制御していることを報告した。アミノ酸の様々な機能を明らかにしており、これらは新たな腫瘍治療のターゲットとなりうる。

研究成果の概要(英文):We revealed that various amino acids regulated cellular function especially in gene expression. Here, we evaluated the function of serine racemase, which converts D-form to L-form of serine. We found that serine racemase was highly expressed in colon adenocarcinoma as compared to adjacent normal colon mucosa. Pyruvate, which is important in energy production, was synthesized from serine via serine racemase. In addition, serine racemase played an important role in gene expression with epigenetic manner. Through these results, we revealed that amino acids are not only component of protein or peptide but also function as a metabolite regulating cellular function especially in gene regulation.

研究分野：実験病理学

キーワード：腫瘍 遺伝子発現 腫瘍代謝

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アミノ酸は従来タンパク質やペプチドの構成成分としてしか捉えられていなかったが、多彩な活動に直接関与することが研究開始当初にわかりつつあった。しかし、アミノ酸そのものの局在を捉えることは困難で、アミノ酸代謝に関与する成分の局在から、アミノ酸の機能を類推するしかなかった。また、アミノ酸が遺伝子発現制御に関与するという報告はほとんどなかった。研究開始時点で申請者は、アミノ酸の一種であるアルギニンの代謝を行う酵素である arginosuccinate synthase (ASS) 1 が細胞内のアルギニン合成を担うこと、ASS1 をノックアウトすると細胞運動が著明に亢進すること、この亢進には DEPTOR という運動シグナル抑制因子の発現低下が関与することを見出していた。このことから、アミノ酸の一種であるアルギニンが遺伝子発現に関与することが予想されていた。

2. 研究の目的

申請時のデータより、ASS1 と DEPTOR の発現には相関性があり、ASS1 によって DEPTOR 遺伝子の活性化が誘導されていることがわかってきた。そこで、ASS1 が DEPTOR 遺伝子発現を制御していることからアミノ酸が遺伝子発現に何らかの役割を果たしている可能性があると考え、本研究ではアミノ酸が細胞機能、特に遺伝子発現を制御するか検討し、その機構を解明することとした。アミノ酸の細胞質内での機能発現機構は明らかにされつつあったが、特に遺伝子発現における機能はほとんどわかっていなかった。本研究により、腫瘍における遺伝子発現に特異的なアミノ酸の代謝経路が見つけられれば、新たな腫瘍治療のターゲットの発見につながるものと考えた。

3. 研究の方法

- (1) 腫瘍におけるアミノ酸の機能、特に遺伝子発現における機能を調べるためには、アミノ酸代謝に関与する因子が、ある腫瘍においてどの程度発現しているかが研究の端緒となる。そこで、様々な腫瘍において、アミノ酸代謝制御に関与する因子がどの程度発現しているか調べた。
- (2) 腫瘍細胞には多様性があり、治療抵抗性の一群の細胞が存在することが知られている。子宮内膜癌細胞株において、アルデヒド脱水素酵素(ALDH)を高発現する細胞群は治療抵抗性であることを申請者は明らかにしていた。そこで、ALDH を高発現する細胞群をフローサイトメーターで単離し、その分画で高発現するアミノ酸代謝制御に関与する因子を調べた。
- (3) 公共データベースにおいて、腫瘍と非腫瘍で発現に差のある遺伝子群が公表されている。これを利用し、腫瘍で高発現するアミノ酸代謝制御に関与する因子を調べた。
- (4) 上記(2)(3)で腫瘍、あるいは腫瘍の悪性化に関与する細胞群において高発現するアミノ酸代謝制御因子を同定後、これらの因子を細胞株においてノックアウトあるいはノックダウンして、その時の細胞動態を検討した。

4. 研究成果

子宮内膜癌細胞株において、ALDH 陽性画分に多く発現するアミノ酸代謝制御因子として、前述の ASS1 以外に Adenylosuccinate lyase (ADSL) が単離された。ADSL は、従来プリン体合成に重要な酵素であることがわかってきたが、それ以外に Oncometabolite として知られているフマル酸の代謝にも関与していることがわかった。ALDH 陽性画分は腫瘍細胞の中でも悪性化した細胞群であるが、その一因として、フマル酸レベルを ADSL が増加させることで killer cell lectin-like receptor C3 の発現を介して腫瘍を悪性化させていたことを明らかにした。(参考文献1)

また、公共データベースより、大腸腫瘍において Serine racemase が高発現していることを見出した。Serine racemase は、これまで中枢神経系において NMDA レセプターの機能発現に重要であるという報告があるのみで、腫瘍における報告は皆無であった。Serine racemase を腫瘍細胞でノックアウトすれば、腫瘍細胞の増殖が著明に低下した。当初は、Serine racemase が D-serine と L-serine の変換を司る酵素であることから、大腸における細菌群の産生する D-serine を腫瘍細胞が利用して増殖するのだと考えたが、腫瘍細胞に D-serine を加えても増殖に変化はなかった。このことから、serine racemase は D-serine と L-serine の間の変換に関与するの

はなく、pyruvate の産生経路を司っていることに気づいた。すなわち、大腸がんにおいて serine racemase は L-serine からピルビン酸を産生する新たな代謝経路を担い、腫瘍細胞の増殖を促進していることを明らかにした。Serine racemase は大腸癌、大腸腺腫において隣接非腫瘍部と比較して発現量が増加しており、L-serine から pyruvate を産生することで、ヒストンのアセチル化、ミトコンドリアの量・質の維持や抗アポトーシス作用を示し、癌細胞の増殖を促進していた。さらに、serine racemase の機能を阻害する薬剤を投与することで、免疫不全マウスに移植したヒト大腸癌細胞株の増殖が抑制された。これより、serine racemase が、大腸癌の代謝経路を標的とする新たな創薬ターゲットになることが期待された。ヒストンのアセチル化などの epigenetic な制御により、アミノ酸が遺伝子発現に関与することも明らかとなった。(参考文献 2)

また、これ以外にもリンパ腫細胞において、グルタミン代謝が細胞増殖や分化に重要であることも見出した。(参考文献 3)

<参考文献>

- 1) Adenylosuccinate lyase enhances aggressiveness of endometrial cancer by increasing killer cell lectin-like receptor C3 expression by fumarate. Park H, Ohshima K, Nojima S, Tahara S, Kurashige M, Hori Y, Okuzaki D, Wada N, Ikeda JI, **Morii E.** Lab Invest. 2018 Apr;98(4):449-461. doi: 10.1038/s41374-017-0017-0.
- 2) Serine racemase enhances growth of colorectal cancer by producing pyruvate from serine. Ohshima K, Nojima S, Tahara S, Kurashige M, Kawasaki K, Hori Y, Taniguchi M, Umakoshi Y, Okuzaki D, Wada N, Ikeda JI, Fukusaki E, **Morii E.** Nature Metabol. 2020 2, 81-96.
- 3) Effect of glutamine on lymphoplasmacytic lymphoma, especially on the viewpoint of the differentiation into vulnerable subpopulation. Wada N, Nojima S, Tahara SI, Ohshima K, Kurashige M, Kawasaki K, Tone M, Kusumoto S, Ikeda JI, **Morii E.** Pathol Res Pract. 2018 Oct;214(10):1667-1674. doi: 10.1016/j.prp.2018.08.019

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Tahara S, Nojima S, Ohshima K, Hori Y, Kurashige M, Wada N, Motoyama Y, Okuzaki D, Ikeda JI, Morii E.	4. 巻 110
2. 論文標題 SDPR Regulates ALDH1 via ILK Signaling in Endometrioid Carcinoma Cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 1804-1813
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14007.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kurashige M, Kohara M, Ohshima K, Tahara S, Hori Y, Nojima S, Wada N, Ikeda JI, Miyamura K, Ito M, Morii E.	4. 巻 1
2. 論文標題 Origin of cancer-associated fibroblasts and tumor-associated macrophages in humans after sex-mismatched bone marrow transplantation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Commun Biol.	6. 最初と最後の頁 131
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-018-0137-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Wada N, Nojima S, Tahara SI, Ohshima K, Kurashige M, Kawasaki K, Tone M, Kusumoto S, Ikeda JI, Morii E.	4. 巻 214
2. 論文標題 Effect of glutamine on lymphoplasmacytic lymphoma, especially on the viewpoint of the differentiation into vulnerable subpopulation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pathol Res Pract.	6. 最初と最後の頁 1667-1674
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.prp.2018.08.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Park H, Ohshima K, Nojima S, Tahara S, Kurashige M, Hori Y, Okuzaki D, Wada N, Ikeda JI, Morii E.	4. 巻 98
2. 論文標題 Adenylosuccinate lyase enhances aggressiveness of endometrial cancer by increasing killer cell lectin-like receptor C3 expression by fumarate.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Lab Invest.	6. 最初と最後の頁 449-461
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41374-017-0017-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Masami, Nagatomo Tadasuke, Ohnishi Takafumi, Kawashima Mayumi, Naitoh Akira, Morii Eiichi	4. 巻 7
2. 論文標題 Detection of epidermal growth factor receptor mutations in lung adenocarcinoma cytological specimens by immunocytochemistry	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mol Clin Oncol	6. 最初と最後の頁 981-987
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/mco.2017.1451	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tahara Shinichiro, Takeyari Misa, Morii Eiichi	4. 巻 68
2. 論文標題 Usefulness of cytological analysis in the diagnosis of pancreatic undifferentiated rhabdoid carcinoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 56 ~ 58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12616	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jiang Yang, Li Hui, Wang Yi, Tian Tian, He Yan, Jin Yinji, Han Changsong, Jin Xiaoming, Zhang Fengmin, Morii Eiichi	4. 巻 14
2. 論文標題 ALDH enzyme activity is regulated by Nodal and histamine in the A549 cell line	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncol Lett14	6. 最初と最後の頁 6955-6961
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2017.7057	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hosen N, Matsunaga Y, Wada N, Morii E, Nishimura Junichi, Takeda Kiyoshi, Oji Yusuke, Sugiyama H, Takagi J, Kumanogoh Atsushi et al	4. 巻 23
2. 論文標題 The activated conformation of integrin $\alpha 7$ is a novel multiple myeloma specific target for CAR T cell therapy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nat Med	6. 最初と最後の頁 1436 ~ 1443
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nm.4431	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nojima Satoshi, Susaki Etsuo A., Yoshida Kyotaro, Takemoto Hiroyoshi, Tsujimura Naoto, Iijima Shohei, Takachi Ko, Nakahara Yujiro, Tahara Shinichiro, Ohshima Kenji, Kurashige Masako, Hori Yumiko, Wada Naoki, Ikeda Jun-ichiro, Kumanogoh Atsushi, Morii Eiichi, Ueda Hiroki R.	4. 巻 7
2. 論文標題 CUBIC pathology: three-dimensional imaging for pathological diagnosis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 9269-9269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-09117-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsui Takahiro, Mizuno Hiroki, Sudo Takao, Kikuta Junichi, Haraguchi Naotsugu, Ikeda Jun-ichiro, Mizushima Tsunekazu, Yamamoto Hirofumi, Morii Eiichi, Mori Masaki, Ishii Masaru	4. 巻 7
2. 論文標題 Non-labeling multiphoton excitation microscopy as a novel diagnostic tool for discriminating normal tissue and colorectal cancer lesions	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 6959-6959
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-07244-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ohshima Kenji, Tsujii Yuri, Sakai Kazuya, Oku Hiroshi, Morii Eiichi	4. 巻 67
2. 論文標題 Massive tumor embolism in the abdominal aorta from pulmonary squamous cell carcinoma: Case report and review of the literature	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 467 ~ 471
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12554	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wada Naoki, Ikeda Jun-ichiro, Tanaka Hiromasa, Sakakita Hajime, Hori Masaru, Ikehara Yuzuru, Morii Eiichi	4. 巻 213
2. 論文標題 Effect of plasma-activated medium on the decrease of tumorigenic population in lymphoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pathol Res Pract.	6. 最初と最後の頁 773 ~ 777
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.prp.2017.04.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohshima Kenji, Nojima Satoshi, Tahara Shinichiro, Kurashige Masako, Hori Yumiko, Hagiwara Kohei, Okuzaki Daisuke, Oki Shinya, Wada Naoki, Ikeda Jun-ichiro, Kanai Yoshikatsu, Morii Eiichi	4. 巻 7
2. 論文標題 Argininosuccinate Synthase 1-Deficiency Enhances the Cell Sensitivity to Arginine through Decreased DEPTOR Expression in Endometrial Cancer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 45504 ~ 45504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep45504	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kenji Ohshima, Satoshi Nojima, Shinichiro Tahara, Masako Kurashige, Keisuke Kawasaki, Yumiko Hori, Moyu Taniguchi, Yutaka Umakoshi, Daisuke Okuzaki, Naoki Wada, Jun-ichiro Ikeda, Eiichiro Fukusaki & Eiichi Morii	4. 巻 2
2. 論文標題 Serine racemase enhances growth of colorectal cancer by producing pyruvate from serine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Metabolism	6. 最初と最後の頁 81-96
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42255-019-0156-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tahara S, Nojima S, Ohshima K, Hori Y, Kurashige M, Wada N, Motoyama Y, Okuzaki D, Ikeda JI, Morii E.	4. 巻 110
2. 論文標題 Serum Deprivation-Response Protein Regulates Aldehyde Dehydrogenase 1 Through Integrin-Linked Kinase Signaling in Endometrioid Carcinoma Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Sci	6. 最初と最後の頁 1804-1813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14007.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 森井英一
2. 発表標題 変遷する腫瘍の源
3. 学会等名 第15回日本病理学会カンファレンス (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森井英一
2. 発表標題 がん幹細胞の病理
3. 学会等名 日本病理学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森井英一
2. 発表標題 コンパニオン診断の実際 現状と今後
3. 学会等名 日本臨床細胞学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森井英一
2. 発表標題 病理診断におけるAIと専門医のあり方
3. 学会等名 日本学術会議公開シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----