

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05332

研究課題名(和文) ワールブルグ効果の解消による新規制癌法の開発

研究課題名(英文) Development of a new cancer therapy by eliminating the Warburg effect

研究代表者

小倉 俊一郎 (Ogura, Shun-ichiro)

東京工業大学・生命理工学院・准教授

研究者番号：90343160

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではワールブルグ効果の解消という新しい視点に立った制癌法の開発を目的とする。ワールブルグ効果を解消できる薬剤の探索より、アミノレブリン酸にその効果があることを見出した。アミノレブリン酸は癌細胞の好気呼吸能を押し上げることによってワールブルグ効果を解消し、癌細胞を死に追いやることを初めて見出した。このことから、ワールブルグ効果を解消する方法論の確立と制癌効果の確認・細胞死のメカニズムの解明に成功しており、本研究の目的は十分に達成されたとと言える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は新しい癌の治療法の開発を行うものである。癌は多様性に富んでおり、従来のコンセプトとは異なった治療戦略の提唱が望まれている。本研究では癌の生命線ともいえるワールブルグ効果の解消に則った癌治療戦略を提唱する。特にアミノレブリン酸にその効果が得られることを見出した。アミノレブリン酸は癌の好気呼吸能を著しく抑え、ワールブルグ効果を解消し、細胞死に至らしめることを明らかとしている。以上のことから、ワールブルグ効果を解消する方法論の確立と制癌効果の確認・細胞死のメカニズムの解明に成功しており、本研究の目的は十分に達成されたとと言える。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to develop an anticancer method from a new perspective of eliminating the Warburg effect. We found that aminolevulinic acid has that effect. For the first time, we have found that aminolevulinic acid eliminates the Warburg effect by boosting the aerobic respiration capacity of cancer cells and kills them. From this, it can be said that the purpose of this study was fully achieved by establishing a methodology to eliminate the Warburg effect, confirming the anticancer effect, and elucidating the mechanism of cell death.

研究分野：生物化学

キーワード：アミノレブリン酸 ワールブルグ効果 癌 アポトーシス 抗癌剤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

癌細胞の多くは好気呼吸能が低下していることが知られている。特にミトコンドリア好気呼吸の中心を担うチトクローム c オキシダーゼ (ミトコンドリア Complex IV, COX) の活性が阻害され、解糖系によって癌が生育していると考えられている (ワールブルグ効果)。癌細胞においてワールブルグ効果が起きている原因として下記の二点が挙げられる。

- ・好気代謝が回ると微量の活性酸素種が生成する。一方、癌細胞内で活性酸素種が生成すると、これを消去しきれずにアポトーシスを起こすことが知られている。そこで癌細胞は活性酸素種の生成を防ぐために好気代謝を停止させている。

- ・腫瘍が増殖・浸潤してゆく過程において周囲が低酸素状態になる場合がある。癌細胞はその低酸素状態でも生育してゆくために、嫌気代謝能を獲得する。

癌治療に対する新しい戦略として、ワールブルグ効果を解消することによって癌細胞内で好気呼吸を積極的に亢進し、アポトーシスなどで癌細胞を死滅に追い込む手法が考えられる。しかしながら、比較的新しい手法であり、その有効性はいまだはっきりしていない。

申請者らはマウスに天然アミノ酸であるアミノレブリン酸 (ALA) を 7 日間連続投与した場合、肝臓での COX 活性が著しく向上し、好気呼吸能が亢進することを見出している。ALA は COX の活性中心であるヘムの前駆体であるため、ALA 投与によって COX 発現量・活性が亢進したと考えられる。これらの結果は ALA 投与によってワールブルグ効果が解消したことを示すものである。さらに、ALA と長時間インキュベートした癌細胞はアポトーシスを起こすことを明らかとしている。これらの事実から、ALA を加えるとワールブルグ効果が解消され、新たな癌治療の戦略となるといえる。

2. 研究の目的

本研究ではワールブルグ効果の解消という新しい視点に立った制癌法の開発を目的とする。これまでに開発されてきた抗癌剤の多くは癌の増殖阻害であったり、血管新生阻害等であった。これらの抗癌剤は一定の効果が得られているものの、効果が一様でないことが広く認識されている。その理由としては、特定のシグナル伝達を阻害してもそれを回避する伝達経路が活性化されたり、比較的容易に抵抗能を獲得してしまうことが挙げられる。一方、癌のワールブルグ効果は特定の癌種に限らず、広く癌に認められている効果である。フルオロデオキシグルコースを用いた PET 診断も癌が糖を多く摂取するというワールブルグ効果を利用している。このようにワールブルグ効果は腫瘍にとっては生命線と言え、これを解消することによる癌治療戦略が考案される。

ワールブルグ効果を解消し得ると考えられる薬剤としてジクロロ酢酸がある。これはミ

トコンドリア好気代謝能を亢進する作用が認められ、腫瘍死を誘導することが明らかとなっている。ジクロロ酢酸はピルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を亢進し、クエン酸サイクルを活性化した後に、好気呼吸能を高めていると考えられる。しかしながらその効果も高いものでないことが明らかとなっている。一方、ALA を用いた場合には直接 COX を活性化することができるため、ジクロロ酢酸と比較してもワールブルグ効果を解消する活性が高く、制癌効果も優れていると言える。このように ALA によって好気呼吸に関わる酵素を直接活性化する手法は全く新しい手法であり、独創性は高いと言える。

3 . 研究の方法

本研究ではワールブルグ効果を解消することで制癌効果が得られるかを詳細に検討する。特に、好気呼吸能・嫌気呼吸能を詳細に解析し、ワールブルグ効果の解消と細胞死の動的变化を重点的に解析する。具体的には ALA を培養細胞に添加した後、好気呼吸能・嫌気呼吸能をモニターし、細胞の細胞死メカニズムとともに詳細に解析する。また、ワールブルグ効果が解消できると考えられる他の薬剤の評価も行い、ALA との併用も検討する。さらに、担癌マウスに投与し、制癌活性等を評価する。以上で得られたデータを基にワールブルグ効果の解消する活性と制癌剤としての効果を検証し、そのメカニズムを明らかとする。

4 . 研究成果

初年度では癌細胞に対する ALA 添加による好気呼吸亢進のメカニズムについて検討した。その結果、ALA 添加によって生成するヘムが好気呼吸を大きく亢進することを明らかとした。ヘムは ALA と鉄イオンを用いて生成されることが知られているため、ALA と鉄イオンを共添加することとした。その結果、ALA 単独添加と比較してさらに好気呼吸能を亢進することができた。好気呼吸能の指標としてチトクロム c オキシターゼの活性に着目した場合では、ALA と鉄の共添加では非添加と比較して約 2 倍程度の亢進が確認された。これは癌細胞で好気呼吸能を大幅に亢進できた初めての例となった。

二年目では ALA と鉄の共添加による癌細胞への殺細胞効果を測定した。その結果、8 割以上の細胞を殺傷させることに成功した。これは ALA 単独添加と比較しても高い殺細胞効果であり、新規制癌法の開発に成功したといえる。

三年目では制癌効果のメカニズムを解明することを目的とした。その結果、ワールブルグ効果を解消することによって亢進した好気呼吸から活性酸素が漏出していることが明らかとなった。これがアポトーシスを引き起こし、細胞を死に至らしめると考えられた。

以上のことから、ワールブルグ効果を解消する方法論の確立と制癌効果の確認・細胞死のメカニズムの解明に成功しており、本研究の目的は十分に達成されたと言える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakayama Taku, Kobayashi Tatsuya, Shimpei Otsuka, Fukuhara Hideo, Namikawa Tsutomu, Inoue Keiji, Hanazaki Kazuhiro, Takahashi Kiwamu, Nakajima Motowo, Tanaka Tohru, Ogura Shun-ichiro	4. 巻 28
2. 論文標題 Photoirradiation after aminolevulinic acid treatment suppresses cancer cell proliferation through the H0-1/p21 pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Photodiagnosis and Photodynamic Therapy	6. 最初と最後の頁 10~17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pdpdt.2019.07.021	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 Lai Hung Wei, Sasaki Ryuta, Usuki Shiro, Nakajima Motowo, Tanaka Tohru, Ogura Shun-ichiro	4. 巻 27
2. 論文標題 Novel strategy to increase specificity of ALA-Induced PpIX accumulation through inhibition of transporters involved in ALA uptake	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Photodiagnosis and Photodynamic Therapy	6. 最初と最後の頁 327~335
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pdpdt.2019.06.017	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 Tsuga Yuki, Katou Masataka, Kuwabara Satoshi, Kanamori Takashi, Ogura Shun-ichiro, Okazaki Shigetoshi, Ohtani Hiroyuki, Yuasa Hideya	4. 巻 14
2. 論文標題 A Twist Assisted Biphenyl Photosensitizer Passable Through Glucose Channel	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemistry An Asian Journal	6. 最初と最後の頁 2067~2071
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/asia.201900378	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 Yuta Sugiyama, Yukari Hiraiwa, Yuichiro Hagiya, Motowo Nakajima, Tohru Tanaka, Shun-ichiro Ogura	4. 巻 19
2. 論文標題 5-Aminolevulinic acid regulates the immune response in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC immunology	6. 最初と最後の頁 41
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12865-018-0277-5	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 Takashi Kanamori, Akira Matsuyama, Hidenori Naito, Yuki Tsuga, Yoshiki Ozako, Shun-ichiro Ogura, Shigetoshi Okazaki, Hideya Yuasa	4. 巻 83
2. 論文標題 Water-Soluble Glucosyl Pyrene Photosensitizers: An Intramolecularly Synthesized 2-C-Glucoside and an O-Glucoside	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 13765-13775
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.8b02066	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 Akihiro Nomoto, Nozomi Sakamoto, Yuta Sakai, Keisuke Fukumoto, Shun-ichiro Ogura, Katao Shouhei, Kiyomi Kakiuchi, Jun-ichi Kikuchi, Shigenobu Yano, Akiya Ogawa	4. 巻 45
2. 論文標題 Synthesis and crystal structures of phenylalanine ester-introduced palladium(II) and platinum(II) complexes and their cytotoxicities	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Research on Chemical Intermediates	6. 最初と最後の頁 3-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11164-018-3623-6	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 -

〔学会発表〕 計33件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 12件)

1. 発表者名 中山沢、小林竜也、高橋究、中島元夫、田中徹、福原秀雄、井上啓史、小倉俊一郎
2. 発表標題 腫瘍細胞におけるALA-PDT後の遺伝子変化および細胞増殖評価
3. 学会等名 第9回 ポルフィリン-ALA学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野澤菜緒子、中山沢、福原秀雄、井上啓史、小倉俊一郎、石井琢也、高橋究、石塚昌宏、田中徹
2. 発表標題 膀胱がんに対する膀胱注入療法後ALA-PDTの組み合わせ効果の検証
3. 学会等名 第9回 ポルフィリン-ALA学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河西萌・中山沢・中島元夫・田中徹・小倉俊一郎
2. 発表標題 低密度培養条件におけるがん細胞の形質
3. 学会等名 第9回 ポルフィリン-ALA学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中原健悟・萩谷祐一郎・中島元夫・田中徹・小倉俊一郎
2. 発表標題 アミノレプリン酸を用いた光線力学治療における亜鉛イオンの添加効果
3. 学会等名 第9回 ポルフィリン-ALA学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 荒武拓海・杉山雄太・中島元夫・田中徹・小倉俊一郎
2. 発表標題 アミノレプリン酸添加によるがん細胞の炎症性サイトカインの誘導
3. 学会等名 第9回 ポルフィリン-ALA学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 手塚 亮、高橋英里香、中島元夫、田中徹、小倉俊一郎
2. 発表標題 ヘム代謝がマウス線維芽細胞の糖代謝・細胞増殖に与える影響
3. 学会等名 第9回 ポルフィリン-ALA学会
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Taku Nakayama, Shimpei Otsuka, Kazuhiro Hanazaki, Keiji Inoue, Taro Shuin, Motowo Nakajima, Tohru Tanaka, Shun-ichiro Ogura
2 . 発表標題 Dormant Cancer Cells Accumulate High Protoporphyrin IX Levels And Are Sensitive To 5-aminolevulinic Acid-based Photodynamic Therapy
3 . 学会等名 17th International Photodynamic Association World Congress (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Hung Wei Lai, Ryota Sasaki, Shiro Usuki, Kiwamu Takahashi, Motowo Nakajima, Tohru Tanaka, Shun-ichiro Ogura
2 . 発表標題 Novel strategy to increase specificity of ALA-induced PpIX accumulation through inhibition of transporters involved in ALA uptake
3 . 学会等名 17th International Photodynamic Association World Congress (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Shun-ichiro Ogura, Hung Wei Lai, Taku Nakayama, Yuichiro Hagiya, Kiwamu Takahashi, Motowo Nakajima, Tohru Tanaka
2 . 発表標題 Mechanism of tumor-specific porphyrin accumulation after administration of ALA
3 . 学会等名 17th International Photodynamic Association World Congress (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Arif Suprihadi, Kiwamu Takahashi, Motowo Nakajima, Tohru Tanaka, Shun-ichiro Ogura
2 . 発表標題 The effect of heme biosynthesis on the mitochondrial functions in C2C12 cell line
3 . 学会等名 17th International Photodynamic Association World Congress (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1. 発表者名 小倉俊一郎、中山沢、大塚慎平、中島元夫、田中徹、山本新九郎、花崎和弘、井上啓史
2. 発表標題 休眠がん細胞モデルにおけるALA添加後のPpIX蓄積およびPDT感受性の評価
3. 学会等名 2019年 日本光線力学学会・日本脳神経外科光線力学学会 合同学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Taku Nakayama, Kiwamu Takahashi, Motowo Nakajima, Keiji Inoue, Shun-ichiro Ogura
2. 発表標題 Photoirradiation after aminolevulinic acid treatment suppresses cancer cell proliferation through the H0-1/p21 pathway
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中山沢、小林竜也、高橋究、中島元夫、田中徹、福原秀雄、井上啓史、小倉俊一郎
2. 発表標題 腫瘍細胞におけるALA-PDT後の遺伝子変化および細胞増殖評価
3. 学会等名 第40回日本レーザー医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小倉俊一郎、井上啓史
2. 発表標題 アミノレブリン酸を用いたがんの光線力学診療
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shun-ichiro Ogura
2. 発表標題 Applications of aminolevulinic acid in tumor ~From diagnosis and therapy to screening~
3. 学会等名 The 6th Gruber Soedigdo Lecture (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小倉俊一郎, 井上啓史
2. 発表標題 アミノレブリン酸を用いたがんの光線力学診療
3. 学会等名 第81回日本臨床外科学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Taku Nakayama, Masuomi Kaneko, Airi Saito, Shinkuro Yamamoto, Shun-ichiro Ogura, Keiji Inoue, Kazuhiro Hanazaki, Yosuke Niko
2. 発表標題 Amplify PpIX Fluorescence Via FRET With Giant Light-harvesting Nanoantenna System: Ex-vitro Trial
3. 学会等名 The 7 th International ALA and Porphyrin Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hung Wei Lai, Ryota Sasaki, Shiro Usuki, Kiwamu Takahashi, Motowo Nakajima, Tohru Tanaka, Shun-ichiro Ogura
2. 発表標題 Novel strategy to increase specificity of ALA-induced PpIX accumulation through inhibition of transporters involved in ALA uptake
3. 学会等名 The 7 th International ALA and Porphyrin Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中山沢、小林竜也、高橋究、中島元夫、田中徹、山本新九郎、井上啓史、小倉俊一郎
2. 発表標題 ALA-PDTが腫瘍細胞に及ぼす遺伝子変化および細胞増殖変化
3. 学会等名 第6回 先端PDDTフォーラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高良勇輝・伊藤謙介・中島元夫・小倉俊一郎
2. 発表標題 プロトポルフィリン IX 蓄積ががん細胞の HIF-1 シグナルに与える影響
3. 学会等名 第8回ポルフィリン-ALA学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山岡大貴・松本健太郎・中島元夫・田中徹・小倉俊一郎
2. 発表標題 腫瘍内低酸素環境下におけるポルフィリン代謝に寄与するトランスポーターの解析
3. 学会等名 第8回ポルフィリン-ALA学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木口屋健太・田代尚己・中島元夫・田中徹・小倉俊一郎
2. 発表標題 マウス筋芽細胞におけるオートファジーに対するアミノレブリン酸の添加効果
3. 学会等名 第8回ポルフィリン-ALA学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉山雄太・平岩ゆかり・萩谷祐一郎・中島元夫・田中 徹・小倉俊一郎
2. 発表標題 アミノレブリン酸がマクロファージの免疫応答に及ぼす影響
3. 学会等名 第8回ポルフィリン-ALA学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 神谷忠佑・佐々木龍太・中島元夫・田中徹・小倉俊一郎
2. 発表標題 鉄イオンが光線力学治療における細胞死に与える影響
3. 学会等名 第8回ポルフィリン-ALA学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Lai Hung Wei, Hagiya Yuichiro, Nakajima Motoho, Ogura Shun-ichiro
2. 発表標題 Comparison of various human amino acid transporters in enhancing cellular aminolevulinic acid (ALA) uptake in prostate cancer cells in vitro
3. 学会等名 第8回ポルフィリン-ALA学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小倉俊一郎
2. 発表標題 5-アミノレブリン酸 (ALA) 投与後の腫瘍特異的ポルフィリン蓄積メカニズムの解明
3. 学会等名 第31回日本レーザー医学会関西地方会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shun-ichiro Ogura, Taku Nakayama, Keiji Inoue, Motowo Nakajima, Tohru Tanaka
2. 発表標題 Applications of Aminolevulinic acid in tumor -From Diagnosis and Therapy to Screening-
3. 学会等名 Photodynamic Therapy and Photodiagnosis Update 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Lai Hung Wei, Hagiya Yuichiro, Nakajima Motowo, Tanaka Tohru, Ogura Shun-ichiro
2. 発表標題 Pivotal roles of transporters involved in aminolevulinic acid (ALA) uptake in ALA-induced PpIX accumulation in vitro
3. 学会等名 Photodynamic Therapy and Photodiagnosis Update 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小倉俊一郎
2. 発表標題 アミノレブリン酸を用いたがんの光線力学診療
3. 学会等名 第56回日本癌治療学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Taku Nakayama, Shimpei Otsuka, Kazuhiro Hanazaki, Keiji Inoue, Taro Shuin, Motowo Nakajima, Tohru Tanaka, Shun-ichiro Ogura
2. 発表標題 Dormant Cancer Cells Accumulate High Protoporphyrin IX Levels And Are Sensitive To 5-aminolevulinic Acid-based Photodynamic Therapy
3. 学会等名 6th International ALA and Porphyrin Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Daiki Yamaoka, Kentaro Matsumoto, Shimpei Otsuka, Tohru Tanaka, Shun-ichiro Ogura
2. 発表標題 Analysis of transporter which effects porphyrin metabolism in cancer cell line under treated hypoxic condition
3. 学会等名 The 25th International SPACC Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Arif Suprihadi, Lai Hung Wei, Tan Hui Sin, Motowo Nakajima, Tohru Tanaka, Shun-ichiro Ogura
2. 発表標題 The Effect of Heme Biosynthesis on the Electron Transport Chain in C2C12 cell line
3. 学会等名 The 25th International SPACC Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉山 雄太・高橋 英里香・大塚 慎平・中島 元夫・田中 徹・小倉 俊一郎
2. 発表標題 5-アミノレブリン酸のヘム生合成促進ががん細胞のワールブルグ効果に及ぼす影響
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

小倉研究室ホームページ http://www.ogura.bio.titech.ac.jp/ 小倉研究室ホームページ http://www.ogura.bio.titech.ac.jp/
--

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------