

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18217

研究課題名（和文）悪性胸膜中皮腫PDXモデルを用いたATP関連がん代謝を標的とした治療開発

研究課題名（英文）Therapeutic development targeting ATP-related cancer metabolism using the PDX model of malignant pleural mesothelioma

研究代表者

上垣内 篤（Kamigaichi, Atsushi）

広島大学・病院（医）・医科診療医

研究者番号：70825231

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：まず検体を得やすい肺腺癌で検討し、ATP 関連がん代謝としてGlycolysis型とOxphos型に分類した。Oxphos型の肺腺癌の存在が示唆され、肺腺癌細胞株にてミトコンドリア呼吸を標的とした阻害薬を使用したところ、正常細胞ではほとんど変化が認められない低濃度で細胞増殖抑制効果が認められた。次に悪性胸膜中皮腫の代謝タイプを検討した。ATP 関連がん代謝関連遺伝子について正常組織と比較すると上皮型よりも二相型や肉腫型で、発現量に差がある遺伝子が多い傾向であった。これらの中で悪性胸膜中皮腫と関連が強い解糖系代謝に関わる遺伝子Xを同定し、この候補分子を標的とした治療開発を進めていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性胸膜中皮腫は希少がんではあるが、その予後は非常に不良であり、現状の治療法では十分とは言えず新たな治療法の開発が望まれている。近年、免疫チェックポイント阻害薬が注目されているが、有効例は限られており、次を見据えた治療開発は必須である。がん特異的優位代謝別に治療法が選択できれば、難治性かつ治療選択肢の少ない悪性胸膜中皮腫の患者が受ける恩恵は計り知れない。本研究では肺腺癌において、がん代謝を標的とした阻害薬で細胞増殖抑制効果が認められることが示唆され、悪性胸膜中皮腫検体にて解糖系代謝に関わる遺伝子を同定できた。今後、これを標的として、がん代謝別の治療法を確立することが期待される。

研究成果の概要（英文）：First, we focused on lung adenocarcinoma, for which specimens are relatively easily obtained, and classified them into Glycolysis and Oxphos types as ATP-related cancer metabolism. The classification has demonstrated Oxphos phenotype of lung. The inhibitors targeting mitochondrial respiration markedly suppressed cell proliferation in lung adenocarcinoma cell lines at low concentrations compared with normal cells. Next, the metabolic types classification of malignant pleural mesothelioma was conducted using TCGA database. When gene expression of ATP-related cancer metabolism of MPM was compared to normal tissue, the difference of them tended to be more in biphasic and sarcomatoid type MPM than in epithelial type MPM. Among these genes, gene “X” related to glycolytic metabolism of MPM was identified. We further plan to pursue the development of therapies targeting this candidate gene.

研究分野：肺癌、悪性胸膜中皮腫

キーワード：がん代謝 悪性胸膜中皮腫

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

悪性胸膜中皮腫は希少がんではあるものの、本邦における2014年の罹患数は1400例を超えておりその後も増加傾向を示している。さらにその予後は非常に不良であり、現状の手術、化学療法、放射線療法では十分とは言えず、新たな治療法の開発が望まれている。悪性胸膜中皮腫の治療選択肢は非常に少ないため、様々な方向からの治療法が開発されるべきである。近年の免疫チェックポイント拮抗薬が次の道を作りつつあるが、有効例は限られており、その先を見据えた治療開発は必須である。

正常細胞と同様、がん細胞もそのエネルギー源はATPである。そこで、ATP産生に寄与する代謝を標的にする治療法が有効ではないかと想起した。がん特異的優位代謝別に治療法が選択出来れば、難治性かつ治療選択肢の少ない悪性胸膜中皮腫の患者さんが受けることの出来る恩恵は計り知れない。また、その他のがん種においても適用することが可能であり、がん代謝別の治療法という新たな分野を確立出来る可能性がある。つまり、がん治療全体の新たな道を切り開くことに繋がると考えられる。

正常細胞ではミトコンドリア内でTCA回路およびミトコンドリア呼吸、つまり酸化的リン酸化を利用して効率良くATP産生を行なっている。一方、がん細胞ではミトコンドリアを優位に用いるタイプのがん(Oxyphosタイプ)も存在する一方で、Warburg effectとして知られるようにaerobicを優位に使用してATPを産生するタイプ(Glycolysisタイプ)のがんも多く存在する。現在知られている中で典型例としてはOxyphosタイプでは悪性黒色種、Ras変異陽性膵癌、B細胞リンパ腫などがある。Glycolysisタイプでは肺腺癌、肺及び頭頸部の扁平上皮癌などがある。Glycolysisタイプとして知られているがん種は臨床的にも糖代謝が亢進していることを検出する18F-FDG-PET検査で非常に高い値を示す傾向が強い。また、Glycolysisタイプとして知られてきたがん種においても、中にはTCAサイクルを全く利用出来ない状態ではなく、抗がん剤などへの耐性獲得やがん幹細胞においてはOxyphosタイプを示すことも分かっている。

しかしながら、本研究で対象としている悪性胸膜中皮腫がいずれのタイプであるかは不明である。さらに、がん代謝のタイプやミトコンドリアが治療の標的となるかは不明な点が多く、本研究で明らかとなることは、治療法の少ない悪性胸膜中皮腫の新たな治療選択肢となりうる。

2. 研究の目的

がん代謝のタイプ別に標的代謝を選択して治療することで、悪性胸膜中皮腫の制御が可能となると考え、悪性胸膜中皮腫における優位代謝を明らかとする。Glycolysisタイプであれば糖代謝を標的とする拮抗薬、Oxyphosタイプであればミトコンドリアを標的とした拮抗薬が選択肢となる。先行研究において、ATP関連代謝タイプ別にミトコンドリア標的の拮抗薬(Oligomycin)や2-DG(2-Deoxy-D-glucose)が非常に強くATP産生や細胞増殖能を抑制する効果を得ており、期待されるアプローチと考えられる。

また、本研究では明らかとなった代謝別の標的治療が有効か否かは細胞株のみならず、Patient derived Xenograft (PDX) モデルを用いることでよりヒトにおいて有効であることを示すことも目的とした。

3. 研究の方法

肺腺癌のThe Cancer Genome Atlas (TCGA)データを用いて、ATP関連代謝に関してGlycolysis型とOxyphos型、混合型に分類した。それぞれの代謝型で代表的な分子(Glycolysis: HIF1 α , Oxyphos: UCP, PPAR γ)を用いてヒト肺腺癌細胞株の代謝分類を行った。さらに、Oxyphos型代謝を阻害するミトコンドリア complex Vを標的とした阻害薬を代謝分類を行なった細胞株に投与し、細胞増殖抑制効果を評価した。

次に悪性胸膜中皮腫の組織別の優位代謝を明らかとするためにTCGAの悪性胸膜中皮腫のデータセットであるTCGA-MESOを利用してmicro arrayによる遺伝子発現解析を行った。続いて正常胸膜と悪性胸膜中皮腫での比較を行い、Glycolysis型、Oxyphos型代謝関連の遺伝子発現の差を同定するために、Gene Expression Omnibus (GEO)のデータセットを利用してmicro arrayによる遺伝子発現解析を行った。

4. 研究成果

本研究は、予後不良な疾患である悪性胸膜中皮腫の優位がん代謝を明らかにし、ATP関連がん代謝を標的とした新規治療薬の開発を目標とした。悪性胸膜中皮腫は稀な疾患であるため、まず

は検体を得やすい肺腺癌において、新規治療薬の標的となりうる代謝機構の同定を試みた。TCGA データベースを用いて ATP 関連がん代謝として aerobic を優位に使用して ATP を産生する Glycolysis 型と酸化的リン酸化を主に使用する Oxphos 型に分類した。酸化的リン酸化を利用する肺腺癌が存在することが示唆されたことから、肺腺癌細胞株において酸化的リン酸化の重要な役割を担うミトコンドリア呼吸を標的とした阻害薬を使用したところ、正常細胞ではほとんど変化が認められない低濃度で細胞増殖抑制効果が認められ、優位代謝別の新規治療戦略開発の有用性が示唆された。

上記結果から、がん代謝を標的とした治療開発は有望と考え、悪性胸膜中皮腫の課題に移行した。悪性胸膜中皮腫を対象として TCGA データベースを用いて組織別（上皮型、二相型、肉腫型）の代謝タイプを検討した。個々のサンプル毎に Glycolysis もしくは Oxphos type の関連遺伝子発現が全体的に高いサンプルと低いサンプルに分かれる傾向は認められたが、組織型毎に特徴付けられる発現遺伝子の同定には至らなかった（図 1）。二相型、肉腫型は悪性胸膜中皮腫の中でも稀な組織型であり、TCGA データベースにおいてもサンプル数が少ないことが原因の 1 つとして考えられた。

続いて GEO のデータベースを用いて正常組織と悪性胸膜中皮腫の遺伝子発現パターンの比較を行った。解析は GEO のデータベースの悪性胸膜中皮腫 MPM39 例と正常胸膜 7 例の患者検体を含むデータセットを用い、Glycolysis と Oxphos に関連する遺伝子について正常組織と悪性胸膜中皮腫検体を用いてヒートマップの作成を行った（図 2）。正常組織と比較すると上皮型よりも二相型や肉腫型で、発現量に差がある遺伝子が多い傾向であった。これらの中で悪性胸膜中皮腫と関連が強いと考えられる解糖系代謝に関わる遺伝子 X (logFC 値が最も高く、P 値が最も低い) を候補分子として同定した。この候補分子を標的とした治療開発の研究をさらに進めていく予定である。

図1 ヒートマップ(TCGAデータベース)

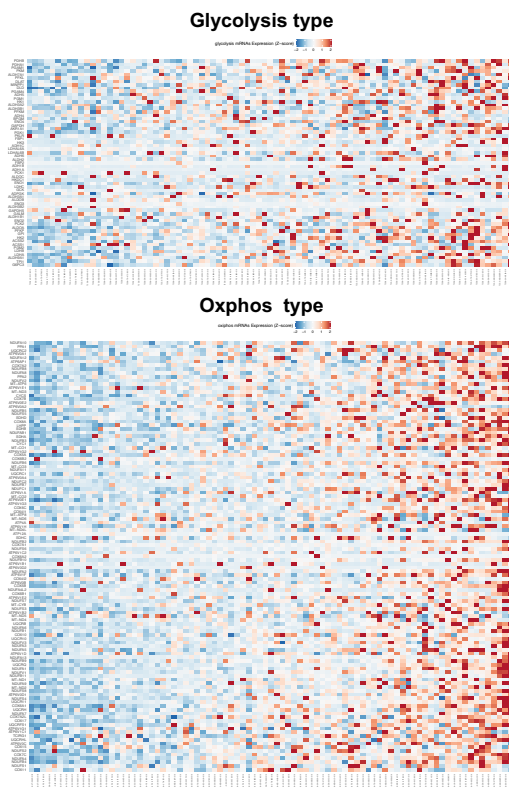
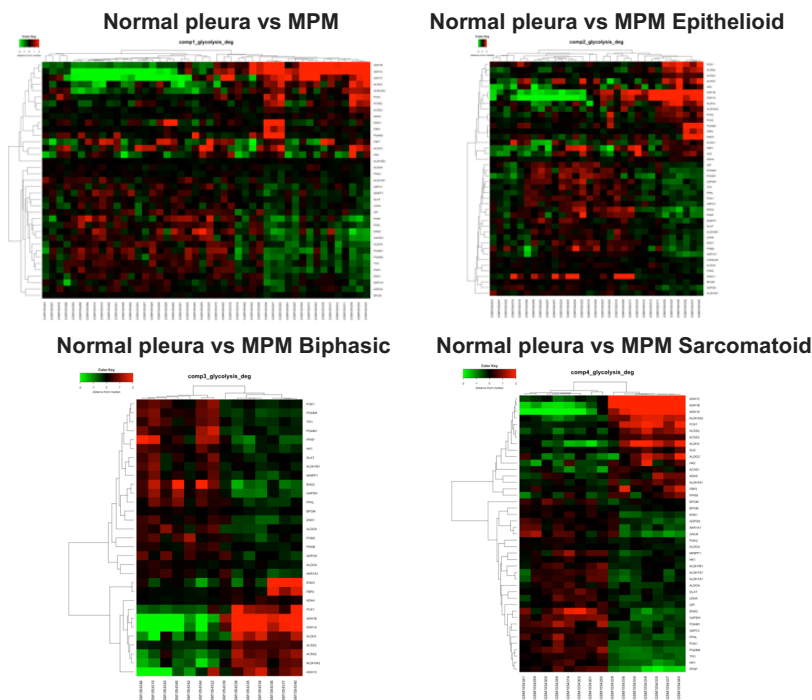


図2 ヒートマップ(GEOデータベース)



正常組織と悪性胸膜中皮腫検体を用いてヒートマップの作成を行った（図 2）。正常組織と比較すると上皮型よりも二相型や肉腫型で、発現量に差がある遺伝子が多い傾向であった。これらの中で悪性胸膜中皮腫と関連が強いと考えられる解糖系代謝に関わる遺伝子 X (logFC 値が最も高く、P 値が最も低い) を候補分子として同定した。この候補分子を標的とした治療開発の研究をさらに進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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