

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：14603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06626

研究課題名(和文) 発がん過程におけるCOP1を介するACC脂質代謝経路のリプログラミング

研究課題名(英文) Reprogramming of ACC lipid metabolic pathways in COP1-mediated oncogenesis

研究代表者

加藤 規子 (Kato, Noriko)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・特任准教授

研究者番号：10252785

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)：E3ユビキチンリガーゼCOP1は、発がん・エネルギー代謝経路に関わる因子群を分解標的とする。その中でも脂質代謝酵素であるACCに注目し、発がん過程において、如何にして増殖に必須の特異的エネルギー代謝機構を獲得するのかを白血病モデルを用いて明らかにした。COP1-Trib1複合体によるACC1分解は、細胞内エネルギー量の余剰とROS活性の低下を招く。結果として、骨髄細胞の増殖促進と分化阻害を惹起し、急性骨髄性白血病発症の原因となることを見いだした。分解制御抵抗性ACC1変異体の導入は、細胞増殖を抑制し好中球への分化を促進することにより白血病発症を抑制する。この機構を抗がん剤の開発に繋げたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん代謝の研究は新たな治療戦略の開発の必要性から活発に行われている。COP1は発がん・代謝の両経路に関わり、分解標的となる造血系転写因子・脂質代謝酵素群を安定化すると、がん化は抑制される。このことは、COP1研究は発がん代謝の相互作用の研究モデルとして優れており、発がん過程における代謝ネットワークのリプログラミング機構のより深い理解をもたらす、新規がん治療薬の開発に貢献できる。

研究成果の概要(英文)：An E3 ubiquitin ligase COP1 targets several factors that are involved in tumorigenesis and energy metabolism for degradation. We identified fatty acid synthesis enzymes acetyl-CoA carboxylase (ACC) as a target of the COP1-Trib1 ligase complex and investigated how cancer-initiating cells acquire a specific energy metabolic system essential for their proliferation in the process of cellular transformation with leukemic mouse models. The COP1-Trib1 complex-mediated ACC1 degradation results in an excessive supply of cellular energy, which is utilized to reduce ROS levels for cell survival and differentiation block in leukemia-initiating cells. An ACC1 mutant resistant to degradation inhibited the COP1-Trib1-driven cell growth and promoted the terminal differentiation, thereby suppressing myeloid leukemia development. The upregulated expression of these enzymatic factors has potential as a strategy for cancer therapy.

研究分野：腫瘍細胞生物学

キーワード：細胞増殖分化 発がん エネルギー代謝

1. 研究開始当初の背景

(1) COP1 (constitutive photomorphogenic 1) は E3 ユビキチンリガーゼであり、分解標的因子として c-Jun, ETV1, ETV4, ETV5, p53, C/EBPalpha, ACC, TORC2, FOXO1 などが報告されている。これら COP1 の基質タンパク質群は、発がん関連経路およびエネルギー代謝経路(脂質代謝・糖新生)のどちらかに分類される。このことは COP1 とその標的因子群の研究は、発がん過程における代謝経路のリプログラミングが如何にがん細胞の増殖を利するのかを解明する上で、非常に適したモデルとなると考えた。

(2) 我々は、白血病関連因子 MLF1-COP1 経路の研究を端緒に、COP1-共役因子-複合体は、骨髄系造血細胞分化に必須の転写因子 C/EBPalpha(細胞分化)・がん抑制因子 p53(細胞増殖)を分解標的とし、急性骨髄性白血病(AML) 発症の原因となることを明らかにし報告してきた(引用文献 2、3、4、5)。この研究過程において、さらに、COP1-Trib1 複合体は、C/EBPalpha ばかりでなく脂肪酸合成酵素 ACC 群 (acetyl-CoA carboxylase: ACC1 と ACC2) をも標的とすることを見いだした。

2. 研究の目的

(1) がん代謝の研究は、新たな治療戦略を開発する必要性から、近年活発に行われているが、発がん経路と代謝経路が直接的に結びつくモデルは意外に少ない。E3 ユビキチンリガーゼ COP1-Trib1 複合体が、骨髄系造血細胞分化に必須の転写因子 C/EBPalpha ばかりでなく脂肪酸合成酵素 ACC 群をも標的とするという我々の発見は、COP1-Trib1 複合体が誘導する AML 発症機構において ACC 群の発現低下が一因になっていることを示唆している。本研究課題の COP1 経路をモデルとして、発がん過程において正常代謝経路がどのように再構築され、がん代謝が成立するのかを解明することを目的とした。

(2) 次段階として、一般的な AML においても ACC 群の発現低下が発症要因となっているのか、ACC 蛋白質の安定化が白血病細胞の増殖を抑制し得るのかを、マウス骨髄移植実験の手法により、白血病発症マウスモデルを用いて検証した。

3. 研究の方法

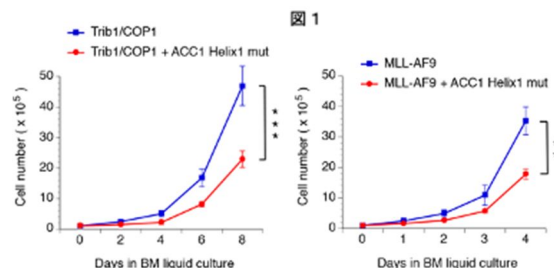
(1) 細胞増殖・分化・エネルギー代謝における ACC 代謝経路群の役割を解析した。安定化 ACC 点突然変異体を用いて、がん化機構を解析するとともに、がん化から細胞分化へのプログラム変換が可能かを検証した。具体的には、安定化 ACC 変異体群を COP1-Trib1 複合体とともにマウス骨髄細胞に導入し、細胞培養法・コロニーアッセイ法により ACC 群の安定化が増殖・分化に与える影響を検定した。さらに、安定化 ACC 変異体群導入による ROS 活性および ACC 関連代謝経路因子群 (acetyl-CoA, malonyl-CoA, NADPH 等) の発現量と活性の増減を検定した。

(2) 白血病マウスモデルを用いて検証した。COP1-Trib1 過剰発現マウス骨髄細胞の骨髄移植 (BMT) マウスは約 4~5 ヶ月で AML を発症する。安定化 ACC 変異体群を共発現させた BMT マウスモデルを作製し、AML 発症の遅延・骨髄芽球の分化促進を認めるかを観察した。

(3) バイオインフォーマティクス的手法を用いて、正常ヒト骨髄細胞と AML 全般において ACC 発現量に差異があるかを検定した。ヒト AML において頻度の高い原因遺伝子の AML マウスモデルを構築し、上記(1)(2)での発見が、通常の AML でも一般化できるかを検証した。

4. 研究成果

(1) 脂肪酸合成酵素 ACC1 はアダプター因子であるすべての Tribbles (Trib1・Trib2・Trib3) と直接結合し、COP1-Tribbles 複合体の分解標的となることを確認した。ACC1 段階的欠失変異体を作製し Tribbles との結合に必須のアミノ酸配列を同定し、COP1-Tribbles 複合体に対して分解抵抗性を有する点変異体 (蛋白分解抵抗性 ACC: 安定化 ACC: ACC Helix1mut) を設計した。この安定化 ACC1 は COP1-Trib1 複合体により誘導される細胞増殖に対して抑制的に働くことを見出した (図 1 左図)。



(2) COP1-Trib1 複合体による ACC1 分解は、細胞内 ROS (reactive oxygen species) 活性の低下を招き、NADPH 等の余剰エネルギーが細胞増殖に利用されることを立証した。安定化 ACC1 を導入すると、ROS 活性が上昇し NADPH エネルギーがその不活性化に消費されるため、細胞増殖が抑制されるのを見いだした。

(3) 骨髄移植の手法を用いて、COP1-Trib1 複合体により誘導される白血病マウスモデルを用いて検証した。分解制御を受けない ACC1 変異体を共発現した骨髄移植マウスでは細胞増殖能抑制・好中球への分化促進が惹起され、AML 発症が著明に抑制されるのを見いだした(図2)。

さらに、この安定化 ACC1 の導入発現は、がん化初期モデルでは成熟好中球への分化誘導による白血病幹細胞の枯渇(コロニーアッセイ)を示し(図3)、白血病化初期マウスの二次骨髄移植でも75%のマウスで AML 発症を認めなかった(図4)。

(4) 上記のがん特異的代謝機構が AML 全般においても存在することを明らかにした。ACC1 はヒト AML 全般において減少しており、中でも AML に高頻度に認められる MLL-AF9 原因融合蛋白質を発現する AML モデルマウスに安定型 ACC1 を導入発現すると、ROS 活性が上昇し AML 発症が著明に遅延した(図1右図)。これらの成果をまとめて国際的トップジャーナル(引用文献1: J. Clinical Investigation, 2021)に報告・掲載した。内容を要約を図5に示す。

(5) ACC には ACC1 および ACC2 が存在し、ACC1 は細胞質ゾルに局在し脂肪酸合成 (FAS) に、ACC2 はミトコンドリア外膜に局在し脂肪酸酸化 (FAO) に関わる。ACC2 も同様にヒト AML 全般において発現量が低下していた。安定化 ACC2 が、細胞内ミトコンドリア呼吸を抑制することにより AML 発症を遅延させることを、細胞培養系および上記マウスモデルを用いて明らかにした。しかし、細胞増殖および AML 発症の抑制効果は、安定型 ACC1 が ACC2 に比べ有意に高く、相乗効果は認めなかった。

(6) 以上の研究成果から、発がん過程において生じる代謝機構異常のリバランスを試みることは、治療戦略として有用であると考えられる。今後の研究において、新たながん治療戦略の開発に繋げたい。

図2.

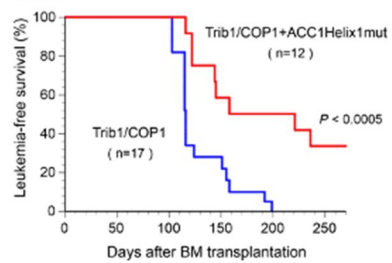


図3.

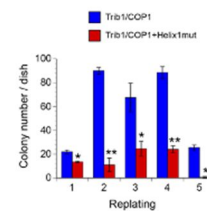
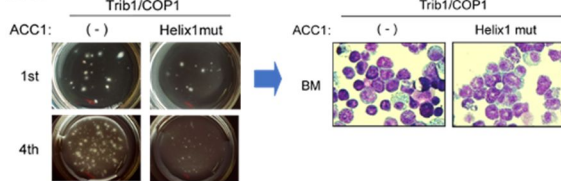


図4. 二次骨髄移植の生存率

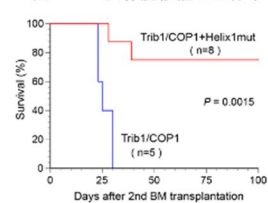
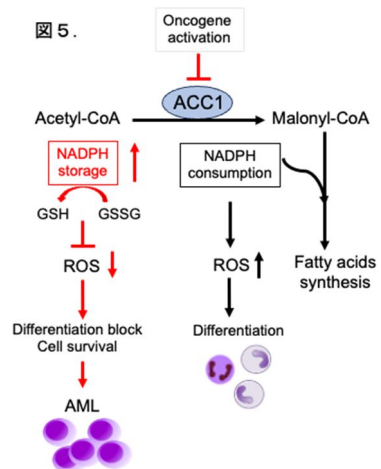


図5.



< 引用文献 >

1. Ito H, Nakamae I, Kato JY, Yoneda-Kato N. Stabilization of fatty acid synthesis enzyme acetyl-CoA carboxylase 1 suppresses acute myeloid leukemia development. J Clin Invest.131(12): e141529, 2021.
2. Nakamae I, Kato JY, Yokoyama T, Ito H, Yoneda-Kato N. Myeloid leukemia factor 1 stabilizes tumor suppressor C/EBPα to prevent Trib1-driven acute myeloid leukemia. Blood Adv. 1: 1682-1693, 2017.
3. Yoshida A, Kato JY, Nakamae I, and Yoneda-Kato N. COP1 targets C/EBPα for degradation and induces acute myeloid leukemia via Trib1. Blood. 122: 1750-1760, 2013.
4. Yoneda-Kato N, Tomoda K, Umehara M, Arata Y, Kato JY. Myeloid leukemia factor 1 regulates p53 by suppressing COP1 via COP9 signalosome subunit 3. EMBO J. 24: 1739-1749, 2005.
5. Yoneda-Kato N and Kato JY. Shuttling imbalance of MLL1 results in p53 instability and increases susceptibility to oncogenic transformation. Mol Cell Biol. 28: 422-434, 2008.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ito H, Nakamae I, Kato JY, Yoneda-Kato N.	4. 巻 131 (12)
2. 論文標題 Stabilization of fatty acid synthesis enzyme acetyl-CoA carboxylase 1 suppresses acute myeloid leukemia development.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Clin Invest.	6. 最初と最後の頁 e141529
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/JCI141529.	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 Kamitani N, Nakamae I, Yoneda-Kato N, Kato JY, Sho M.	4. 巻 12 (1)
2. 論文標題 Preclinical evaluation of pentagamavunone-1 as monotherapy and combination therapy for pancreatic cancer in multiple xenograft models.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 22419
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-26863-y.	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1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kato JY and Yoneda-Kato N
2. 発表標題 Tumor-specific functions of the fifth component of the COP9 signalosome complex (CSN5).
3. 学会等名 XI-ZOMES, Magdeburg, Germany（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 新規ポリペプチドおよびその利用	発明者 加藤規子、加藤順也、伊藤秀矩	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/045268	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔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
研究 分 担 者	加藤 順也 (kato Jun-ya) (00273839)	奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・教授 (14603)	

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