

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09177

研究課題名（和文）肺腺癌のATP代謝経路を標的とした新規治療戦略の開発

研究課題名（英文）Development of novel treatments for lung adenocarcinoma targeting ATP related metabolic pathway

研究代表者

見前 隆洋（Mimae, Takahiro）

広島大学・原爆放射線医科学研究所・助教

研究者番号：00634081

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）：TCGAデータベースを用いて、肺腺癌症例におけるGlycolysis関連分子群、OXPHOS関連分子群それぞれの遺伝子発現のパターンに沿ったクラスタリングを行い、がん代謝性質別に分類を行なった。ヒト肺腺癌検体を用いた免疫組織学的染色でPPAR γ 発現量と患者の予後が相関し、OXPHOS代謝を制御することで癌細胞の増殖が抑制できないかと考えた。そこで、ミトコンドリア呼吸を標的とした薬剤の抗腫瘍効果とがん代謝関連分子の発現パターンとの関係を解析し、OXPHOS関連の分子が高発現を示す細胞株で有意にミトコンドリア呼吸の抑制による増殖抑制効果が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺腺癌は早期では手術による成績がある程度望めるが、進行癌ではその予後は非常に不良で、さらなる治療開発が必要とされる分野であり、その罹患数の多さからも社会的ニーズが高い。本研究ではがん代謝を標的とした新規治療開発であり、現在ではまだ世界的にも開発段階の治療法に注目している。用いた代謝阻害薬は肺腺癌細胞に対しては、正常細胞では死滅しない濃度で効果を発揮することがin vitroではあるが示された。またその対象となる集団がある一定数は望めることをヒト検体を用いて確認していることから、ヒトへの応用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Using the TCGA database, we clustered the Glycolysis- and OXPHOS-related molecular groups in lung adenocarcinoma cases according to their respective gene expression patterns and classified them based on the patterns.

Immunohistochemistry of human lung adenocarcinoma specimens has demonstrated that PPAR γ expression correlated with the prognosis, and we wondered whether regulation of OXPHOS metabolism could inhibit cancer cell growth.

Therefore, we analyzed the relationship between the antitumor effects of drugs targeting mitochondrial respiration and the expression patterns of molecules related to cancer metabolism, and found that lung adenocarcinoma cell lines with high expression of OXPHOS-related molecules showed significant growth suppression by suppressing mitochondrial respiration.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：がん代謝 酸化的リン酸化 Glycolysis Oxphos 肺腺癌

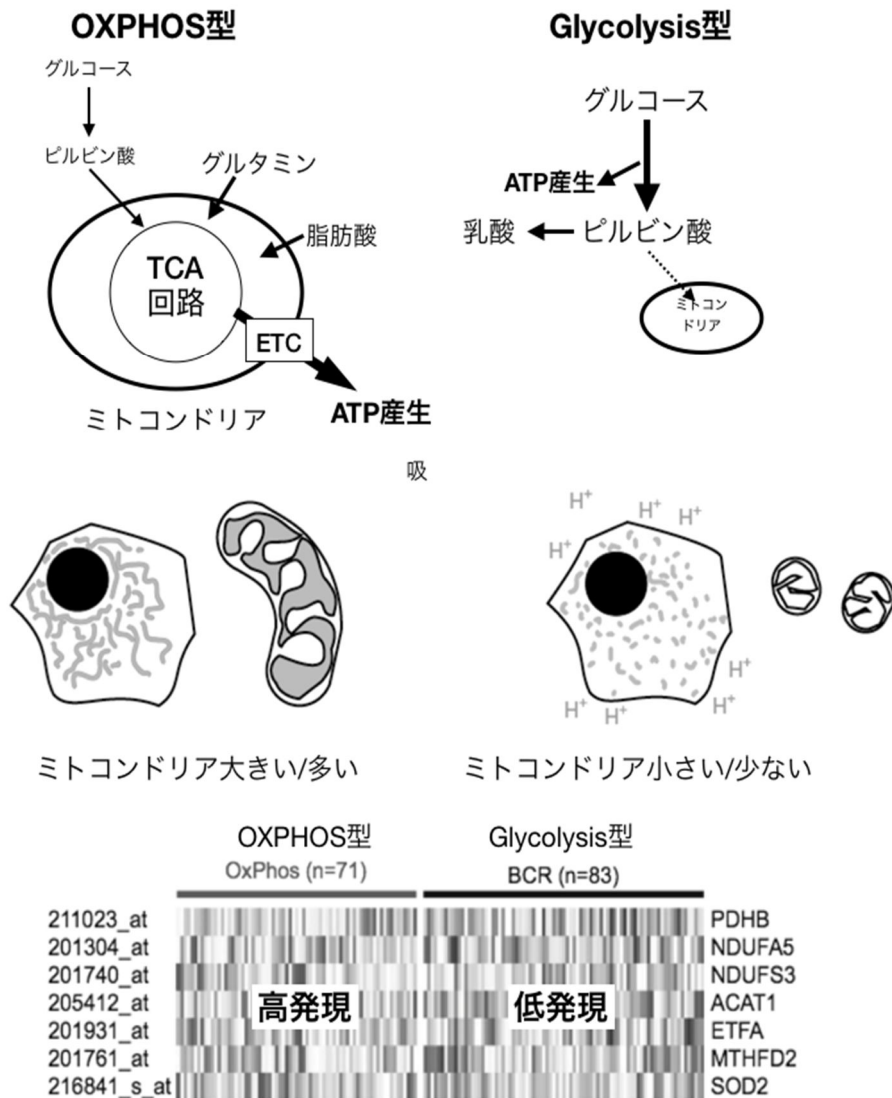
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺腺癌は悪性新生物の中で最多の肺癌の中で最も多い組織型である。手術、抗がん剤、放射線に加えて免疫チェックポイント阻害剤の出現で治療成績は向上しつつあるが未だ十分とは言えず、その有効な新規治療薬開発は急務である。

最近細胞生存に必須なエネルギーである ATP 産生に關与する主ながん代謝として、元来有名であった Aerobic glycolysis を優位に使用する Glycolysis 型 (Warburg 効果) (Koppenol et al. Nat Rev Cancer. 2011) の他にミトコンドリア内の TCA 回路-ミトコンドリア呼吸、いわゆる酸化リン酸化 (oxidative phosphorylation) を優位に使用する OXPHOS 型が存在する (Caro P et al. Cancer Cell. 2012) ことが分かった。これらは RNA シークエンスなどによる Glycolysis や OXPHOS (ミトコンドリアなど) 關連の遺伝子発現プロファイリングやミトコンドリアの量、大きさで分別可能である (図 1)。実際に我々の先行実験 (応募者の 2018-2019 研究活動スタート支援) では TCGA データベースを用いた解析において肺腺癌が Glycolysis 型や OXPHOS 型に明瞭に分類可能であることが分かった。そこで優位な ATP 産生關連がん代謝の抑制による肺腺癌細胞増殖制御を想起した。また、最近の研究から抗がん剤抵抗性獲得の際にがん細胞が OXPHOS 型に変化していることが指摘されている (Redox Biol. 2018 Dec 17:101076.)。OXPHOS 型代謝の制御との併用により従来抗がん剤の治療成績も向上可能であると予想した。

図 1 ATP産生關連優位代謝 -OXPHOS/Glycolysis型-



ミトコンドリア關連遺伝子の発現パターンが代謝型により明らかに異なる。

Cancer Cell 22, 547-560.

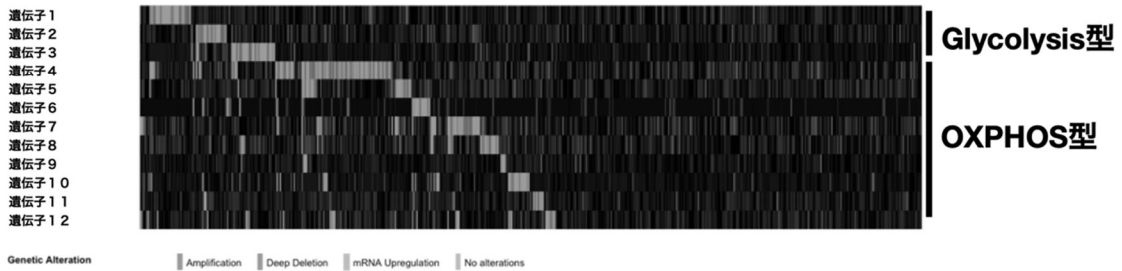
2. 研究の目的

本研究は TCGA データベースから予想されたように肺腺癌症例が優位 ATP 産生關連代謝別に分類可能であると仮説を立て、これを検証すると同時に優位代謝が治療の標的となりうるかを検討することを目的とした。

3. 研究の方法

ヒト肺腺癌における手術検体および細胞株を用いた代謝関連遺伝子プロファイリング
TCGA (The Cancer Genome Atlas) データベースを用い、Glycolysis 型、OXPHOS 型の代表的分子に関するプロファイリングを行った(図2)。また、ヒトにおいて治療標的となりうるかを検討すべく、ヒト肺腺癌細胞株と手術より得られたヒト肺腺癌症例のホルマリン固定パラフィン包埋より得られる薄切検体を用いて免疫組織学的染色を施行した。発現パターンと予後との関連も解析した。

図2 TCGAデータベースにおける肺腺癌症例の代謝分類



ヒト肺腺癌細胞株における標的代謝拮抗薬(ミトコンドリア呼吸)
ヒト肺腺癌細胞株(PC-9, A549, NCI-H441など)に対する標的代謝の拮抗薬を使用し、代謝パターン別に増殖能への影響を評価した。

4. 研究成果

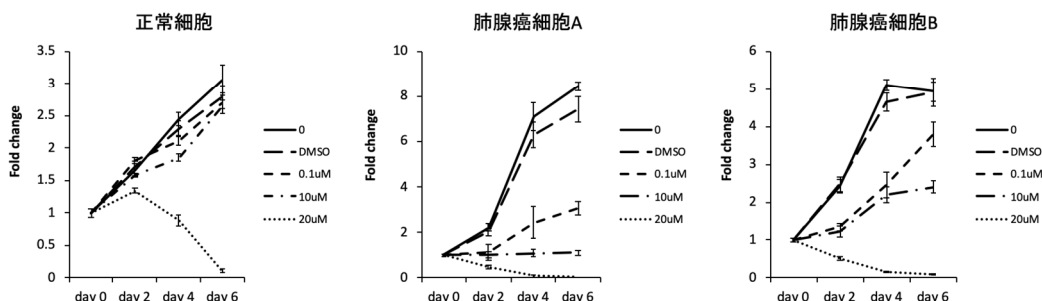
TCGA (The Cancer Genome Atlas) データベースを用いて、肺腺癌症例における Glycolysis 関連として HIF1a の下流分子群、OXPHOS 関連として AMPK の下流分子群それぞれの遺伝子発現のパターンに沿ったクラスタリングを行い、がん代謝性質別に分類を行なった。現在 Glycolysis 型と OXPHOS 型に分類できることが分かり、このタイプ別に治療開発が可能ではないかと推察される。一方で、いずれのタイプの特徴も持ち合わせたような腫瘍が存在することも分かった。肺腺癌細胞株もがん代謝関連分子の遺伝子およびタンパク発現パターンにより代謝の型が分類可能であった。

手術より得られたヒト肺腺癌症例の検体を用いた免疫組織学的染色は、がん代謝関連分子(HIF1a, UCP2, PPARg)に対する免疫染色を行い、PPARg においてその発現量と患者の予後が相関する結果が得られ、PPARg は OXPHOS の代表的な分子であることから、OXPHOS 代謝を制御することで癌細胞の増殖が抑制できないかと考えた。これを証明すべく、肺腺癌細胞株における OXPHOS 代謝抑制実験を行うこととし、酸化リン酸化を標的とした阻害にはミトコンドリア呼吸のうち、complex I や V を標的とした薬剤を使用した。

ミトコンドリア呼吸を標的とした薬剤の抗腫瘍効果とがん代謝関連分子の発現パターンとの関係を解析し、OXPHOS 関連の分子が高発現を示す細胞株で有意にミトコンドリア呼吸の抑制による増殖抑制効果が認められた。特にミトコンドリア呼吸(特に Complex V)を標的とした薬剤に感受性の高い細胞株では正常細胞株では増殖が抑えられないような非常に低濃度でも抗腫瘍効果が認められている(図3)。また、複数の細胞株で同様の傾向が確認されていることから、有害事象が抑えられた治療開発へつなげると考えている。以上の内容に関して現在論文文化を進めている。

図3

肺腺癌細胞株におけるミトコンドリア呼吸を標的とした代謝阻害による細胞増殖抑制



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Mimae T, Miyata Y, Tsutani Y, Shimada Y, Ito H, Nakayama H, Ikeda N, Okada M.	4. 巻 11
2. 論文標題 Role of ground glass opacity in pure invasive and lepidic component in pure solid lung adenocarcinoma for predicting aggressiveness	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JTCVS Open	6. 最初と最後の頁 300-316
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xjon.2022.04.041.	査読の有無 無
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 Mimae T, Miyata Y, Kumada T, Tsutani Y, Okada M.	4. 巻 16
2. 論文標題 The intersegmental pulmonary vein is not always located on the intersegmental plane of the lung: Evaluation with 3-dimensional volume-rendering image reconstruction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JTCVS Tech.	6. 最初と最後の頁 132-138
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xjtc.2022.09.002.	査読の有無 無
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 Mimae T, Saji H, Nakamura H, Okumura N, Tsuchida M, Sonobe M, Miyazaki T, Aokage K, Nakao M, Haruki T, Okada M, Suzuki K, Yoshino I.	4. 巻 Online ahead of print
2. 論文標題 Sublobar resection for non-small-cell lung cancer in octogenarians: a prospective, multicenter study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Ann Thorac Surg	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.athoracsur.2023.02.061.	査読の有無 無
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
---------	---------