

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09381

研究課題名(和文) リポクオリティに着目したフェロトーシス誘導による腎細胞癌に対する新規治療法の確立

研究課題名(英文) Establishment of a novel therapy for renal cell carcinoma by induction of ferroptosis via lipo-quality modulation

研究代表者

長谷川 政徳 (HASEGAWA, Masanori)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：50383823

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：腎細胞癌細胞株に、PUFAであるアラキドン酸を培養液に添加し、フェロトーシス誘導剤であるGPX4阻害剤へ暴露したところ、感受性が増強した。一方でMUFAであるオレイン酸を添加すると感受性が低下した。de novoのMUFA合成責任酵素であるSCD1抑制はMUFAを抑制し、フェロトーシス感受性を上昇させることを明らかとし、SCD1阻害とGPX4阻害剤との併用は、フェロトーシスを介した総合的な癌制圧に有効であることが示唆された。また、腎細胞癌で臨床的に投与されるRapamycinに暴露しmTOR経路を抑制したところ、SCD1の発現が低下し、GPX4阻害剤への感受性が相乗的に上昇した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌細胞の脂質に着目した治療法は、癌制圧に向けた全く新しい視点であり、これまでに他癌を含めて臨床応用されていない。腎細胞癌の治療で一般に投与可能なラパマイシンがde novo MUFA合成経路の責任酵素であるSCD1発現を抑制し、MUFA合成を抑制し相対的にPUFA比率を上昇させることで、フェロトーシス誘導を増強することを明らかとした。本研究は、腎細胞癌は生存、増殖のためにどのようにフェロトーシスから逃避しているのか、リポクオリティに注目した機序について解明した。細胞内脂質代謝をコントロールすることでフェロトーシスを誘導しようという試みはこれまでの思考とは一線を画していると考えられる。

研究成果の概要(英文)：When arachidonic acid, a PUFA, was added to the culture medium of renal cell carcinoma cell lines and exposed to a ferroptosis inducer (GPX4 inhibitor), ferroptosis was strongly induced. On the other hand, the addition of oleic acid, a MUFA, reduced the sensitivity to GPX4 inhibitor. We revealed that the inhibition of SCD1, the enzyme responsible for MUFA de novo synthesis, inhibited MUFA synthesis and increased ferroptosis susceptibility. It was revealed that the combination of SCD1 inhibition and GPX4 inhibitor was effective for comprehensive cancer control through ferroptosis. Furthermore, when rapamycin exposed to renal cell carcinoma cell lines to suppress the mTOR pathway, SCD1 expression was decreased and sensitivity to GPX4 inhibitors was synergistically increased.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：フェロトーシス 腎細胞癌

1. 研究開始当初の背景

進行腎細胞癌に対しては癌バイオロジーに着目した分子標的薬、および癌免疫に着目した免疫チェックポイント阻害薬が投与されており、一定の効果を得られるようになった。しかしながら、薬剤に反応性が乏しい症例や投与後の再発症例では病勢のコントロールは困難であり、全く新しい視点からのアプローチが喫緊の課題である。

「脂質」の「質」を意味する「リポクオリティ」という新しい概念が注目されている。脂質は様々なメディエーターとして機能するが、水に溶けない物性、ゲノムにコードされない理由から、解析し難く、多くの脂質機能が未解明である。一般に、細胞死のメカニズムとして、アポトーシス、ネクローシス、オートファジーなどが知られているが、リポクオリティの変化による新規制御性細胞死として「フェロトーシス」が2012年に報告され、注目されるに至った (Dixon SJ et al. *Cell*. 1060-72. 2012)。フェロトーシスは鉄依存的な活性酸素種の発生と過酸化した脂質の蓄積によって細胞死をきたす機序である。Hangauerらは、乳癌細胞においてラパチニブによりHer2を抑えたときに残存する細胞集団がフェロトーシスを起こしやすいことを発見し、GPX4阻害剤であるRSL3は治療後の残存細胞に著効することを2017年11月のNature誌に報告した(Nature. 247-50. 2017)。これらの結果は、分子標的治療後の再発の問題を新しい方向から解決できる可能性が提示された点で非常に高く評価される。一方、申請者は膜結合型ムチンタンパクMUC1がxCTを介して細胞内の抗酸化作用を亢進させており、MUC1を阻害することでフェロトーシスを誘導可能であることを報告している (Functional interactions of the cystine/glutamate antiporter, CD44v and MUC1-C oncoprotein in triple-negative breast cancer cells. Hasegawa M et al. *Oncotarget*. 7(11):11756-69. 2016)。

2. 研究の目的

癌細胞の“脂質”に着目した治療法は、癌制圧に向けた全く新しい視点であり、これまでに他癌を含めて臨床応用されていない。本研究の目的は、腎細胞癌は生存、増殖のためにどのようにフェロトーシスから逃避しているのか、リポクオリティに注目した機序について解明し、その機序を介した腎細胞癌に対する新規治療戦略を確立することを目的とする。本研究によりフェロトーシスが腎細胞癌のバイオロジーに関与することが明らかとされれば、これまでに全く注目されていなかった“脂質”を標的とした癌治療法の開発がすすむと推測され、今までの議論されてきた経路とは全く違った観点から、難治性腎細胞癌の治療を大きく進歩させることを期待して取り組む研究である。フェロトーシスという新しい細胞死のメカニズムに着目した点がユニークであり、細胞内脂質代謝をコントロールすることでフェロトーシスを誘導しようという試みはこれまでの思考とは一線を画していると考えられる。

3. 研究の方法

細胞膜を構成するリン脂質は極性基に2つの脂肪酸が接続し疎水基をなす。疎水基には様々な脂肪酸が接続するが、4個の二重結合を有するアラキドン酸に代表されるような“多価不飽和脂肪酸 (PUFA)”の二重結合が過酸化されることで、脂質の過酸化が起こりフェロトーシスを起こす。一方で、de novoの脂肪酸合成では、グルコースの代謝過程で供給されるアセチル CoAが原料となり、飽和脂肪酸から9-脂肪酸デサチユラーゼ (SCD1) により“一価不飽和脂肪酸 (MUFA)”であるオレイン酸、パルミトレイン酸が生成される。MUFAは、先述のリン脂質におけるPUFA占拠率を低下させることでフェロトーシスを抑制することが報告されている (*Cell Chem Biol*. 420-32. 2019)。

本研究では、腎細胞癌細胞株を対象とし、リポクオリティの変化はフェロトーシス感受性の変化に関連することを確認し、フェロトーシス抑制因子であるMUFA合成をコントロールすることで、フェロトーシスの効率的な誘導を試みた。de novoのMUFA合成責任酵素であるSCD1抑制は、フェロトーシスを介した総合的な癌制圧に有効か検討した。

【腎細胞癌におけるリポクオリティのリモデリングとフェロトーシス感受性変化】

(1) 外的脂質添加によるリポクオリティの変化とフェロトーシス感受性

腎細胞癌細胞株 (786-O、Caki2、RCC4-vector、RCC4-VHL) を対象とし、培養液中にPUFAを添加し、GPX4阻害剤へ暴露した場合に、感受性が増強するか確認した。一方、MUFAを添加し、同様にリン脂質における組成変化を確認後、GPX4阻害剤への感受性が低下していることを確認した。

(2) SCD1によるde novo脂肪酸合成とフェロトーシス感受性

SCD1は細胞におけるde novo脂肪酸合成の重要酵素であり、MUFAを合成する責任酵素である。SCD1阻害剤であるCAY10566を暴露し、GPX4阻害剤に対する感受性が増強されるか確認した。

【既存薬との相乗的有効性の検討】

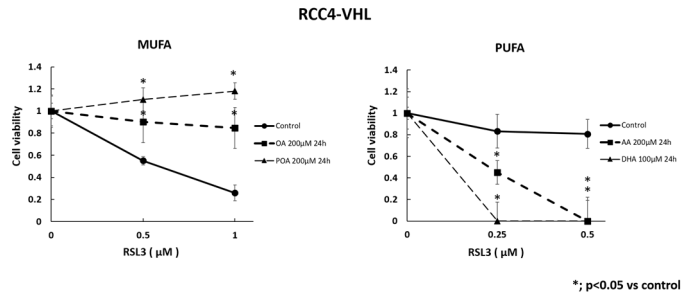
(1) 分子標的薬との併用の可能性

腎細胞癌はその増殖に関する標的分子が一部解明されている。SCD1 の発現調節機構とカスケードが一部重複することから、mTOR 阻害剤により SCD1 発現が低下するか確認した。さらに、分子標的薬とフェロトーシスを誘導可能な GPX4 阻害剤との併用による相乗的な細胞死誘導機序について検討した。

4. 研究成果

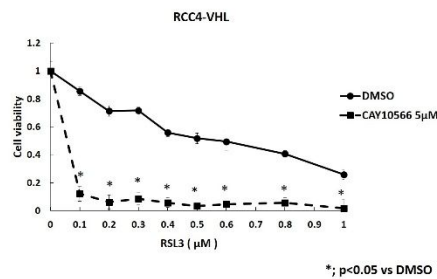
(1) 腎細胞癌細胞株に、フェロトーシスの発生する主体となる PUFA であるアラキドン酸を培養液に添加し、フェロトーシス誘導剤である GPX4 阻害剤 (RSL3) へ暴露したところ、GPX4 阻害剤への感受性が増強することが確認された。一方で MUFA であるオレイン酸を添加し、GPX4 阻害剤への感受性が低下することを確認した。

外的な脂質の添加はフェロトーシス感受性に影響する



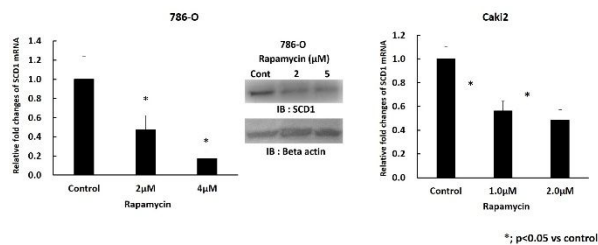
(2) CAY10566 による de novo の MUFA 合成責任酵素である SCD1 抑制は MUFA を抑制し、フェロトーシス感受性を上昇させることを明らかにし、SCD1 阻害と GPX4 阻害剤との併用は、フェロトーシスを介した総合的な癌制圧に有効であることを示した。

高密度においてSCD1阻害によりRSL3への感受性が増強



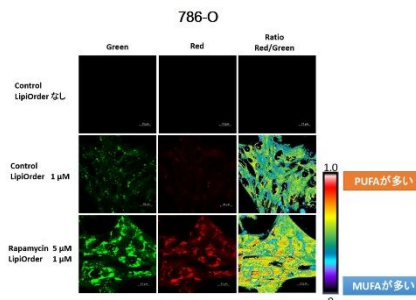
(3) mTOR の支配下に SCD1 の発現が調節されることから、腎細胞癌で臨床的に投与される Rapamycin に暴露し mTOR 経路を抑制したところ、mRNA 及びタンパクレベルで SCD1 の発現が低下した。

mTOR 阻害剤はSCD1発現を抑制する



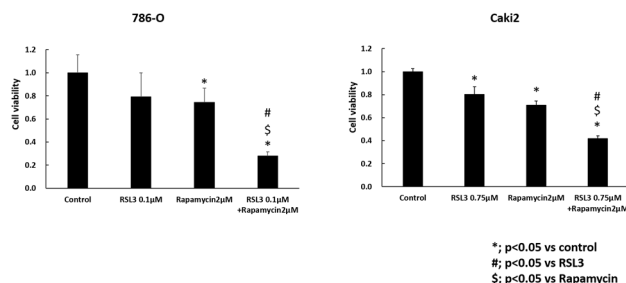
(4) LipiORDER®により MUFA と PUFA の比率を評価したところ、mTOR 阻害剤である Rapamycin 曝露により MUFA が減少することにより、相対的に PUFA が増加することが確認された。

LipiORDER®によるMUFA/PUFA比率の評価



(5) Rapamycin により、GPX4 阻害剤への感受性が相乗的に上昇した。実際の臨床で投与可能な薬剤によるフェロトーシス感受性の増強が確認されたことから、今後の臨床応用が期待される結果であると考えている。

mTOR阻害剤は、高密度においてフェロトーシス誘導剤の感受性を増強した



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 Shigeta Keisuke, Hasegawa Masanori, Hishiki Takako, Naito Yoshiko, Baba Yuto, Mikami Shuji, Matsumoto Kazuhiro, Mizuno Ryuichi, Miyajima Akira, Kikuchi Eiji, Saya Hideyuki, Kosaka Takeo, Oya Mototsugu	4. 巻 42
2. 論文標題 IDH2 stabilizes HIF-1 -induced metabolic reprogramming and promotes chemoresistance in urothelial cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 e110620
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15252/embj.2022110620	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 Kai Kudo, Ryo Yanagiya, Masanori Hasegawa, Joaquim Carreras, Yoshimi Miki, Shunya Nakayama, Etsuko Nagashima, Yuji Miyatake, Kan Torii, Kiyoshi Ando, Naoya Nakamura, Akira Miyajima, Makoto Murakami, Ai Kotani	4. 巻 10
2. 論文標題 Unique lipid composition maintained by extracellular blockade leads to prooncogenicity	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cell Death Discovery	6. 最初と最後の頁 221
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41420-024-01971-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2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 長谷川政徳、山田鴻一郎、杠総一郎、金伯士、日暮太朗、中野まゆら、川上正能、新田正広、河村好章、小路直、宮嶋哲
2. 発表標題 de novo脂肪酸合成によるリボクオリティ調節は腎細胞癌におけるフェロトース感受性を変化させる
3. 学会等名 第109回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長谷川政徳
2. 発表標題 リボクオリティに着目したフェロトース誘導による泌尿器がんに対する新規治療法の確立
3. 学会等名 第109回日本泌尿器科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021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
--	---------------------------	-----------------------	----

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