

令和 6 年 6 月 9 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09509

研究課題名（和文）ポリアミン代謝経路を標的とした卵巢癌の新規治療法の開発

研究課題名（英文）Development of Novel Therapies for Ovarian Cancer by Targeting the Polyamine Metabolic Pathway

研究代表者

太田 剛 (OHTA, TSUYOSHI)

山形大学・医学部・准教授

研究者番号：50375341

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）：卵巢癌患者から得た腫瘍と正常組織のペア検体のメタボローム解析により、腫瘍組織ではエネルギー代謝、ポリアミン経路、one carbon metabolism、アミノ酸代謝が活性化されていた。有意差のある代謝物が最も腫瘍組織と共通していた生体試料は血液であった。腫瘍組織とすべての試料で共通して産生が亢進していた代謝物はポリアミン経路に含まれるN1,N12-diacetylspermineであり、これにより卵巢癌の識別が可能であった。さらに、卵巢明細胞癌組織内の代謝プロファイルからTCA回路、解糖系、尿素回路、メチル化・エピゲノム制御が活性化した癌では再発し、予後が不良となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巢癌は最も致死率の高い婦人科癌であり、その主な原因は、初診時に多数の腹膜播種を認める進行した状態で発見されることが多いためである。卵巢癌の腫瘍組織と生体試料（血液、尿、唾液）のメタボローム解析結果から、ポリアミン経路が活性化されており、腫瘍組織の代謝状況を最も反映しているのが血液であることが明らかになった。このことからポリアミン経路は卵巢癌の発癌過程に関与しており、新たな治療標的分子となる可能性が示唆された。さらに今後、治療や再発による代謝プロファイルの変化を検討する場合に、血液の代謝プロファイルががんの状態を最も反映する指標となることを明らかにした点で学術的がある。

研究成果の概要（英文）：Metabolomic analysis of paired tumor and normal tissue samples from the same ovarian cancer patient showed that energy metabolism such as glycolysis, polyamine pathways, one carbon metabolism, and amino acid metabolism were activated in the tumor tissue. The biological sample that had the most metabolites in common with tumor tissue with significant differences was blood (plasma). The metabolite that was commonly upregulated in tumor tissue and all samples was N1, N12-diacetylspermine in the polyamine pathway, which can identify ovarian carcinoma. Furthermore, metabolic profiles in ovarian clear cell carcinoma tissues suggested that cancers with activated TCA circuit, glycolytic system, urea circuit, and methylation and epigenomic regulation may recur and have a poor prognosis.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：卵巢癌 メタボローム ポリアミン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

卵巣癌に対する最近の分子標的治療薬や抗体医薬の登場も卵巣癌全体の予後を大きく改善させるまでは至っておらず、更なる治療薬の開発が求められている。さらに卵巣癌は再発が多く、再発時には薬物療法に対して抵抗性を示し治療困難となることから、再発予防と薬剤耐性の克服は卵巣癌の予後を向上させるために重要な課題である。

ポリアミンはアルギニンから合成される代謝物で、合成律速酵素としては ornithine decarboxylase (ODC)があり、アセチル化されるとポリアミントランスポーターを介して細胞外へ排出される。ポリアミンは翻訳開始因子 eIF5A の修飾に関与しているため細胞の増殖・分化に必須の物質であり、また核酸、特に RNA と強く結合し RNA の立体構造を変化させることで翻訳調節に関与し、様々な細胞機能を調節する。

細胞増殖の盛んな癌細胞ではポリアミン合成能が亢進しており、その機序として 癌遺伝子 MYC による ODC の発現増強、癌抑制遺伝子 APC の変異による ODC 分解酵素の抑制、癌遺伝子 KRAS の変異による細胞外排出阻害があり、このようなポリアミン代謝経路の活性化は大腸癌の発がんに関与する (Gerner EW, Nature Rev Cancer 2004)。また、ポリアミン代謝経路は我々が卵巣癌の薬剤耐性機序として着目した増殖シグナルである extracellular signal-regulated kinase(ERK) 経路と、生存シグナルである phosphatidylinositol 3-kinase(PI-3 kinase)-Akt 経路と関連して癌の細胞増殖、血管新生、浸潤能を亢進させることが報告されている (Roy U, Mol Carcinog 2008, Wang C, Oncotarget 2017)。さらに最近では WNT シグナルによる癌の転移能、活性酸素 (ROS) による細胞死誘導能、がん微小環境を含めた抗腫瘍免疫能とポリアミン代謝経路の関連も明らかになってきた (Sandmark E, Oncotarget 2017, Ou Y, PNAS 2016, Travers M, Cancer Res 2019)。

ポリアミン代謝経路は癌の発生、細胞増殖に関連するため、ODC 阻害剤である DFMO (α -difluoromethylornithine) やポリアミントランスポーター阻害剤である AMXT 1501 などのポリアミン代謝経路阻害剤が開発され、臨床試験が行われている。大腸癌では DFMO が再発抑制効果を示し、グリオーマでは既存の抗癌剤と DFMO を併用投与することで予後を改善することが報告されている (Raj KP, Br J Cancer 2013, Levin VA, CNS Oncol 2018)。

2. 研究の目的

研究開始当初は卵巣癌細胞株においてポリアミンの細胞増殖作用と薬剤感受性との関連について検討を行っていたが、DFMO による卵巣癌細胞株に対する細胞増殖抑制作用が乏しかったため、本研究期間中の目的を変更し、以下の3点とした。

(1) 卵巣癌組織検体においてポリアミン経路が亢進しているのか否か、またポリアミン経路以外の重要な代謝経路があるのか。

(2) 組織中の代謝状況を最も反映している生体試料(血液、尿、唾液)を同定する。

(3) ポリアミンによる卵巣癌の診断能力を検討し、また再発のバイオマーカーとなるか否か。

3. 研究の方法

(1) 卵巣癌腫瘍組織における代謝物・代謝経路の検討

同一患者から得た腫瘍組織と正常組織のペア検体(24例)を CE-TOFMS と LC-QQQMS で測定した。メタボロームデータは、MasterHands (ver. 2.19.0.1、慶應義塾大学、山形、日本)を用いて処理し、絶対濃度を含むデータマトリックス(サンプル×代謝物)を作成した。各代謝物ピークの移動時間(MT)は内部標準に基づいて補正し、補正された MT と標準化合物の m/z 値に基づいて代謝物を同定した。各代謝物のピーク面積を積分し、内部標準物質のピーク面積で割って相対面積を求めた。サンプル中の代謝物の相対面積と標準混合物の相対面積の比を使用して、サンプル中の代謝物の絶対濃度を計算した。

(2) 卵巣癌患者の生体試料(血液、尿、唾液)における代謝物・代謝経路の検討

卵巣癌患者 37 例、良性疾患患者(コントロール) 30 例から検体を採取し、CE-TOFMS と LC-QQQMS で測定した。

(3) ポリアミンによる卵巣癌診断能力の検討と再発に関連した代謝物の同定

ROC 曲線を作成し、ポリアミン代謝物による AUC を算出した。卵巣明細胞癌患者(11名)のメタボローム解析結果から再発なし(no recurrence; NR)群(7例)と再発あり(recurrence; R)群(4例)で代謝物を比較し、再発に関連した代謝物、代謝経路を同定した。

4. 研究成果

(1) 患者背景

卵巣癌(OC)患者 37 人と、対照(C)と定義された良性婦人科疾患患者 30 人を対象とした。OC 群と C 群の年齢中央値はそれぞれ 52 歳(33-86 歳)と 43 歳(25-71 歳)であった。両群間で喫煙者の割合に有意差は認められなかった。卵巣癌進行期 I、II、III、IV はそれぞれ 20、7、

9、1例であった。OCの組織型は、高悪性度漿液性癌9例、子宮内膜様癌10例、明細胞癌14例、粘液癌2例、癌肉腫1例、小細胞癌1例であった。C群は良性卵巣腫瘍8例、子宮筋腫19例、子宮腺筋症1例、多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)1例、不妊症1例であった。

(2) 卵巣腫瘍組織における代謝物・代謝経路の検討

同一患者から得た腫瘍組織(OT群)と正常組織(NT群)のペア検体(24対)のメタボローム解析により、組織検体では130代謝物が定量された。その結果、96代謝物がOT群とNT群で有意な差を示した。N¹,N¹²-diacetylspermine, UDP-N-acetylglucosamine, adenosine monophosphate (AMP) など、ほとんどの代謝物がOT群で高濃度を示し、phosphoenolpyruvate (PEP) など9つの代謝物だけが低濃度を示した。卵巣癌腫瘍組織で活性化されていた代謝経路は解糖系などのエネルギー代謝、ポリアミン経路、one carbon metabolism、アミノ酸代謝であった(図1)。

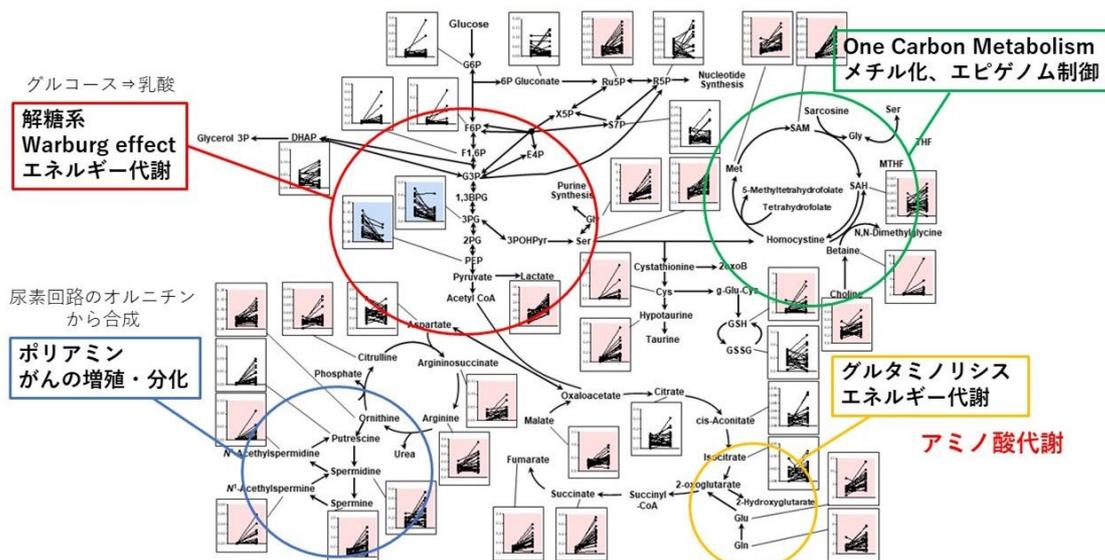


図1

(3) 卵巣癌患者の生体試料(血液、尿、唾液)における代謝物・代謝経路の検討

卵巣癌患者37例(OC群) 良性疾患患者(コントロール)30例(C群)から血液を採取し、血漿で行ったメタボローム解析では、84の代謝物が定量され、7つの代謝物がOC群とC群で有意に異なることが明らかになった(図4)。例えば、betaineとN¹,N¹²- diacetylspermineはOC群で高濃度であったが、4-methyl-2-oxopentanoateとhistidine(His)は低濃度であった。

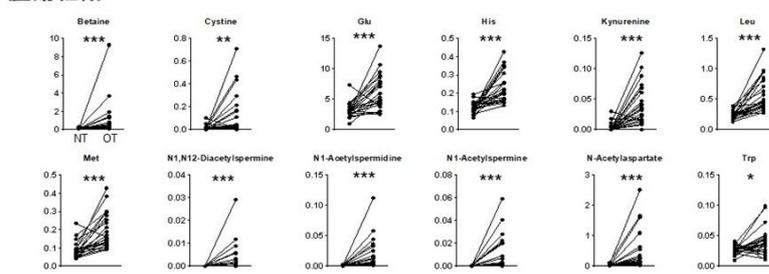
尿サンプル分析では140代謝物が定量され、そのうち10代謝物が両群間で有意差を示した。唾液検体分析では82代謝物が定量され、そのうち50代謝物が両群間で有意差を示した。これらのサンプルにおいて、有意差のある代謝物はすべてOC群で濃度が高かった。

これら3つの生体試料の中で共通して産生が亢進していた物質はN¹,N¹²-diacetylspermineであった。

(4) 腫瘍組織の代謝を最も反映する生体試料(血液、尿、唾液)の同定

有意差のある代謝物が最も腫瘍組織と共通していたのは血液(血漿)であった。合計で12代謝物が両検体で有意差(P < 0.05)を示し、5代謝物がFDR補正P < 0.05を用いて有意差を示した。2つのアセチル化ポリアミン、N-アセチルアスパラギン酸、ベタイン、ヒスチジンが含まれていた。これらの代謝物

腫瘍組織



血液(血漿)

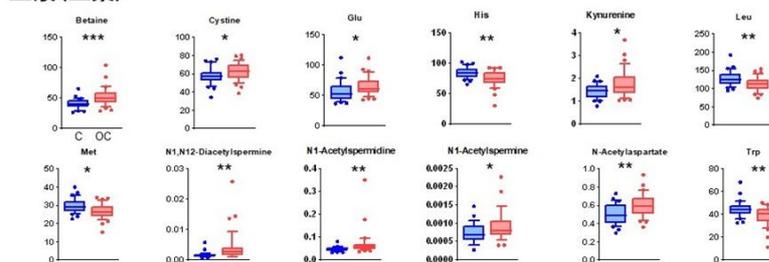


図2

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 太田 剛、立花 由花、堀川 翔太、奥井 陽介、榎 宏諭、清野 学、砂村 真琴、杉本 昌弘、永瀬 智
2. 発表標題 メタボロミクスによる卵巣癌組織と生体試料における代謝経路に関する検討
3. 学会等名 第65回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

山形大学医学部産婦人科 https://yamagata-obgy.com/
--

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	永瀬 智 (NAGASE SATORU) (00292326)	山形大学・医学部・教授 (11501)	
研究 分 担 者	清野 学 (SEINO MANABU) (40594320)	山形大学・医学部・講師 (11501)	

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