

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：33916

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19416

研究課題名（和文）メチオニン代謝を基盤としたがん治療抵抗性機構の解明と新規治療標的の同定

研究課題名（英文）Elucidation of cancer treatment resistance mechanism based on methionine metabolism and identification of novel therapeutic targets

研究代表者

佐谷 秀行（Saya, Hideyuki）

藤田医科大学・がん医療研究センター・センター長

研究者番号：80264282

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：シスチントランスポーター阻害剤スルファサラジンは治療抵抗性がん幹細胞を特異的に駆逐することが出来るが、耐性が生じることが分かっている。そこでスルファサラジンに対して耐性を持つがん細胞を作製し、そのメチオニン代謝と遺伝子のメチル化を網羅的に調べた。その結果、治療抵抗性細胞ではメチオニン代謝が亢進し、特異的な遺伝子が高度にメチル化を受けていることが分かった。更に、高度にメチル化を受けている遺伝子の上位にALDH代謝に関連するものがリストアップされており、メチオニン代謝を高めることでレドックス制御を高めると同時にALDHによる解毒作用を高め、細胞死を回避している可能性があることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

申請者らの研究チームは、シスチントランスポーターとALDHを同時に阻害することで腫瘍細胞に特異的かつ強力にフェロトーシスが誘導できることを見出し、その発見に基づいた医師主導治験の準備を進めている。大多数のがん細胞に対してこの薬剤併用は有効であることが確認できているが、投与を継続することによって耐性が生じる可能性は否めない。本研究ではシスチントランスポーターを抑制した際にメチオニン代謝によって細胞死を回避する機構が発動することが明確となり、耐性機構に対する対抗策を講じることが可能となった。

研究成果の概要（英文）：A cystine transporter inhibitor sulfasalazine can specifically eliminate treatment-resistant cancer stem cells, but it is known that resistance eventually develops. Therefore, we generated cancer cells resistant to sulfasalazine and comprehensively investigated their methionine metabolism and gene methylation. We found that methionine metabolism was enhanced in the resistant cells, and that specific genes were highly methylated. In addition, the genes related to ALDH metabolism were highly methylated. It became clear that there is a possibility that increased methionine metabolism strengthens redox regulation as well as enhances detoxification by ALDH, avoiding cell death.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：難治がん シスチントランスポーター メチオニン代謝

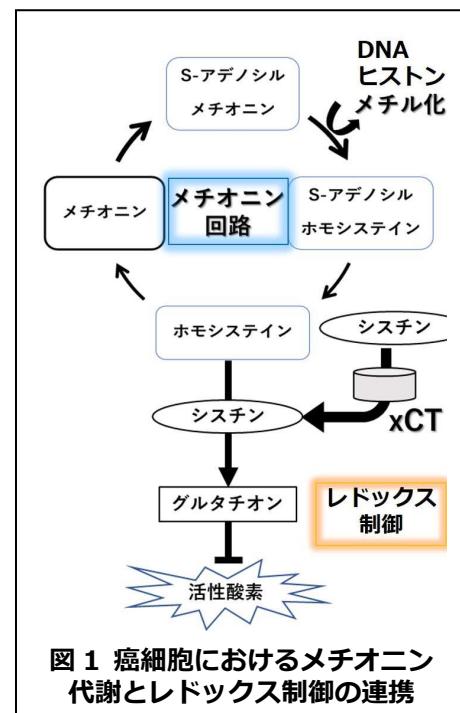
## 1. 研究開始当初の背景

がん細胞は外的・内的なストレスに対応して細胞の代謝系を変更することで増殖や生存に適切な環境を取得する能力を持っている。がん細胞は更にその機能を先鋭化し、Warburg効果をはじめとする代謝系のリプログラミングを行うことで増殖や生存に有利な環境を整えている。申請者らはがんの治療抵抗性にはシスチン代謝に基づくレドックス制御が深く関与することを見出した[1]。特に、シスチントランスポーターを阻害するとグルタチオンの合成が低下するため細胞内の活性酸素が上昇し、脂質が酸化されることで、大量の過酸化脂質が産生されると考えられる。過酸化脂質は4-HNEと呼ばれるアルデヒドに変化し、それは高い毒性を持つことから細胞死が誘導される。このように活性酸素が上昇することによって引き起こされる細胞死をフェルトーシスと呼んでいる。申請者のチームは、治療抵抗性細胞ではシスチントランスポーターがシスチンを取り込んでグルタチオンの産生を上昇させて活性酸素そのものを抑制する機構に加えて、4-HNEをアルデヒド脱水素酵素(ALDH)によって無毒化することで、フェルトーシスを回避していることを見出した[2,3]。つまり、シスチントランスポーターとALDHの両方を同時に抑制することで、がん細胞特異的にフェルトーシスを誘導することが可能であることを証明し、2つの阻害剤の併用による医師主導治験を計画している。

シスチントランスポーターとしてxCTという分子があり、その阻害剤としては既存薬であるスルファサラジンがよく知られている。スルファサラジンとALDH阻害剤の併用が様々な臓器由来の治療抵抗性がん細胞に有効であることは分かっているが[3]、細胞によってはメチオニン代謝を利用することでxCT阻害剤とALDH阻害剤の併用による細胞死を回避する能力があることを先行研究によって見出した。

## 2. 研究の目的

メチオニンは、メチオニン回路での代謝を経て、①抗酸化物質グルタチオン(GSH)の原料であるシスチンを合成しレドックス制御に寄与すると同時に、②DNAやヒストンのメチル化を介してがんの代謝変化に適応するエピジェノミクス変化を誘導する(図1)。したがって、メチオニンの摂取制限はがん細胞の増殖抑制や、抗がん剤や放射線治療の効果増強を引き起こすことが報告されている[4]。本研究では癌の治療抵抗性におけるメチオニンの役割を明確にし、治療抵抗性打破のための新規治療戦略考案のための基盤となるデータを蓄積することを目的として行った。具体的には、シスチントランスポーターを阻害して活性酸素を上昇させたときにメチオニン代謝がどのように作動することでフェルトーシス耐性が生じるかについて調べることを目標とした。



## 3. 研究の方法

①シスチントランスポーター阻害剤スルファサラジンに対して感受性の高い頭頸部がん細胞OSC-19を、低濃度のスルファサラジンで長期間培養することで、スルファサラジンに耐性を持つ細胞株を樹立した。

②スルファサラジン感受性細胞と抵抗性細胞の造腫瘍能を比較した。

③スルファサラジン感受性細胞と抵抗性細胞をスルファサラジンで処理し、そのメチオニン代謝と遺伝子のメチル化を網羅的に調べ、抵抗性細胞における変動を調べた。

#### 4. 研究成果

##### ①xCT 阻害時の細胞内メチオニン量の変化

スルファサラジンを用いて OSC-19 を処理しメタボローム解析を行ったところ、コントロール群に比べ、細胞内メチオニンが有意に低下することを認めた (図 2)。これは、SSZ により細胞内へのシスチンの取り込みが減少したことで、グルタチオンを合成するためにメチオニン回路を通じてシスチンが過剰に合成されたためと推察される。

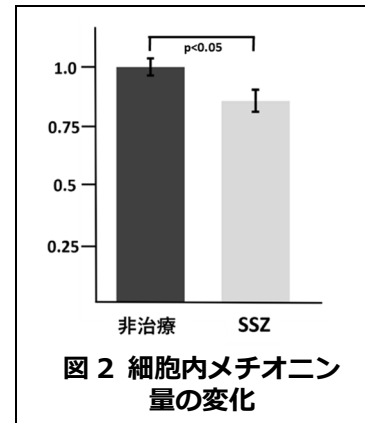


図 2 細胞内メチオニン量の変化

##### ②SSZ 耐性株の造腫瘍能

OSC-19 と SSZ 耐性株 (OSC19-SSZR) で腫瘍形成能を比較したところ、耐性株では有意に腫瘍形成能が低下していた (図 3)。これはシスチンへの転換にメチオニンが消費されたため、メチオニン制限でがん細胞の増殖が抑制されたと考えられる。また、図 3 の腫瘍を用いたマイクロアレイ解析により、腫瘍形成に関わる遺伝子の発現が優位に変化していることも確認している (図 4)。

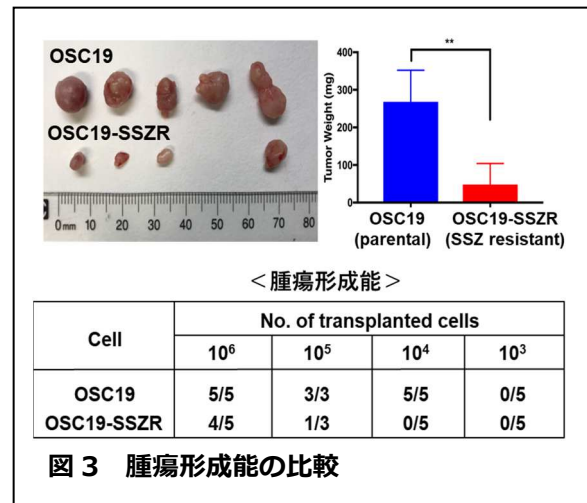


図 3 腫瘍形成能の比較

##### ③SSZ 耐性細胞におけるメチオニン代謝とメチル化遺伝子

治療抵抗性細胞ではメチオニン代謝が亢進し、特異的な遺伝子が高度にメチル化を受けていることが分かった。更に、高度にメチル化を受けている遺伝子の上位に ALDH 代謝に関連するものがリストアップされており、メチオニン代謝を高めることでレドックス制御を高めると同時に ALDH による解毒作用を高め、細胞死を回避していると考えられる。

今後は治療抵抗性細胞のメチオニン代謝をモニターできるシステムを構築し、xCT 阻害剤と ALDH 阻害剤の併用治療の効果と比較する研究を進める予定である。

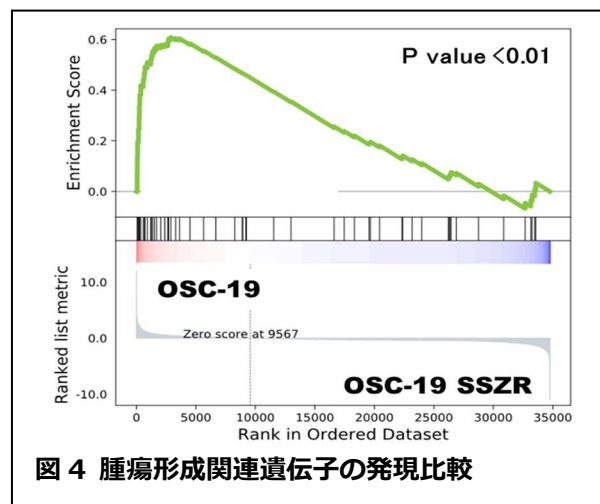


図 4 腫瘍形成関連遺伝子の発現比較

- 1) Ishimoto T, Nagano O, Yae T, Tamada M, Motohara T, Oshima H, Oshima M, Ikeda T, Asaba R, Yagi H, Masuko T, Shimizu T, Ishikawa T, Kai K, Takahashi E, Imamura Y, Baba Y, Ohmura M, Suematsu M, Baba H and Saya H: CD44 variant regulates redox status in cancer cells by stabilizing the xCT subunit of system xc- and thereby promotes tumor growth. *Cancer Cell* 19: 387-400, 2011
- 2) Okazaki S, Shintani S, Hirata Y, Suina K, Semba T, Yamasaki J, Umene K, Ishikawa M, Saya H and Nagano O: Synthetic lethality of the ALDH3A1 inhibitor dyclonine and xCT inhibitors in glutathione deficiency-resistant cancer cells. *Oncotarget* 9: 33832-33843, 2018
- 3) Otsuki Y, Yamasaki J, Suina K, Okazaki S, Koike N, Saya H and Nagano O: Vasodilator oxyfedrine inhibits aldehyde metabolism and thereby sensitizes cancer cells to xCT-targeted therapy. *Cancer Sci* 111(1): 127-136, 2020
- 4) Gao X, Sanderson SM, Dai Z, Reid MA, Cooper DE, Lu M, Richie JP Jr, Ciccarella A, Calcagnotto A, Mikhael PG, Mentch SJ, Liu J, Ables G, Kirsch DG, Hsu DS, Nichenametla SN, Locasale JW: Dietary methionine influences therapy in mouse cancer models and alters human metabolism. *Nature* 572(7769):397-401, 2019

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yamasaki Juntaro, Hirata Yuki, Otsuki Yuji, Suina Kentaro, Saito Yoshiyuki, Masuda Kenta, Okazaki Shogo, Ishimoto Takatsugu, Saya Hideyuki, Nagano Osamu	4. 巻 113
2. 論文標題 MEK inhibition suppresses metastatic progression of KRAS mutated gastric cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 916 ~ 925
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15244	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 Sato Ryo, Imamura Kosuke, Semba Takashi, Tomita Yusuke, Saeki Sho, Ikeda Koei, Komohara Yoshihiro, Suzuki Makoto, Sakagami Takuro, Saya Hideyuki, Arima Yoshimi	4. 巻 81
2. 論文標題 TGF Signaling Activated by Cancer-Associated Fibroblasts Determines the Histological Signature of Lung Adenocarcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 4751 ~ 4765
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-20-3941	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 Miyata Kenichi, Saya Hideyuki, Hara Eiji, Takahashi Akiko et al.	4. 巻 118
2. 論文標題 Pericentromeric noncoding RNA changes DNA binding of CTCF and inflammatory gene expression in senescence and cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2025647118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2025647118	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 Minami Noriaki, Tanaka Kazuhiro, Sasayama Takashi, Kohmura Eiji, Saya Hideyuki, Sampetean Oltea	4. 巻 11
2. 論文標題 Lactate Reprograms Energy and Lipid Metabolism in Glucose-Deprived Oxidative Glioma Stem Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 325 ~ 325
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/metabo11050325	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
研究分担者	大槻 雄士  (Otsuki Yuji)  (10875412)	藤田医科大学・医科学研究センター・研究員   (33916)	

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