

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：81303

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19420

研究課題名（和文）高悪性がんにおける「エネルギー産生/NADホメオスタシス」相互依存からの脱却

研究課題名（英文）Escape from energy/NAD-interdependence in malignant cancers

研究代表者

田沼 延公（Tanuma, Nobuhiro）

地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター（研究所）・がん薬物療法研究部・部長

研究者番号：40333645

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）：小細胞肺がん（SCLC）がNAD合成抑制に著しく脆弱な一方、非小細胞肺がん（NSCLC）を含む他がん種はあまり感受性を示さない。このような差異のメカニズムを知るため、主要なNAD合成経路であるサルベージ経路（律速酵素NAMPT）の阻害剤で処理した細胞の代謝形質について解析した。SCLCのエネルギー状態維持が解糖系GAPDHに依存しているのに対し、NSCLCではGAPDH失活条件下でもエネルギー状態を維持できることが明らかになった。そのような違いが、エネルギー産生/NADホメオスタシス相互依存からの脱却に寄与しているものと示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

様々ながんの代謝特性が明らかになるにつれ、一部のがんに特徴的な代謝特性が存在することが分かってきた。本課題で取り組んだ、SCLCのNAD依存もその1つである。このような性質は、ターゲットする手段さえ開発できれば、がんの新たな治療標的となる可能性がある。本研究では、SCLCのNAD依存メカニズムの一端を明らかにした。SCLCに対する新たな代謝ターゲット治療の開発に向けて、その理論根拠を得ることができた。

研究成果の概要（英文）：Small cell lung cancer (SCLC) is significantly vulnerable to inhibition of NAD synthesis, while other cancer types, including non-small cell lung cancer (NSCLC), are less sensitive. To understand the mechanism of such difference, we analyzed the metabolism of cells treated with inhibitors of the NAD salvage pathway where NAMPT is a rate-limiting. We found that SCLC depends on GAPDH in glycolysis to maintain its energy state, whereas NSCLC can maintain those even under GAPDH inactivation. The GAPDH-independent energy homeostasis may contribute to resistance to NAD biosynthesis inhibition in NSCLC.

研究分野：腫瘍学

キーワード：代謝 がん NAD 解糖系

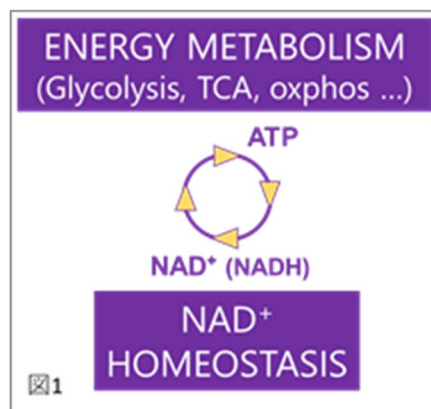
1. 研究開始当初の背景

がんでは取り込んだ炭素源(グルコース・グルタミン)が、同化反応(核酸・脂質等)に活発に利用されている。同化反応に伴い、抗酸化物も多く作られる。では、がんではエネルギー産生の重要度は低いのかと言えば、それは違うと思われる。少なくとも、がんの ATP レベルは、正常組織と比べて格段に高い(菊池, 田沼ら, BBRC '20)。

ともかく、申請者らは、グルコース代謝に関する研究の中、小細胞肺がん(SCLC)の PKM1 依存という現象を発見し、報告した(Cancer Cell '18, Mol Cell Oncol '18, Oncotarget '18)。PKM1 は超高活性型の解糖系酵素で、グルコース代謝を活性化する。その後の研究により、PKM1 が NAD 産生を共に亢進すること、SCLC は NAD 依存がとても強いことも分かった(未発表)。予備的検討の結果、NAD レベル低下により、SCLC ではグルコース代謝が、主に GAPDH の箇所で寸断され、結果、深刻なエネルギー欠乏に陥る可能性が出てきた。中山(九大)らが報告したように、GAPDH は解糖系酵素の中で最も量が多く(Nat Methods '17) その活性に NAD を必要とする。このように、中心炭素代謝を通じたエネルギー産生に、NAD は不可欠と考えられる。教科書的には、解糖系も TCA も、NAD/NADH なしにはすすまない。反対に、ATP がないと、細胞は NAD を作ることができない。NAD 合成系は3つ(サルベージ/de novo/PH 経路)があるが、各経路の中身(NAD のつくりかた)は似ていて、ATP のアデニル基を前駆体に転ずる点で共通している。つまり、ATP は NAD 合成に不可欠な基質である。

2. 研究の目的

前項にて述べたように、エネルギー産生系と NAD 合成系は相互依存の関係にあると考えれば、上記 NAD-addicted がんで見られる現象は、極めて理に適っている。ところが、高悪性がんでは何故かそうならず、NAD 低下に耐性である。本研究では、このような「エネルギー産生/NAD ホメオスタシス」相互依存からの脱却を、高悪性がんにおける新たな「代謝リプログラム」と捉え、その分子メカニズムを解明する。



3. 研究の方法

ヒト SCLC 細胞株および NSCLC 細胞株を用い、種々の代謝解析を行った。メタボローム解析では、4種の SCLC 株を FK866 にて 48 時間処理した。この条件下では、細胞の NAD レベルがほぼ 0 まで低下することを確認している。統計解析では、4 細胞株の結果を独立した replicate として扱い volcano プロット解析等に供した。トレーサー解析も同様に行った。

4. 研究成果

SCLC が NAD 合成抑制に著しく脆弱な一方、NSCLC を含む他がん種はあまり感受性を示さない。このような差異のメカニズムを知るため、主要な NAD 合成経路であるサルベージ経路(律速酵素 NAMPT)の阻害剤で処理した細胞のメタボローム解析を行った。その結果、NAMPT 阻害剤(FK866)処理によって、高エネルギー型ヌクレオチドが減少する一方、解糖系上流の代謝物が蓄積することが分かった(図2左上)。細胞の NAD 激減していることと合わせ、NAD 枯渇が GAPDH の不活性

化、およびプリン代謝不全を引き起こしていることが考えられた。13C グルコースを用いたトレーサー解析を行ったところ、FK866 処理細胞では、グルコース代謝が GAPDH の箇所で障害されていることが確認された（図 2 左下および右）

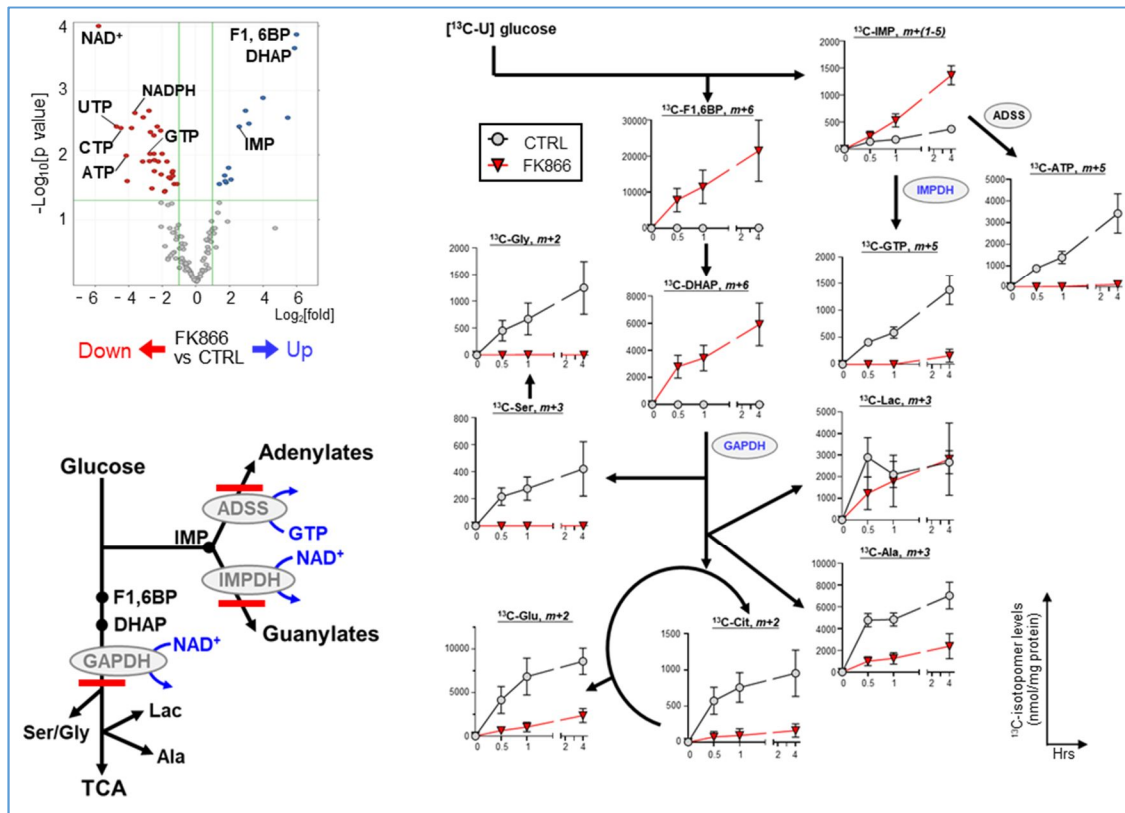


図 2 NAD サルベージ阻害 SCLC 細胞の代謝解析

上記 GAPDH 不活化が、単独でエネルギー枯渇を誘導し得るか否かを検討した。GAPDH 阻害剤であるコニング酸 (Koningic acid: KA) 処理した SCLC 細胞では、細胞の ATP レベルが著しく減少した（図 3 左）。調べたところ、意外なことに、この ATP 減少はグルコース依存的であることが分かった。このグルコース依存的な ATP 減少は、解糖系の構造から説明できると思われる（図 3 中）。すなわち、解糖系のトータルの ATP 収支は + 2 であるが、プラスの寄与は GAPDH 下流の反応によるもので、解糖系前半の反応は、むしろマイナスに寄与すると考えられる。グルコース代謝が GAPDH のステップで障害された場合、解糖系は ATP 収支に対しむしろマイナスにはたらくものと推測できる。重要なことに、KA による ATP 減少は、NSCLC ではほとんど起きないことが分かった（図 3 右）。まとめると、SCLC のエネルギー維持が GAPDH 依存的なのに対し、NSCLC は、GAPDH 不活化条件下でもエネルギー状態を維持できることが明らかになった。そのような違いが、「エネルギー産生/NAD ホメオスタシス」相互依存からの脱却に寄与しているものと示唆された。

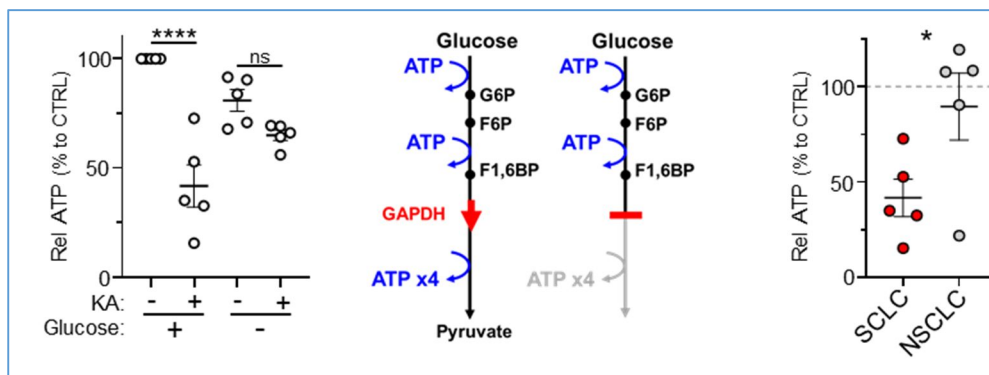


図 3 GAPDH 阻害実験

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 Fukui Katsuya, Nomura Miyuki, Kishimoto Kazuhiro, Tanuma Nobuhiro, Kurosawa Koreyuki, Kanazawa Kosuke, Kato Hiroyuki, Sato Tomoki, Miura Shinji, Miura Koh, Sato Ikuro, Tsuji Hiroyuki, Yamashita Yoji, Tamai Keiichi, Watanabe Toshio, Yasuda Jun, Tanaka Takuji, Satoh Kennichi, Furukawa Toru, Jingu Keiichi, Shima Hiroshi	4. 巻 113(5)
2. 論文標題 PP6 deficiency in mice with KRAS mutation and Trp53 loss promotes early death by PDAC with cachexia like features	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 1613-1624
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15315	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 Kishimoto K, Kanazawa K, Nomura M, Tanaka T, Shigemoto-Kuroda T, Fukui K, Miura K, Kurosawa K, Kawai M, Kato H, Terasaki K, Sakamoto Y, Yamashita Y, Sato I, Tanuma N, Tamai K, Kitabayashi I, Matsuura K, Watanabe T, Yasuda J, Tsuji H, Shima H	4. 巻 10(13)
2. 論文標題 Ppp6c deficiency accelerates K-ras(G12D)-induced tongue carcinogenesis.ppp6c deficiency accelerates K-ras(G12D)-induced tongue carcinogenesis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Med.	6. 最初と最後の頁 4451-4464
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cam4.3962	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13件（うち招待講演 4件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Tanuma N
2. 発表標題 Targeting NAD metabolism in cancer.
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術集会 JCA-AACR Joint Symposia “Cancer Metabolism”（横浜）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tanuma N
2. 発表標題 Metabolism-targeting therapy and precision nutrition in cancer
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術集会 モーニングレクチャー（横浜）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Katsuya Fukui, Miyuki Nomura, Koh Miura, Keiichi Tamai, Jun Yasuda, Toshio Watanabe, Toru Furukawa, Takuji Tanaka, Kennichi Satoh, Nobuhiro Tanuma, Hiroshi Shima
2. 発表標題 PP6 deficiency in mice with pancreatic K-ras mutation and Trp53 loss promotes early death by PDAC formation with cachexia-like features
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤 信、望月 麻衣、山口 壹範、玉井 恵一、湊 敬道、田沼 延公、島 礼、安田純
2. 発表標題 がん遺伝子パネル検査に対するホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍標本の頑健性
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福井勝哉、野村美有樹、田沼延公、渡邊利雄、島礼
2. 発表標題 K-ras変異陽性でTrp53欠損マウス膵細胞では、Ppp6c欠損により早期に悪液質を伴う浸潤性膵管癌が発生する
3. 学会等名 第10回日本プロテインホスファターゼ研究会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田沼延公
2. 発表標題 食事中的NAD前駆体が、NAD標的治療の効果を限定するメカニズム
3. 学会等名 第8回 がん代謝研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nobuhiro Tanuma, Shuko Miya-hara, Miyuki Nomura, Tomoyoshi Soga, Shusuke Akamatsu, Mami Morita, Yoji Yamashita, Hiroshi Shima, Hidekazu Yamada, Taku Sato,
2. 発表標題 NAD dependence of small-cell lung and prostate cancers
3. 学会等名 第81回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miyuki Nomura, Tomoyoshi Soga, Shusuke Akamatsu, Mami Morita, Yoji Yamashita, Hiroshi Shima, Hidekazu Yamada, Taku Sato, Nobuhiro Tanuma
2. 発表標題 Restriction of the dietary niacin enhances NAD-targeting therapy in mice
3. 学会等名 第81回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大内麻衣、宮原周子、野村美有樹、坂本良美、伊藤しげみ、盛田麻美、佐藤卓、菊池直彦、田沼延公
2. 発表標題 NAD biogenesis is a targetable vulnerability of small-cell lung and prostate cancers
3. 学会等名 第95回 日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野村美有樹、大内麻衣、伊藤しげみ、盛田麻美、菊池直彦、佐藤卓、中川崇、田沼延公
2. 発表標題 Systemic niacin metabolism that limits efficacy of NAD-targeted therapy in cancer
3. 学会等名 第95回 日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田沼延公
2. 発表標題 食事介入を活用したNAD高依存がんに対する代謝標的治療
3. 学会等名 第45回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nobuhiro Tanuma.
2. 発表標題 Targeting NAD biogenesis in lung and prostate neuroendocrine carcinomas.
3. 学会等名 第12回 日米癌合同会議（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田沼延公
2. 発表標題 がん治療に食事が及ぼす効果
3. 学会等名 第26回日本病態栄養学会（招待講演）
4. 発表年 2023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
---------	---------