

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19502

研究課題名（和文）造血器腫瘍の治療および予防に資する代謝物探索システムの構築

研究課題名（英文）Development of new preventive or therapeutic strategies for hematopoietic neoplasms based on metabolic analysis.

研究代表者

平尾 敦（Hirao, Atsushi）

金沢大学・がん進展制御研究所・教授

研究者番号：90343350

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）：本研究では、メタボロミクスによる代謝物の網羅的検索、疾患モデルにおける代謝物の機能解析により、造血器腫瘍の治療・予防に貢献する代謝物探索システムの確立を目指した。解析の結果、長期間の高脂肪食により骨髄増殖性疾患が増悪すること、高脂肪食により変動する代謝物が病態の抑制に寄与することを見いだした。本研究の成果をもとにさらに開発を進めることで、将来的には疾患バイオマーカーの同定や治療薬の開発につながる事が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

昨今、様々な病態解明を目指して、ゲノミクス、プロテオミクス、エピジェネティクス解析など生体サンプルの網羅的解析が進んでいる。今回、我々は最新の質量分析法によるデータ収集、インフォマティクス解析を実施し、重要な代謝物を同定するシステムを構築することができた。本研究は、代謝物という観点から造血器疾患の病態の解明に挑む新しいアプローチとして、多くの疾患研究の次世代型プロトタイプになり得る。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to establish a metabolite discovery system that contributes to the treatment and prevention of hematopoietic tumors by (1) conducting a comprehensive search for metabolites by metabolomics and (2) analyzing the functions of metabolites in disease models. As a result of our analysis, we observed that myeloproliferative disease was accelerated by a long-term high-fat diet. Metabolomic analysis revealed that many metabolites are altered by a high-fat diet, and that a metabolite had functions that inhibited the pathophysiology of the disease. Further development based on the findings of this study may lead to the identification of disease biomarkers and the development of therapeutic agents in the future.

研究分野：腫瘍学

キーワード：代謝

1. 研究開始当初の背景

アミノ酸,糖,脂質などの栄養素を感知するシグナルは,エネルギーの産生と消費のバランス調節を介して,細胞の生存や増殖の制御に深く関与する。食餌として取り入れられた栄養素は体内でより小さな分子に変換され,代謝という生命維持に必要な一連の化学反応に利用される。食物や燃料を分解してエネルギーを得る反応を異化反応といい,より小さな分子から大きな分子を合成する反応を同化反応という。同化反応は,異化反応によって生じたエネルギーを消費するため,生命維持には両反応の協調的な制御が重要である。最近では,正常から悪性形質獲得のためのボトルネックとしての代謝経路が特定されるなど,腫瘍制御の重要な因子として注目されている。さらに,腸内細菌叢の変化をはじめとした全身的な代謝状態も,炎症や免疫反応を介してがんの発生や抑制に深く関与するなど,「代謝とがん」について世界中で精力的に研究が展開されている。

近年のがん代謝研究で,大きな転機となったのは TCA 経路に位置する IDH1/2 の変異の発見である。IDH 変異により生じるメタボライト 2-hydroxyglutarate (2HG)が, α -ketoglutarate 依存的酵素群の機能を阻害することによって発がんの原因となること, IDH 阻害薬は,白血病幹細胞・脳腫瘍幹細胞の分化誘導を促し治療効果を発揮することである。この事実は,代謝物が,脇役ではなく, Oncogenic driving force としての主役に躍り出たことを意味する。研究代表者は, RAS-MAPK 経路の抑制因子である SPRED1 欠損マウスを用いて,高脂肪食による栄養環境変化は,造血幹細胞の自己複製調節バランスの破綻を導き,造血器腫瘍の原因となることを見いだした (Tadokoro Y., Cell Stem Cell 2018)。さらに,高脂肪食が引き起こす造血幹細胞の自己複製能の異常は,腸内細菌叢の変化が原因であることを示した。これらの知見は,腸内細菌と造血器腫瘍の発症との直接的因果関係を示した世界初の知見と言える。その直後には,他のグループより,骨髄異形成症候群の発症において腸内細菌の関与が報告されるなど,血液疾患における腸内細菌の重要性が認知されるようになった。腸内細菌叢由来の代謝物の中には,様々な生物学的活性を持つものが含まれることが知られていることから,生体内に存在する代謝物が,造血器腫瘍の発症や悪性化に深く関与しているのではないかという仮説を持った。

2. 研究の目的

本研究では,造血器腫瘍患者および疾患モデルを研究対象とし,メタボロミクスによる代謝物の網羅的探索,代謝物の機能解析を進め,「造血器腫瘍の治療および予防に資する代謝物探索システムの構築」を目指した。特に,本研究では,観測対象を特定しないアンターゲット・メタボロミクスという新しい手法を用いて,幅広く有用な代謝物を探索し,代謝物による異常ニッチの形成と造血器腫瘍という新たな研究領域への展開を目標とした。

3. 研究の方法

(1) 造血器腫瘍モデルを用いた病態解析

骨髄性白血病モデルとして, BCR-ABL1Tg マウスを始め, RAS-MAPK 経路の抑制因子,加えて, FLT3-ITD, 変異型 IDH1, 変異型 DNMT3a, 変異型 NPM1 遺伝子導入幹細胞移植法を用いて,各種造血器腫瘍を作成し,食餌変化による病態への影響を解析した。

(2) メタボロミクス代謝物解析

解析する代謝物のある程度絞り込み,正確かつ定量的に測定する方法をターゲットメタボロームとともに,アンターゲット・メタボロミクスによる未同定代謝物の網羅的解析に取り組んだ。最初にサンプル間でのシグナル強度が変動するイオンピークを探索し,その後,構造を特定する技術であり,ノンバイアスに代謝物を探索することを可能としている。本研究では,これまでの準備状況を踏まえ,食餌の変化により変動する代謝物の解析を実施した。

(3) 代謝物投与による病態解析

メタボローム解析により選択した代謝物を,造血器腫瘍モデルに投与することで,変動した代謝物の病態への影響を評価した。体重及び末梢血中の血球数の変動をモニターした。さらに,骨髄や脾臓中の血液分画を解析し,造血器腫瘍の病態を解析した。

4. 研究成果

(1) 造血器腫瘍モデルを用いた病態解析

まず, BCR-ABL モデルでは,高脂肪食による顕著な影響が確認できない一方, RAS-MAPK 経路の変異マウスにおいては,長期的な高脂肪食負荷にて,生存率が低下することを見いだした。詳細に解析を進めた結果,高脂肪食により,多能性造血前駆細胞 (MPP) の増加, ERK 活性化を誘導し,造血幹・前駆細胞レベルでの異常が生じ,病態を促進することが示された。また顕著な脾臓の肥大化も認められ,骨髄増殖性疾患 (MPN) 病態の増悪が観察された。一方で,他の遺伝子変異と高脂肪食との明確な関連は認められなかった。これらの結果は, Spred1 欠損マウスに対する高脂肪食負荷の結果と一致した。このことから,病態として RAS-MAPK 経路の活性化と密接に

かかわることが示唆された。そこで現在、さらに RAS-MAPK 経路に関わる病態モデルの解析を進めている。特に、ニッチ環境としての炎症性サイトカインの病態への関与を中心に研究を展開しており、本事業をきっかけに更なる研究立案の基礎となるなど、貴重な知見が得られた。

(2) メタボロミクスを用いた代謝物解析

慶應大学先端生命科学研究所曾我朋義教授と共同で、CE-MS によるターゲットメタボロミクス解析を実施し、約 180 化合物を検出し、その中で約 30 化合物にて高脂肪食による変化を認めた。その中には、二次胆汁酸である Deoxycholic acid (DCA) の顕著な上昇を認め、既報と一致するデータであることを確認した。さらに、関連した代謝物を個別に測定し、有意に低下する化合物を複数同定した。一方、観測代謝物対象を特定せず、変動のあるイオンピークから化合物を同定するアンターゲットメタボロームにも取り組んだ。その結果、Public データベースを駆使することで高脂肪食にて顕著に低下する化合物の同定に成功した。この化合物は、高脂肪食負荷後、速やかに血中濃度が低下することが判明した。さらに、間欠的飢餓においては上昇することを認め、食餌内容にて大きく影響を受ける代謝物であることが判明した。これらの化合物の多くは、これまでに興味深い生物学的活性を有することが知られていることから、現在、それらの化合物投与し、その血中濃度の測定を行うなど、今後の研究の展開を支持する知見を得ることができた。

(3) 代謝物投与による病態解析

上記化合物について、正常マウスへの投与や白血病モデルマウスでの投与を行い、造血に対する効果を解析した。化合物によっては、炎症を惹起し、骨髓球系の上昇を認めたが、長期的に投与しても顕著な造血異常を認めないものも見いだした。その中の化合物を RAS-MAPK 経路変異マウスに長期間投与したところ、脾臓の重量の低下を認めた。このことから、高脂肪食による骨髓増殖性疾患 (MPN) 病態の増悪は、部分的に本化合物を投与することで予防できる可能性があると考えられた。一方、末梢血の状態や生存に関しては、明確な効果は認められなかったため、さらに実験条件を検討して研究を進めることとした。

(考察)

本研究では、造血器腫瘍マウスモデルを用い、食餌の影響、特に高脂肪食による病態変化に着目した。メタボローム技術を用い変動代謝物の同定と機能評価を実施し、一部、機能性を発揮する代謝物の同定に至った。一方で、本研究で同定した代謝物以外にも病態に関与する代謝物が多数存在することは明確であり、今後更なる代謝物解析が必要であると考えられる。この現象におけるメカニズム解明のためには、代謝物の標的分子の同定が必要である。さらに、ヒト検体での検証も必須であると考えられる。昨今、様々な病態解明を目指して、ゲノミクス、プロテオミクス、エピジェネティクス解析など生体サンプルの網羅的解析が進んでいる。同様に、代謝物を対象としたメタボロミクス解析も進められているが、メタボロミクスにおいては解析対象物質が限られていることが、大きなボトルネックとして研究の障害になっている。今回、最新の質量分析法によるデータ収集、インフォマティクス解析を実施し、重要な代謝物を同定するシステムを構築することができた。本研究は、代謝物という観点から造血器疾患の病態の解明に挑む新しいアプローチとして、多くの疾患研究の次世代型プロトタイプになり得る。今後、本研究の知見を基に発展させることで、将来的に疾患バイオマーカーの同定や治療薬開発につながると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Tanabe Mikoto, Hosokawa Kohei, Nguyen Mai Anh Thi, Nakagawa Noriharu, Maruyama Kana, Tsuji Noriaki, Urushihara Ryota, Espinoza Luis, Elbadry Mahmoud I., Mohiuddin Md, Katagiri Takamasa, Ono Masanori, Fujiwara Hiroshi, Chonabayashi Kazuhisa, Yoshida Yoshinori, Yamazaki Hirohito, Hirao Atsushi, Nakao Shinji | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 The GPI-anchored protein CD109 protects hematopoietic progenitor cells from undergoing erythroid differentiation induced by TGF- | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Leukemia | 6. 最初と最後の頁 847 ~ 855 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41375-021-01463-3 | 査読の有無 有 |
| 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 Tadokoro Yuko, Hirao Atsushi | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 The Role of Nutrients in Maintaining Hematopoietic Stem Cells and Healthy Hematopoiesis for Life | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences | 6. 最初と最後の頁 1574 ~ 1574 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23031574 | 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 Hiraiwa Manami, Fukasawa Kazuya, Iezaki Takashi, Sabit Hemragul, Horie Tetsuhiro, Tokumura Kazuya, Iwahashi Sayuki, Murata Misato, Kobayashi Masaki, Suzuki Akane, Park Gyujin, Kaneda Katsuyuki, Todo Tomoki, Hirao Atsushi, Nakada Mitsutoshi, Hinoi Eiichi | 4. 巻 5 |
| 2. 論文標題 SMURF2 phosphorylation at Thr249 modifies glioma stemness and tumorigenicity by regulating TGF-receptor stability | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Communications Biology | 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) 10.1038/s42003-021-02950-0 | 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 Fukasawa K, Kadota T, Horie T, Tokumura Ka, Terada R, Kitaguchi Y, Park G, Ochiai S, Iwahashi S, Okayama Y, Hiraiwa M, Yamada T, Iezaki T, Kaneda K, Yamamoto M, Kitao T, Shirahase H, Hazawa M, Wong R W, Todo T, Hirao A, Hinoi E | 4. 巻 40 |
| 2. 論文標題 CDK8 maintains stemness and tumorigenicity of glioma stem cells by regulating the c-MYC pathway | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Oncogene | 6. 最初と最後の頁 2803 ~ 2815 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-021-01745-1 | 査読の有無 有 |
| 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 Jing Yongwei, Kobayashi Masahiko, Vu Ha Thi, Kasahara Atsuko, Chen Xi, Pham Loc Thi, Kurayoshi Kenta, Tadokoro Yuko, Ueno Masaya, Todo Tomoki, Nakada Mitsutoshi, Hirao Atsushi | 4. 巻 113 |
| 2. 論文標題 Therapeutic advantage of targeting lysosomal membrane integrity supported by lysophagy in malignant glioma | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Cancer Science | 6. 最初と最後の頁 2716 ~ 2726 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15451 | 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 Pham Loc Thi, Peng Hui, Ueno Masaya, Kohno Susumu, Kasada Atsuko, Hosomichi Kazuyoshi, Sato Takehiro, Kurayoshi Kenta, Kobayashi Masahiko, Tadokoro Yuko, Kasahara Atsuko, Shoulkamy Mahmoud I., Xiao Bo, Worley Paul F., Takahashi Chiaki, Tajima Atsushi, Hirao Atsushi | 4. 巻 621 |
| 2. 論文標題 RHEB is a potential therapeutic target in T cell acute lymphoblastic leukemia | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications | 6. 最初と最後の頁 74 ~ 79 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.06.089 | 査読の有無 有 |
| 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 該当する |

| | |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名 Harada Yosuke, Sujino Tomohisa, Miyamoto Kentaro, Nomura Ena, Yoshimatsu Yusuke, Tanemoto Shun, Umeda Satoko, Ono Keiko, Mikami Yohei, Nakamoto Nobuhiro, Takabayashi Kaoru, Hosoe Naoki, Ogata Haruhiko, Ikenoue Tuneo, Hirao Atsushi, Kubota Yoshiaki, Kanai Takanori | 4. 巻 25 |
| 2. 論文標題 Intracellular metabolic adaptation of intraepithelial CD4+CD8 + T lymphocytes | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 iScience | 6. 最初と最後の頁 104021 ~ 104021 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.104021 | 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5件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 2件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 Atsushi Hirao |
| 2. 発表標題 Cell fate decision by metabolic regulation in hematopoietic stem cell homeostasis and leukemogenesis. |
| 3. 学会等名 The 39th Sapporo International Cancer Symposium (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Atsushi Hirao |
| 2. 発表標題 Cell fate determination mediated by nutrient-derived metabolites in tumor development and malignant progression. |
| 3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|------------------------------|
| 1. 発表者名 平尾敦 |
| 2. 発表標題 栄養代謝による細胞運命決定とがん |
| 3. 学会等名 第94回日本生化学大会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Atsushi Hirao |
| 2. 発表標題 Cell fate determination mediated by nutrient-derived metabolites in malignant progression. |
| 3. 学会等名 2023 Normal/Malignant Hematopoiesis and Novel Therapies for Hematologic Malignancies Symposium（招待講演）（国際学会） |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 平尾敦 |
| 2. 発表標題 栄養および免疫制御を介した造血幹細胞の発がん・老化 |
| 3. 学会等名 第8回がん代謝研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

| | | |
|-------------------------------|-------------------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称 腫瘍治療用医薬組成物 | 発明者 1.平尾敦, Jing Y, 小林昌彦, 中田光俊 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、2021-151703 | 出願年 2021年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計0件

〔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 | 加藤 将夫 (Kato Yukio) (30251440) | 金沢大学・薬学系・教授 (13301) | |

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 |
|---------|---------|