

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：24601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2021

課題番号：21K20808

研究課題名（和文）ミトコンドリア障害に起因する抗がん剤抵抗性の獲得機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of acquisition of anticancer drug resistance caused by mitochondrial disorders

研究代表者

森 汐莉（Mori, Shiori）

奈良県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：00907032

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,200,000円

研究成果の概要（和文）：抗がん剤抵抗性はがん治療における重要な障壁のひとつで、ミトコンドリアの抗がん剤抵抗性への関与が注目される。本研究では、ミトコンドリアDNAに障害を有する癌細胞を樹立し、その性質を解析したところ、部分的な障害を有する部分 0細胞では増殖能、酸素消費量および幹細胞性低下やROS産生や抗がん剤耐性の増大とともに炎症促進作用が亢進しており悪液質を惹起した。がん細胞は持続的な抗がん剤処理に伴って部分 0形質を獲得したことから、抗がん剤耐性獲得の新たな機序として注目される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化学療法によって誘導されるミトコンドリア障害が抗がん剤抵抗性を誘導することが明らかになった。抗がん剤によるミトコンドリアDNAの障害が抗がん剤耐性をもたらすことは、ほとんどの抗がん剤において一般的に生じ得る抗がん剤耐性獲得機序であり、がん治療において重要な知見と見なされる。今後この新たな耐性抑制の標的を抽出し治療戦略に結びつけることが出来れば、がん化学療法における大きな進展となり、癌患者の予後改善をもたらすと期待される。

研究成果の概要（英文）：Anticancer drug resistance is one of the key barriers in cancer therapy. Recently involvement of mitochondria in anticancer drug resistance has been focused. In this study, we established cancer cells with mitochondrial DNA damage to analyze their characteristics. We found that cancer cells partially damaged in mitochondrial DNA (partial 0 cells) showed increased pro-inflammatory effects and induced cachexia, along with decreased proliferative capacity, oxygen consumption and stemness, and increased ROS production. They also showed anticancer drug resistance. Since cancer cells acquired partial 0 phenotype upon continuous treatment with anticancer drugs, this is a new mechanism for the acquisition of anticancer drug resistance.

研究分野：実験病理

キーワード：抗がん剤耐性 ミトコンドリア 0形質 幹細胞性 ROS 悪液質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗がん剤抵抗性はがん治療における重要な障壁のひとつで、この機序を解明し抵抗性獲得を予防あるいは解除することは、がん治療に大きな改善をもたらすと期待される。Zhu らは、抗癌剤抵抗性の獲得機序について、抗癌剤の細胞内蓄積阻害、DNA 修復機序の亢進、アポトーシスの阻害、上皮間葉移行、シャペロン、オートファジー、DNA メチル化、マイクロ RNA 発現などストレス反応性の変化を挙げているが (Zhu, Drug Des Devel Ther. 2016)、最近、ミトコンドリアにおける脂質代謝 (Kopecka J, Drug Resist Updat. 2020) やミトコンドリア-幹細胞性関連 (Skoda J, Pharmacol Res. 2019) が抗がん剤抵抗性に関連することが知られ、ミトコンドリアの抗がん剤抵抗性への関与に注目が集まっている (Shen L, Exp Cell Res. 2021)。

近年、種々の抗がん剤によりミトコンドリア DNA に障害がもたらされることが報告されている。これには、シスプラチン (Kleih M, Cell Death Dis. 2019)、ドキシソルピシン (Yin J, Toxicol In Vitro. 2018)、5-FU (Bergandi L, Front Pharmacol. 2018) などの抗がん剤が含まれている。さらに、化学療法後のミトコンドリア DNA 8OHdG の低レベル? とコピー数減少などのミトコンドリア DNA 障害は種々の癌の進展に相関している (Lin CH, Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2008; Maybury BD, Anticancer Res. 2013)。一方でミトコンドリア DNA を標的とする抗がん剤は癌細胞を効果的に障害する (Peng YB, Chem Med Chem. 2017)。このような、抗がん剤によるミトコンドリア DNA 障害と惹起する形質の齟齬に対して、申請者はミトコンドリア DNA 障害の程度の差異が関与すると考えた。

2. 研究の目的

化学療法によって誘導されるミトコンドリア障害が抗がん剤抵抗性を誘導する機序を解明することにより、新たな耐性抑制の標的を抽出し治療戦略に結びつけることが本研究の目的である。抗がん剤によるミトコンドリア DNA の障害が抗がん剤耐性をもたらすことは、ほとんどの抗がん剤において一般的に生じ得る抗がん剤耐性獲得機序であり、高い新規性と独自性を示している。この機序を解明し抗がん剤耐性獲得を阻害することが出来れば、がん化学療法における大きな進展となり、癌患者の予後改善をもたらすと期待される。

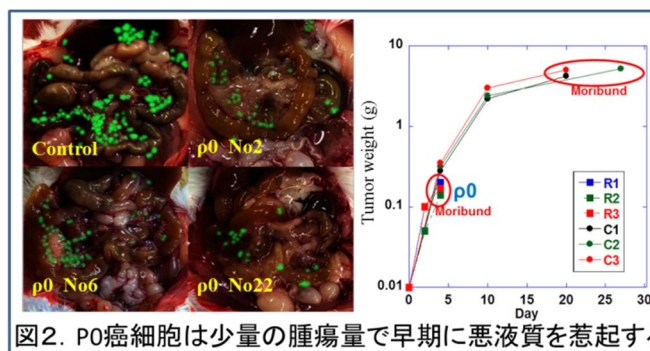
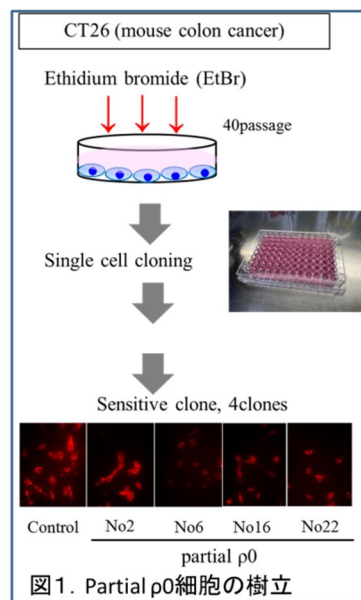
3. 研究の方法

0 細胞、部分 0 細胞および親株の代謝スペクトラムの相違を比較検討するため、シーホース・フラックス解析により酸化リン酸化と解糖系の変化を検討する。薬剤 (5-FU およびドキシソルピシン) の有無による変化も併せて検討する。申請者の先行研究では、MIA-PaCa-2 の部分 0 細胞はゲムシタピン処理によりエネルギー代謝が酸化リン酸化から解糖系にリプログラミングされ ROS 産生が低下し細胞死が抑制されていた (谷里奈, 森汐莉, 日本病理学会, 2019)。このため、酸化ストレス産生の変化についても、ミトコンドリア由来のスーパーオキシドと過酸化水素、細胞全体における過酸化脂質の生成を検討する。また、幹細胞性を、スフェアアッセイ、シングルセル・サバイバルアッセイ、幹細胞関連遺伝子発現により比較検討する。

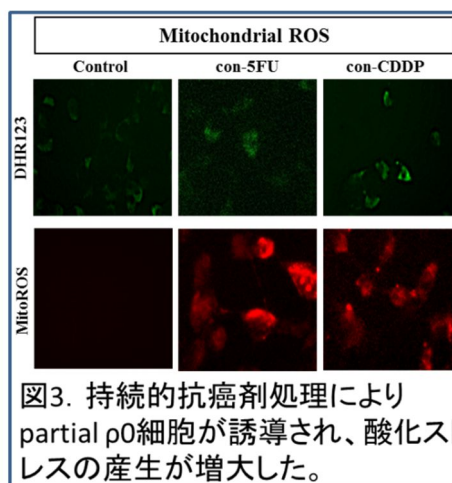
4. 研究成果

0 細胞とはミトコンドリア DNA (mtDNA) 障害により、コードされた電子伝達系が抑制された細胞である。0 細胞を樹立するためマウス CT26 細胞に常法である EtBr 持続投与を行ったところ、mtDNA に変異はみられないが、増殖能、酸素消費量および幹細胞性低下や ROS 産生増大が確認された。以上より mtDNA を保持しているがミトコンドリア機能障害がみられた細胞株を partial 0 細胞 (p 0) と定義した (図 1)。またこの p 0 細胞を同系のマウスに腹腔内接種したところ、

親株と比べて腫瘍量が少ないにも関わらず炎症メディエーターの発現亢進により著しい悪液質



が生じた(図2)。さらに p 0 の腫瘍における意義を明らかにするために、抗がん剤による p 0 の誘導を検討した。CT26 に CDDP および 5-FU の持続処理を行ったところ、mtDNA の変異はみられなかったものの、ミトコンドリア膜電位の低下および幹細胞性低下と ROS 産生増大が生じた(図3)。また炎症メディエーターの CXCL3 および IL-8 の遺伝子発現増加がみられた。以上より、がん細胞は持続的な抗がん剤処理に伴って p 0 形質を獲得し、宿主に炎症を誘導することが示唆された。さらに、0 細胞では薬剤耐性が著しく減弱したのに対し、partial 0 細胞では薬剤耐性が認められ、その原因として幹細胞性の亢進が示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Takuya Mori, Akira Kido, Isao Kawahara, Shota Nuaga, Yoshihiro Miyagawa, Kei Goto, Shiori Mori, Shingo Kishi, Kiyomu Fujii, Rina Fujiwara-Tani, Hiroki Kuniyasu	4. 巻 5
2. 論文標題 Nutritional intervention for cancer sarcopenia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Musculoskeletal Medicine	6. 最初と最後の頁 001 ~ 004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.17352/amm.000024	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 Kishi Shingo, Nishiguchi Yukiko, Honoki Kanya, Mori Shiori, Fujiwara-Tani Rina, Sasaki Takamitsu, Fujii Kiyomu, Kawahara Isao, Goto Kei, Nakashima Chie, Kido Akira, Tanaka Yasuhito, Luo Yi, Kuniyasu Hiroki	4. 巻 22
2. 論文標題 Role of Glycated High Mobility Group Box-1 in Gastric Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5185 ~ 5185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22105185	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 該当する

1. 著者名 Mori Shiori, Fujiwara-Tani Rina, Kishi Shingo, Sasaki Takamitsu, Ohmori Hitoshi, Goto Kei, Nakashima Chie, Nishiguchi Yukiko, Kawahara Isao, Luo Yi, Kuniyasu Hiroki	4. 巻 22
2. 論文標題 Enhancement of Anti-Tumoral Immunity by -Casomorphin-7 Inhibits Cancer Development and Metastasis of Colorectal Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8232 ~ 8232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22158232	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 該当する

1. 著者名 Mori Takuya, Goto Kei, Kawahara Isao, Nukaga Shota, Wakatsuki Yuma, Mori Shiori, Fujiwara-Tani Rina, Kishi Shingo, Sasaki Takamitsu, Ohmori Hitoshi, Kido Akira, Honoki Kanya, Tanaka Yasuhito, Kuniyasu Hiroki	4. 巻 1
2. 論文標題 Effect of Vitamin B2 and Vitamin E on Cancer-Related Sarcopenia in a Mouse Cachexia Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BioMed	6. 最初と最後の頁 50 ~ 62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biomed1010004	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 Fujiwara-Tani Rina, Okamoto Ayaka, Katsuragawa Hiroyuki, Ohmori Hitoshi, Fujii Kiyomu, Mori Shiori, Kishi Shingo, Sasaki Takamitsu, Nakashima Chie, Kawahara Isao, Hojo Yudai, Nishiguchi Yukiko, Mori Takuya, Mizumoto Takeshi, Nagai Kenta, Luo Yi, Kuniyasu Hiroki	4. 巻 22
2. 論文標題 BRAF Mutation Is Associated with Hyperplastic Polyp-Associated Gastric Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 12724 ~ 12724
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms222312724	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 該当する

1. 著者名 Ogata Ruiko, Mori Shiori, Kishi Shingo, Sasaki Rika, Iwata Naoya, Ohmori Hitoshi, Sasaki Takamitsu, Nishiguchi Yukiko, Nakashima Chie, Goto Kei, Kawahara Isao, Fujiwara-Tani Rina, Kuniyasu Hiroki	4. 巻 23
2. 論文標題 Linoleic Acid Upregulates Microrna-494 to Induce Quiescence in Colorectal Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 225 ~ 225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23010225	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 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Kishi S, Honoki K, Mori S, Kuniyasu H, Tanaka Y
2. 発表標題 Dual inhibition of direct metabolic features targets osteosarcoma stem cells.
3. 学会等名 APMSTS - Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森 汐莉、岸 真五、谷 里奈、大森 育、藤井 澄、森 拓也、川原 勲、國安弘基
2. 発表標題 腫瘍における持続的抗がん剤処理はpartial 0細胞類似形質をもたらし炎症を惹起する
3. 学会等名 第110回日本病理学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森 汐莉、岸 真五、朴木寛也、谷 里奈、塚本真治、藤井宏真、城戸 颯、國安弘基、田中康仁
2. 発表標題 骨腫瘍におけるSアデノシルメチオニンの抗腫瘍効果の検討
3. 学会等名 第54回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会
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		
中国	南通大学		