

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：81303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25430163

研究課題名(和文) ワールブルグ効果解消によるがん治療開発へ-がん組織バンクを活用して

研究課題名(英文) Analysis of human samples for developing a novel therapy that target the Warburg effect

研究代表者

佐藤 郁郎 (SATO, IKURO)

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)・ティッシュバンクセンター・センター長

研究者番号：50225918

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：がんにおける好気代謝の抑制は“ワールブルグ効果”と呼ばれ広く知られているが、不明の点も多く残っている。ワールブルグ効果の実態や分子機構解明を第一の目標に、臨床検定を用いた解析に取り組んだ。超新鮮手術検体(肺がん)を新たに収集し、それら腫瘍組織および隣接する非がん組織における代謝産物の一斉解析(メタボローム解析)を行い、データを得た。我々の結果は、ワールブルグ効果をヒト生体内でとらえた初めてのものになる可能性がある。今後、メタボローム解析データについて、より詳細なデータマイニングやクラスター解析を行う。

研究成果の概要(英文)：It is widely known that cancer cells have lower rates of TCA cycle and oxidative phosphorylation, but less is known about its significance. Here we analyzed human samples for metabolites levels of tumor and corresponding non-cancerous tissues by CE-MS. Lung tumor and normal lung tissue showed differential responses to ischemia in terms of their lactate levels. Our results may be a first report observing the Warburg effect of human patients.

研究分野：腫瘍学

キーワード：がん 代謝 ワールブルグ効果

1. 研究開始当初の背景

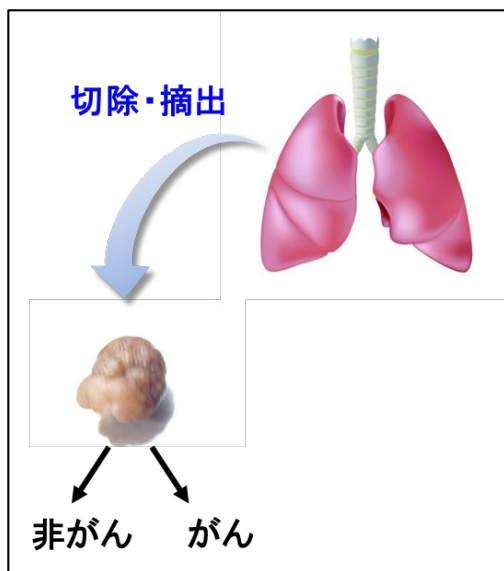
がんにおける好気代謝の抑制は“ワールブルグ効果”と呼ばれ広く知られているが、不明の点も多く残っている。

2. 研究の目的

ワールブルグ効果と密接に関連する解糖系酵素ピルビン酸キナーゼ M (Pkm) のスプライシング制御の意義や分子機構解明を第一の目標に、臨床検定を用いた解析に取り組んだ。

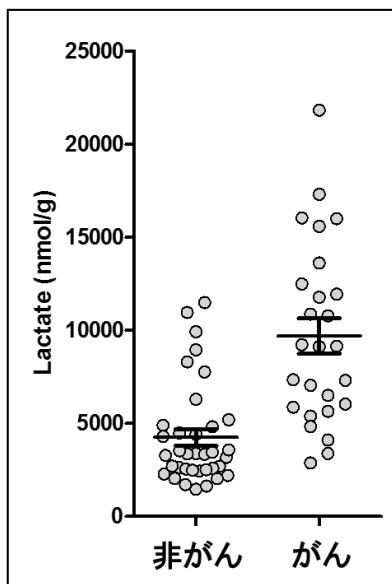
3. 研究の方法

超新鮮手術検体(肺がん)を新たに収集し、それら腫瘍組織および隣接する非がん組織における代謝産物の一斉解析(メタボローム解析)を行い、データを得た。

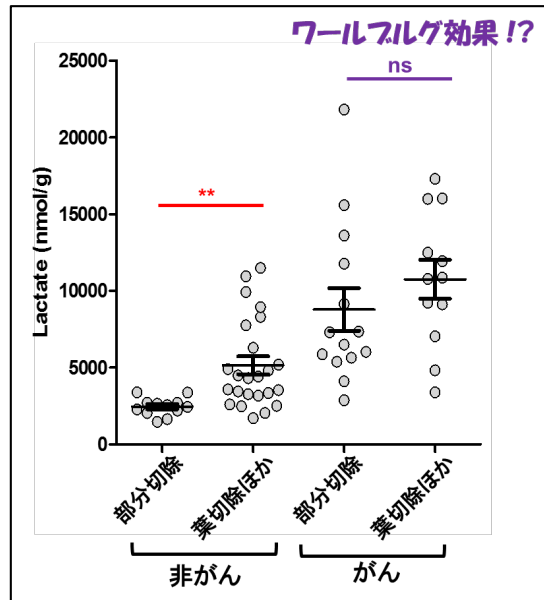


4. 研究成果

解析の結果、腫瘍の組織型やstage、KrasやEGFRの変異ステータスによる傾向の違いは、ほとんどみとめられなかった。



一方、組織採取にあたっての術式によって、組織の代謝像が大きく影響を受けることが確認できた。採取前、組織が虚血にさらされる時間の違いが、そのような差異を生んでいると考えられた。非常に重要なことに、正常肺と肺がん組織では、虚血に対する応答がまったく異なっていた；正常組織では虚血が長くなって初めて乳酸蓄積が増えるのに対し、腫瘍組織では、短い虚血時間でもすでに比較的高レベルの乳酸蓄積がみとめられた。



これらの結果は、ワールブルグ効果をヒト生体内でとらえた初めてのものになる可能性がある。今後、メタボローム解析データについて、より詳細なデータマイニングやクラスター解析を行う。FDG-PET シグナルとの相関について、現在解析中である。さらに、マイクロアレイやRNA-seq解析との多層的オミクス解析による検討を加えることで、上記現象の分子基盤を固められるかもしれない。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計20件)

1. Shun Matsuda, Jun Adachi, Masaru Ihara, Nobuhiro Tanuma, Hiroshi Shima, Akira Kakizuka, Masae Ikura, Tsuyoshi Ikura, Tomonari Matsuda
Nuclear pyruvate kinase M2 complex serves as a transcriptional coactivator of arylhydrocarbon receptor. *Nucleic Acids Res*, 44(2), 636-647, 2015.
Doi: 10.1093/nar/gkv967

2. Hiroyuki Kato, Koreyuki Kurosawa, Yui Inoue, Nobuhiro Tanuma, Yuki Momoi, Katsuhisa Hayashi, Honami Ogoh, Miyuki Nomura, Masato Sakayori, Yoichiro Kakugawa, Yoji Yamashita, Koh Miura, Makoto Maemondo, Ryuichi Katakura, Shigemi Ito, Masami Sato, Ikuro Sato, Natsuko Chiba, Toshio Watanabe, and Hiroshi Shima
Loss of protein phosphatase 6 in mouse keratinocytes increases susceptibility to ultraviolet-B-induced carcinogenesis.
Cancer Letters, 365(2), 223-228, 2015
Doi: 10.1016/j.canlet.2015.05.022
3. Makoto Abue, Misa Yokoyama, Rie Shibuya, Keiichi Tamai, Kazunori Yamaguchi, Ikuro Sato, Nobuyuki Tanaka, Shin Hamada, Tooru Shimosegawa, Kazuo Sugamura
Circulating miR-483-3p and miR-21 is highly expressed in plasma of pancreatic cancer
International Journal of Oncology, 46, 539-547, 2015
Doi: 10.3892/ijo.2014.2743
4. Kiyoto Shiga, Kohta Takahashi, Ikuro Sato, Kengo Kato, Shigeru Saijo, Setsuko Moriya, Masahiro Hosono, Taeko Miyagi
Upregulation of sialidase NEU3 in head and neck squamous cell carcinoma associated with lymph node metastasis.
Cancer Science, 106, 1544-1553, 2015
Doi: 10.1111/cas.12810
5. Keiko Hata, Tatsuo Tochigi, Ikuro Sato, Sadafumi Kawamura, Kazuhiro Shiozaki, Tadashi Wada, Kohta Takahashi, Setsuko Moriya, Kazunori Yamaguchi, Masahiro Hosono, Taeko Miyagi
Increased sialidase activity in serum of cancer patients: Identification of sialidase and inhibitor activities in human serum.
Cancer Science, 106, 383-9, 2015
Doi: 10.1111/cas.12627
6. Sodai Narumi, Yasuhiro Miki, Shuko Hata, Masahito Ebina, Mikiyoshi Saito, Kazushige Mori, Makoto Kobayashi, Takashi Suzuki, Erina Iwabuchi, Ikuro Sato, Makoto Maemondo, Chiaki Endo, Akira Inoue, Takashi Kondo, Hisafumi Yamada-Okabe, Masakazu Ichinose, Hironobu Sasano
Anterior gradient 2 is correlated with EGFR mutation in lung adenocarcinoma tissues.
The International Journal of Biological Markers, 30(2), e234-42, 2015
Doi: 10.5301/jbm.5000131
7. Mami Sumiyoshi, Narumi Masuda, Nobuhiro Tanuma, Honami Ogoh, Eri Imai, Mizuki Otsuka, Natsuki Hayakawa, Kinuyo Ohno, Yasuhisa Matsui, Kanae Hara, Risa Gotoh, Mai Suzuki, Shinya Rai, Hirokazu Tanaka, Itaru Matsumura, Hiroshi Shima, Toshio Watanabe
Mice doubly-deficient in the Arf GAPs SMAP1 and SMAP2 exhibit embryonic lethality.
FEBS Lett, 589(19 Pt B), 2754-62, 2015
Doi: 10.1016/j.febslet.2015.07.050
8. Masamitsu Konno, Jun Koseki, Koichi Kawamoto, Naohiro Nishida, Hidetoshi Matsui, Dyah L Dewi, Miyuki Ozaki, Yuko Noguchi, Koshi Mimori, Noriko Gotoh, Nobuhiro Tanuma, Hiroshi Shima, Yuichiro Doki, Masaki Mori, Hideshi Ishii
Embryonic microRNA-369 controls metabolic splicing factors and urges cellular reprogramming.
PLoS ONE, 10(7), e0132789, 2015
Doi:10.1371/journal.pone.0132789
9. Katsuhisa Hayashi, Yuki Momoi, Nobuhiro Tanuma, Ayako Kishimoto, (8), Kayoko Fukamachi, Yoichiro Kakugawa, Yoji Yamashita, Shigemi Ito, Ikuro Sato, Akira Suzuki, Miki Nishio, Masami Sugauma, Toshio Watanabe and Hiroshi Shima
Abrogation of protein phosphatase 6 promotes skin carcinogenesis induced by DMBA.
Oncogene, 34(35), 4647-55, 2015
Doi: 10.1038/onc.2014.398.
10. Kohta Takahashi, Masahiro Hosono, Ikuro Sato, Keiko Hata, Tadashi Wada, Kazunori Yamaguchi, Kazuo Nitta, Hiroshi Shima, Taeko Miyagi
Sialidase NEU3 contributes neoplastic potential on colon cancer cells as a key modulator of gangliosides by regulating Wnt signaling.
International Journal of Cancer, 137(7), 1560-1573, 2015

Doi: 10.1002/ijc.29527

11. Masamitsu Konno, Hideshi Ishii, Jun Koseki, Nobuhiro Tanuma, Naohiro Nishida, Koichi Kawamoto, Tatsunori Nishimura, Asuka Nakata, Hidetoshi Matsui, Kozou Noguchi, Miyuki Ozaki, Yuko Noguchi, Hiroshi Shima, Noriko Gotoh, Hiroaki Nagano, Yuichiro Doki, Masaki Mori
Pyruvate kinase M2, but not M1, allele maintains immature metabolic states of murine embryonic stem cells.
Regenerative Therapy, 1, 63-71, 2015
Doi: 10.1016/j.reth.2015.01.001
12. Atsumu Kouketsu, Ikuro Sato, Satoko Abe, Mariko Oikawa, Mariko Oikawa, Yoshinaka Shimizu, Tetsu Takahashi, Hiroyuki Kumamoto
Detection of human papillomavirus infection in oral squamous cell carcinoma: a cohort study of Japanese patients
Journal of Oral Pathology & Medicine, 2015
Doi: 10.1111/jop.12416
13. Atsushi Hamabe, Masamitsu Konno, Nobuhiro Tanuma, Hiroshi Shima, Kenta Tsunekuni, Koichi Kawamoto, Naohiro Nishida, Jun Koseki, Koshi Mimori, Noriko Gotoh, Hirofumi Yamamoto, Yuichiro Doki, Masaki Mori, Hideshi Ishii
Role of pyruvate kinase M2 in transcriptional regulation leading to epithelial-mesenchymal transition
Proc Natl Acad Sci U S A, 111(43), 15526-31, 2014
Doi:10.1073/pnas.1407717111
14. Shigemi Ito, Toru Tase, Kennichi Satoh, Iyuki Ueki, Ikuro Sato, Hironobu Sasano
Gastric-type endocervical glandular neoplasms associated with aberrant p16 expression and K-RAS gene mutation in Peutz-Jeghers syndrome
Pathology International, 64(6), 283-288, 2014
Doi: 10.1111/pin.12173
15. Keiichi Tamai, Mao Nakamura, Masamichi Mizuma, Mai Mochizuki, Misa Yokoyama, Hiroyuki Endo, Kazunori Yamaguchi, Takayuki Nakagawa, Masaaki Shiina, Michiaki Unno, Koji Muramoto, Ikuro Sato, Kennichi Satoh, Kazuo Sugamura, Nobuyuki Tanaka
Suppressive expression of CD274 increases tumorigenesis and cancer stem cell phenotypes in cholangiocarcinoma.
Cancer Science, 105,667-674, 2014
Doi: 10.1111/cas.12406
16. Yoshifumi Matsumoto, Makoto Maemondo, Yoshiki Ishii, Koichi Okudera, Yoshiki Demura, Kei Takamura, Kunihiro Kobayashi, Naoto Morikawa, Akihiko Gemma, Osamu Ishimoto, Kazuhiro Usui, Masao Harada, Satoru Miura, Yuka Fujita, Ikuro Sato, Yasuo Saijo, North-East Japan Study Group
A phase II study of erlotinib monotherapy in pre-treated non-small cell lung cancer without EGFR gene mutation who have never/light smoking history: Re-evaluation of EGFR gene status (NEJ006/TCOG0903)
Lung cancer (Amsterdam, Netherlands), 195-200, 2014
Doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.lungcan.2014.08.019>
17. Yoshikazu Nishino, Yuko Minami, Masaaki Kawai, Kayoko Fukamachi, Ikuro Sato, Noriaki Ohuchi, Yoichiro Kakugawa
Cigarette smoking and breast cancer risk in relation to joint estrogen and progesterone receptor status: a case-control study in Japan.
SpringerPlus, 65, 2014
Doi: 10.1186/2193-1801-3-65
18. Hiroyuki Endo, Takeharu Shiroki, Takayuki Nakagawa, Misa Yokoyama, Keiichi Tamai, Hideaki Yamanami, Tsuneaki Fujiya, Ikuro Sato, Kazunori Yamaguchi, Nobuyuki Tanaka, Katsunori Iijima, Tooru Shimosegawa, Kazuo Sugamura, Kennichi Satoh
Enhanced expression of long non-coding RNA HOTAIR is associated with the development of gastric cancer.
PLoS ONE, e77070, 2013
Doi: 10.1371/journal.pone.0077070
19. Takayuki Nakagawa, Hiroyuki Endo, Misa Yokoyama, Jiro Abe, Keiichi Tamai, Nobuyuki Tanaka, Ikuro Sato, Satomi Takahashi, Takashi Kondo, Kennichi Satoh
Large noncoding RNA HOTAIR enhances aggressive biological behavior and is associated with short disease-free survival in human non-small cell lung

cancer.
Biochemical and biophysical research communications. 28, 2013
Doi: 10.1016/j.bbrc.2013.05.101

20. Takayuki Imai, Keiichi Tamai, Sayuri Oizumi, Kyoko Oyama, Kazunori Yamaguchi, Ikuro Sato, Kennichi Satoh, Kazuto Matsuura, Shigeru Saijo, Kazuo Sugamura, Nobuyuki Tanaka
CD271 defines a stem cell-like population in hypopharyngeal cancer.
PLoS ONE, e62002, 2013
Doi: 10.1371/journal.pone.0062002

[学会発表](計 14 件)

1. Hiroshi Shima, Koreyuki Kurosawa, Honami Ogoh, Yui Inoue, Takahiro Goto, Nobuhiko Tanuma, Toshio Watanabe
Ppp6c deficiency predisposes mouse skin tissue to carcinogenesis initiated by DMBA and UV.
The 13th Korea-Japan Joint Symposium on Cancer and Ageing Research
2016年2月25-27日, Jeju (Korea)
2. 加藤浩之、田沼延公、三浦康、角川陽一郎、椎葉健一、山下洋二、林克剛、野村美有樹、佐藤郁郎、伊藤しげみ、渡邊利雄、島礼皮膚
Ppp6c 欠損マウスは、UVB 誘導皮膚扁平上皮発がんを高感受性となる
第74回 日本癌学会学術総会 2015年10月8-10日、名古屋
3. Miyuki Nomura, Yoshimi Sakamoto, Shigemi Ito, Ryuichi Katakura, Keniti Shiiba, Shoko Matsumoto, Toshio Watanabe, Hiroshi Shima, Nobuhiro Tanuma
Regulation of isoform-expression of pyruvate kinase M (PKM) during cellular differentiation and senescence.
第37回 日本分子生物学会年会
2014年11月25-27日、横浜
4. 林克剛、田沼延公、渡邊利雄、佐藤郁郎、野村美有樹、山下洋二、角川陽一郎、島礼
PP6 皮膚特異的欠損マウスは、DMBA 誘発皮膚発がんを高感受性をしめす
第73回 日本癌学会学術総会
2014年9月25-27日、横浜
5. 今野雅允、田沼延公、西田尚弘、川本弘一、小関準、後藤典子、島礼、土岐祐一郎、森正樹、石井秀始
マイクロ RNA369 はピルビン酸キナーゼのスプライシングを制御する
第73回 日本癌学会学術総会
2014年9月25-27日、横浜
6. 野村美有樹、坂本良美、佐藤郁郎、三浦康、椎葉健一、山下洋二、島礼、田沼延公
発生や細胞分化・細胞老化に伴う、ピルビン酸キナーゼ M アイソフォームの発現制御
第73回 日本癌学会学術総会
2014年9月25-27日、横浜
7. 浜部敦史、今野雅允、山本浩文、水島恒和、竹政伊知朗、田沼延公、島礼、西田尚弘、川本弘一、土岐祐一郎、森正樹、石井秀始
上皮間葉移行におけるピルビン酸キナーゼ M2 の遺伝子発現制御機能
第73回 日本癌学会学術総会
2014年9月25-27日、横浜
8. 白木健悠、横山美沙、田沼延公、玉井恵一、山口壹範、佐藤郁郎、田中信幸、菅村和夫、佐藤賢一
ピルビン酸キナーゼ M2 (PKM2)は正常胃粘膜で有意に発現しており、その発現増強が胃癌の進展に関与している。
第73回 日本癌学会学術総会
2014年9月25-27日、横浜
9. 坂本良美、野村美有樹、佐藤郁郎、三浦康、椎葉健一、山下洋二、渡邊利雄、島礼、田沼延公
Characterization of mice expressing a single isoform of pyruvate kinase M
第73回 日本癌学会学術総会 2014年9月25-27日、横浜
10. 坂本良美、野村美有樹、島礼、田沼延公
単一のピルビン酸キナーゼ M アイソフォームを発現するマウスの解析
第2回 がん代謝研究会 2014年7月10-11日、東京
11. 松本祥子、坂本良美、野村美有樹、田中遼大、盛田麻美、伊藤しげみ、椎葉健一、野村美有樹、片倉隆一、山下洋二、佐藤郁郎、渡邊利雄、島礼、田沼延公
Generation of knock-in mice to dissect isoform-specific roles for each splicing isoform of pyruvate kinase M in vivo
第36回 分子生物学会
2013年12月3-6日、神戸
12. 坂本良美、渡邊利雄、野村美有樹、山下洋二、椎葉健一、佐藤郁郎、佐藤雅美、島礼、田沼延公
ノックインモデルを用いた、ピルビン酸キナーゼ M (PKM) アイソフォームの機能

解析
第 72 回 日本癌学会学術集会
2013 年 10 月 3- 5 日、横浜

13. Takeharu Shiroki, Nobuhiro Tanuma,
Ikuro Sato, Nobuyuki Tanaka, Kazuo
Sugamura, Kennichi Satoh
Pyruvate kinase type M2 (PKM2) is
involved in human gastric cancer
development.
第 72 回 日本癌学会学術集会
2013 年 10 月 3- 5 日、横浜

14. 坂本良美、松本祥子、渡邊利雄、近藤玄、
野村美有樹、野村栄樹、椎葉健一、島礼、
田沼延公
PKM アイソフォームに関する生理的、お
よび病態生理的機能解析
第 86 回 日本生化学会大会
2013 年 9 月 11-13 日、横浜

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 郁郎 (SATO IKURO)
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)・ティッシュバ
ンクセンター・センター長
研究者番号：50225918

(2) 研究分担者

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・主任研究員
研究者番号：40333645

(3) 研究分担者

伊藤 しげみ (ITO SHIGEMI)
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・特任研究員
研究者番号：80600006