

■受領No.1453

がん代謝不均一性「メタボリックヘテロジェネイティ」を克服するがん治療法の開発

代表研究者

大澤 毅

東京大学先端科学技術研究センター 特任准教授



Development of anti-cancer treatments to overcome metabolic heterogeneity

Principal Researcher

Tsuyoshi Osawa,

RCAST, The University of Tokyo Associate Professor

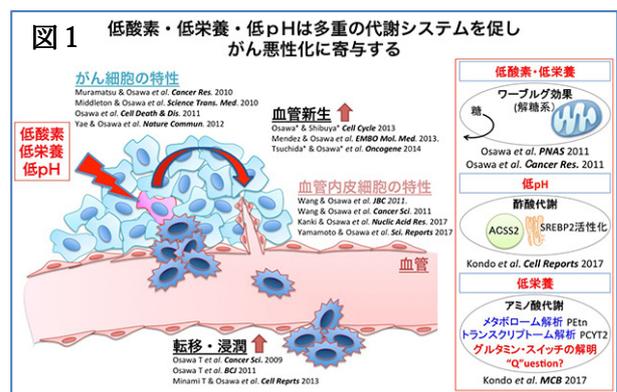
がんの増殖・転移・薬剤耐性などの悪性化には、がん微小環境が重要な役割を果たす。申請者は、過酷ながん微小環境が解糖系、酢酸代謝、グルタミン代謝という多重の代謝適応（メタボリックヘテロジェネイティ）を介して悪性化を促進することを報告してきた。本研究は、メタボリックヘテロジェネイティを克服するがん治療法の開発のみならず、将来的に先天性アミノ酸代謝異常疾患の病態解明や治療法の開発にも繋がる研究を目指し実施した。

Tumor microenvironment plays an important role in the malignant transformation of cancer such as growth, metastasis, and drug resistance. Applicants have reported that the extreme tumor microenvironment promotes malignant transformation through multiple metabolic adaptations (metabolic heterogeneity) of glycolysis, acetic acid metabolism, and glutamine metabolism. The purpose of this study was not only to develop a cancer treatment that overcomes metabolic heterogeneity, but also to elucidate the pathophysiology of congenital amino acid metabolic disorders to develop a treatment for them.

1. 研究内容

1.1 研究の背景・目的

がんの転移・浸潤・薬剤耐性などの悪性化には、がん微小環境による代謝変動が重要な役割を果たす (PNAS 2011, Cell Reports 2017, Cell Reports 2019, 図 1)。近年、がん研究領域においてアミノ酸代謝が再注目されている。ロイシンなど必須アミノ酸には mTOR 複合体を介したアミノ酸欠乏・感知機構が存在する。一方、申請者はグルタミンなど非必須アミノ酸の欠乏で、がん細胞は mTOR 複合体を介さない新しいアミノ酸感知機構が存在する可能性を見出した。本研究は、栄養を基軸とした多階層オミクス情報を統合解析する



システム生物学的（ニュートリオミクス）アプローチから、多重のがん代謝適応機構の解明とメタボリックヘテロジェネイティの克服を目指す。本研究は、がん治療法の開発だけではなく、難治性

先天性アミノ酸代謝異常疾患の病態生理解明や治療にも応用可能であり、さらに「mTOR 研究」や「オートファジー研究」などの学術体系の変革や技術革新にも繋がる可能性をもつ研究である。

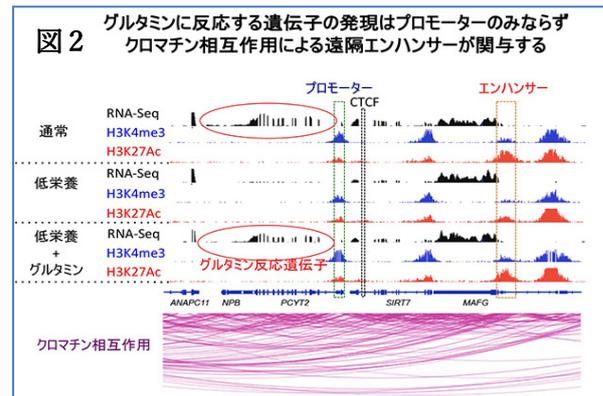
1.2 研究結果・考察

がん微小環境におけるがん細胞は代謝不均一性を介して悪性化するが、本研究は、その最後の砦であるアミノ酸適応機構を解明し、新たな治療に繋げる。申請者が持つ独自の低栄養培養系(PNAS 2011, MCB 2017)に、アミノ酸を1種類ずつ添加することで、これまで他の栄養素の作用が混在し解析が困難であった1アミノ酸に起因する系統的な遺伝子発現、エピゲノム、メタボロームのオミクス統合解析を正常細胞とがん細胞(HeLa, PANC1細胞株)を比較検討した。具体的には、本研究では以下の3項目を検討した。

1.2.1 アミノ酸欠乏感知・適応機構の解明

がん細胞はロイシンなど必須アミノ酸の欠乏を mTOR 複合体を介したシグナル伝達系で感知することが知られている。一方、その他アミノ酸の欠乏を感知する分子機構は未だ不明な点が多い。本研究項目は、独自の低栄養培地に1アミノ酸のみを添加した培地を作成し15種類の各アミノ酸存在下で、繊維芽細胞(NHDF細胞)とがん細胞(HeLa, PANC1細胞)を24時間培養し、1アミノ酸で特異的に発現誘導される遺伝子群、エピゲノム修飾、代謝物を同定し、各アミノ酸における上流制御因子を同定した。また、申請者はグルタミンで誘導され、ロイシンやその他のアミノ酸では変動しない遺伝子群を見出している(図2)。

さらに、各種アミノ酸で特異的なヒストン修飾情報(H3K4me3, H3K27ac)を取得し、プロモーター、エンハンサーの同定、クロマチン相互作用データとの統合解析から、1アミノ酸に起因する上流制御因子やアミノ酸トランスポ



ーターなど各々のアミノ酸の欠乏で鍵となる感知・適応機構の一部として NRF 経路を見出した。現在、NRF 経路を介したグルタミン標的遺伝子群、グルタミン標的エンハンサー、グルタミンで変動するクロマチン相互作用の解析から感知・制御機構を詳細に解析している。

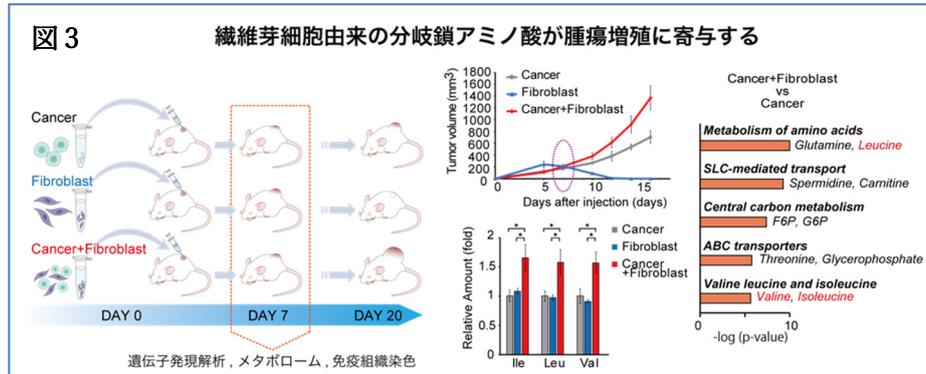
また、がん細胞におけるアミノ酸欠乏に対する適応機構の1つとして、オートファジー活性化や mTOR 阻害剤の存在下で検討し、mTOR 非依存的な1アミノ酸由来の適応機構にも一部関与していることを見出した。

1.2.2 代謝物を介した細胞間相互作用によるがん悪性化機構の解明

がん組織には、がん細胞のみならず繊維芽細胞、免疫細胞、血管内皮細胞など様々な細胞が存在し、がん細胞とこれらの細胞のシグナル伝達を介した細胞間相互作用ががんの進展や悪性化に寄与することが報告されている。

本研究では、生理活性代謝物を介したがん細胞と繊維芽細胞や免疫細胞の細胞間相互作用が、如何にがん悪性化に寄与するか検討した結果、がん細胞と繊維芽細胞をマウスに共移植した腫瘍組織において、トランスクリプトームとメタボロームのトランスオミクス解析から、細胞間相互作用を介したがん悪性化機構に繊維芽細胞由来の分岐鎖アミノ酸(Ile, Leu, Val)が重要であることを見いだされた(図3)。この経路は、膵臓がんにおいて、重要な経路であることが示唆され、我々以外のグループも同様の研究成果を報告している(Zho et

al. *Nature Metabolism* 2020)。現在、膵臓がん以外について検討を行っている。
 外の癌腫における、線維芽細胞を介した代謝連関



1.2.3 メタボリックヘテロジェネイティを克服する 治療法開発

がん細胞は、糖・脂質・アミノ酸にわたる多重の代謝適応システムを介して進展する。しかし、これら全ての代謝経路を制御する阻害剤や低分子化合物は現存しない。そこで本研究では、がん細胞の悪性化の鍵であるメタボリックヘテロジェネイティ（代謝不均一性）を克服するために、上述の代謝経路を中心に、律速酵素の基質代謝物を化学修飾した代謝物を合成し、それらの抗がん作用を検討する。本研究から1アミノ酸レベルの解像度でのオミクス情報を取得し、がん細胞の最後の砦である、ノンカノニカルな mTOR アミノ酸感知機構の探索、及び、がん悪性化機構の解明し目指した。本研究から、ゴルジ体やER、ミトコンドリアといった細胞小器官が栄養を感知することを見出し、さらに詳細な解析を行っている。

本研究は、がん研究のみならず、アミノ酸代謝疾患研究の治療法への応用や、mTOR 研究やオートファジー研究などの学術体系の変革や転換にも繋がるのが期待され、本研究の新しいアミノ酸欠乏認識・適応機構を基軸としたがん悪性化や治療抵抗性克服のアプローチは、新たながん治療法のみならず、先天性アミノ酸代謝異常疾患の病態生理解明や治療への応用も期待できると考えている。

1.3 結語・今後の展望

近年、次世代シーケンサー、質量分析器など次世代基盤技術の普及により、ゲノム配列、転写、翻訳、代謝、タンパク質複合体などの生命現象が網羅的にまた1細胞レベルで解析され、メガデータを取り扱わなければ生命現象や病態の全体像は見えてこない時代を迎えており、システム生物学的な解析技術の開発が必要とされ科学技術上の要請も強い。しかし、各階層の膨大な網羅的なデータの蓄積は医学・生物学的な意義付けを複雑化し、1細胞レベルの代謝変動を同定する方法も未だ確立されていない。本研究は、栄養を基軸としたオミクス情報を統合解析するトランスオミクス解析技術を開発し、科学技術上の要請に応える意義を有する。

また、がん組織内では、がん細胞と腫瘍血管、線維芽細胞、免疫細胞の細胞間相互作用により、治療抵抗性を示す難治性がんに進展することが知られている。このことから、がん細胞のみならずがん組織ネットワークを制御する新たながん治療戦略が必要である。近年、新たな試みとして、がん代謝阻害剤が臨床に登場しているが、がん細胞の代謝適応機構（メタボリックヘテロジェネイティ）が代謝阻害耐性の原因になっている。本研究は、がんの多重の代謝適応機構を解明し、メタボリックヘテロジェネイティを克服するための「新技術」の開発を試みた。本研究成果を応用し将来

的には、がんの病態解明と革新的な診断マーカー・治療薬の創出が期待できる。

本研究のまとめとして、今後本研究を生かして糖、脂質、アミノ酸にわたるがん細胞の多重の代謝適応システムを解明し、引き続きワーブルグ効果を包括するがん研究領域における新たな概念提唱に挑みたいと考えておる。本研究からがん微小環境に起因するメタボリックヘテロジェネティクを克服する画期的な制がん法の開発に繋がることが期待される。

2. 発表(研究成果の発表)

2.1 原著論文

1. Pan M, Zorbas C, Sugaya M, Ishiguro K, Kato M, Nishida M, Zhang H, Candeias MM, Okamoto A, Soga T, Aburatani H, Sakai J, Matsumura Y, Suzuki T, Proud CG, Lafontaine DLJ, Osawa T[§], Glutamine deficiency in solid tumors confers resistance to ribosomal RNA synthesis inhibitors. *Nature Commun.* In press. (§ Correspondence)
2. Yoneshiro T, Kataoka N, Walejko JM, Ikeda K, Brown Z, Yoneshiro M, Crown SB, Osawa T, Sakai J, McGarrah RW, White PJ, Nakamura K, and Kajimura S, Metabolic flexibility via mitochondrial BCAA carrier SLC25A44 is required for optimal fever. *eLife*, 10, e66865, 2021.
3. Muramatsu M[#], Osawa T[#], Miyamura Y, Nakagawa S, Tanaka T, Kodama T, Aburatani H, Sakai J, Ryeom S, Minami T. Loss of Down syndrome critical region-1 leads to cholesterol metabolic dysfunction that exaggerates hypercholesterolemia in ApoE-null background. *Journal of Biological Chemistry*, 296 : 100697, 2021. (# Equally contributed)
4. Shirai K, Nagae G, Seki M, Kudo Y, Kamio A, Hayashi A, Okabe A, Ota S, Tsutsumi S, Fujita T, Yamamoto S, Nakaki R, Kanki Y, Osawa T,

Midorikawa Y, Tateishi K, Ichinose M, Aburatani H. TET1 upregulation drives cancer cell growth by aberrant enhancer hydroxymethylation of HMGA2 in hepatocellular carcinoma. *Cancer Science*, 112(7), 2855-2869, 2021.

5. Morihiro K, Ishinabe T, Takatsu M, Osumi H, Osawa T, Okamoto A. Fluoxuridine Oligomers Activated under Hypoxic Environment. *J. Am. Chem. Soc.* 143, 9, 3340-3347, 2021.

2.2 学会招待講演等

1. 大澤毅、“造血細胞、エクソソーム、多階層オミクス解析からみる全身性疾患生物学”第94回日本生化学会, 横浜 (ZOOM), Nov. 3-5, 2021
2. 大澤毅、“がん微小環境におけるがん細胞と線維芽細胞の代謝相互作用”第80回日本癌学会学術総会, 横浜, Sep. 30-Oct. 2, 2021
3. 大澤毅、“ニュートリオミクス、がんと代謝”2021年度若手支援技術講習会, WEB開催, Sep. 6, 2021
4. 大澤毅、“ニュートリオミクスから迫るがん悪性化機構の解明”第121回北海道癌談話会春季シンポジウム, 札幌 (ZOOM), Jun. 26, 2021
5. 大澤毅、“ニュートリオミクス、がんと代謝”第25回日本がん分子標的治療学会学術集会, 東京, May. 28, 2021