

平成 31 年 4 月 18 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19586

研究課題名（和文）パッセンジャー変異合成致死性による新規がん代謝治療標的探索

研究課題名（英文）Drug discovery based on collateral lethality

研究代表者

高橋 智聡（Takahashi, Chiaki）

金沢大学・がん進展制御研究所・教授

研究者番号：50283619

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）：当初SUCLA2のアイソザイムであるSUCLG2の阻害が合成致死性を発揮すると考えたが、その効果は、限定的であった。そこで、我々は、SUCLA2を欠く前立腺がん細胞株とそこにSUCLA2を再構成した前立腺がん細胞株を作成、CRISPR-CAS9ライブラリーを用い、SUCLA2を欠く前立腺がん細胞株において特異的にドロップアウトする代謝遺伝子を検索し、8の候補遺伝子を得た。さらに我々は、SUCLA2欠失前立腺がん特異的に細胞死を誘導する化合物のスクリーニングを行い、現在までに、天然化合物ライブラリーのスクリーニングから、化合物2種がSUCLA2欠失株特異的に細胞傷害性を示すことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

RB遺伝子の近傍に位置するSUCLA2が、RB遺伝子領域の欠失に極めて頻繁に巻き込まれることが判った。SUCLA2は重要な代謝酵素をコードするので、この遺伝子欠損と合成致死性を示す標的分子を探索した。遺伝子欠損が合成致死性を発揮する遺伝子を8種、その作用が合成致死性を発揮する化合物2種を特定した。特定のゲノム異常を持つがんを標的にする副作用の少ない薬剤の開発につながると思われる。

研究成果の概要（英文）：Initially, we thought that inhibition of SUCLG2, which is an isozyme of SUCLA2, exerts synthetic lethality, but the effect was limited. Therefore, we created a prostate cancer cell line lacking SUCLA2 and a prostate cancer cell line in which SUCLA2 was reconstituted. Using the CRISPR-CAS9 library, we searched genes those dropped specifically in prostate cancer cell lines lacking SUCLA2, and obtained 8 candidate genes. Furthermore, we screened for compounds that induce cell death specifically in SUCLA2-deficient prostate cancer, and to date, from the screening of natural compound libraries, we found two compounds are specifically cytotoxic for SUCLA2-deleted strains.

研究分野：腫瘍学、分子生物学

キーワード：がん 代謝 SUCLA2 合成致死性

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

前立腺がんの一定の割合で起こる染色体 13 番長腕 RB 遺伝子領域の欠失は、アンドロゲン受容体経路の亢進により去勢抵抗性獲得に繋がる。ところが、RB 遺伝子領域の欠失は、逆に前立腺がんのアキレス腱ともなる可能性がある。RB 遺伝子の近傍に位置する SUCLA2 が、RB 遺伝子領域の欠失に極めて頻繁に巻き込まれることが判った (図 1)。SUCLA2 は、TCA 回路の一部である succinyl CoA を可逆的に succinate に変換する succinate CoA ligase ヘテロダイマーのβ-subunit を構成する重要な代謝酵素であり、この欠失は広汎な代謝経路に影響を与えるものと考えられる。事実、SUCLA2 遺伝子の生殖系列欠失は、メチルマロン酸尿症等の先天性疾患の原因となることが判明している。また、我々は、前立腺がんにおける SUCLA2 発現抑制がミトコンドリアの最大呼吸能を低下させることも突き止めた。つまり、SUCLA2 の欠失は、がん細胞の代謝経路に「脆弱性」をもたらす。この代謝的脆弱性を標的とすることによって SUCLA2 欠失前立腺がんを特異的に治療する薬剤の開発が出来ないかと考えた。

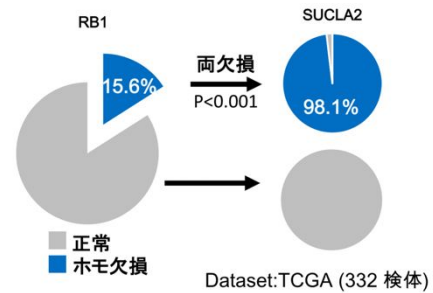


図1 RBとSUCLA2の両欠失

### 2. 研究の目的

SUCLA2 遺伝子欠失との合成致死性を標的とすれば、特定のゲノム異常を持つがんを標的にする副作用の少ない薬剤の開発につながると思われる。まず、SUCLA2 のアイソザイムである SUCLG2 の合成致死性を検討すること、続いて、CRISPR-CAS9 ライブラリーや薬剤ライブラリーを用い、SUCLA2 遺伝子欠失との合成致死性をしめす分子標的を見出すことを目的とした。

### 3. 研究の方法

まず、SUCLA2 のアイソザイムである SUCLG2 の阻害が合成致死性を発揮する可能性を検討した。続いて、SUCLA2 を欠く前立腺がん細胞株とそこに SUCLA2 を再構成した前立腺がん細胞株を作成、CRISPR-CAS9 ライブラリー(全代謝遺伝子 2,751 種類)を用い、SUCLA2 を欠く前立腺がん細胞株において特異的にドロップアウトする代謝遺伝子を探索した。さらに我々は、SUCLA2 欠失前立腺がん特異的に細胞死を誘導する化合物のスクリーニングを行った。

### 4. 研究成果

65症例の前立腺がんを調査したところ、グレードの高い6症例においてRBとSUCLA2が同時に発現消失していた。さらに、このタイプの遺伝子欠失を持つがんは、前立腺がんだけでなく、様々な希少がんを含むことも判明した。また、我々は、前立腺がんにおけるSUCLA2発現抑制がミトコンドリアの最大呼吸能を低下させることも突き止めた (図 2)。当初は、SUCLA2 のアイソザイムであるSUCLG2の阻害が合成

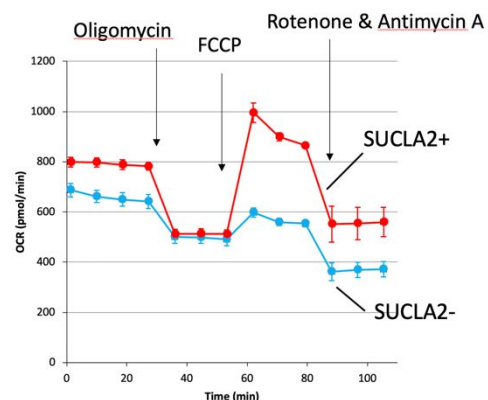


図2 SUCLA2欠失の代謝への影響

致死性を発揮すると考えたが、その効果は、限定的であることが判った。そこで、SUCLA2 遺伝子欠損と合成致死性を示す標的分子を探索した。遺伝子欠損がSUCLA2遺伝子欠損と合成致死性を発揮する遺伝子を 8 種、その作用がSUCLA2遺伝子欠損と合成致死性を発揮する化合物 2 種を特定した。このうち化合物 1 種については、特許出願手続きを行っており、今後構造成展開も行う。特定のゲノム異常を持つがんを標的にする副作用の少ない薬剤の開発につながると思われる。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

1. Nishimura T, Nakata A, Xiaoxi C, Nishi K, Meguro-Horike M, Sasaki S, Kita K, Horike S, Saitoh K, Kato K, Kaori I, Murayama T, Kohno S, Takahashi C, Mukaida M, Yano S, Soga T, Tojo A and Gotoh N. Cancer stem-like properties and gefitinib resistance are dependent on purine synthetic metabolism mediated by the mitochondrial enzyme MTHFD2. *Oncogene*, 2018 (in press). 査読あり
2. Kitajima S, Asahina H, Chen T, Guo S, Laura GQ, Cavanaugh JD, Merlino AA, Tange S, Terai H, Kim JW, Wang X, Zhou S, Xu N, Wang S, Zhu Z, Thai TC, Takahashi C, Wang Y, Neve R, Stinson S, Tamayo P, Watanabe H, Kirschmeier PT, K Wong KK, and Barbie DA. Overcoming resistance to dual innate immune and MEK inhibition downstream of KRAS. *Cancer Cell*, 34:439-452, 2018. 査読あり doi:10.1016/j.ccell.2018.08.009
3. Zhao J, Okamoto Y, Asano Y, Ishimaru K, Aki S, Yoshioka K, Takuwa N, Wada T, Inagaki Y, Takahashi C, Nishiuchi T, Takuwa Y. Sphingosine-1-phosphate receptor-2 facilitates pulmonary fibrosis through potentiating IL-13 pathway in macrophages. *PLoS One*, 13(5):e0197604, 2018. 査読あり doi:10.371/journal.pone.0197604
4. Sasaki S, Baba T, Muranaka H, Tanabe Y, Takahashi C, Matsugo S and Mukaida N. Involvement of prokineticin 2-expressing neutrophil infiltration in 5-fluorouracil-induced aggravation of breast cancer metastasis to lung. *Mol Cancer Ther*, 17:1515-1525, 2018. 査読あり doi:10.1158/1535-7163.MCT-17-0845
5. Murata T, Yamaguchi Y, Kohno S, Takahashi C, Kakimoto M, Sugimura Y, Kamihara M, Hikita K and Kaneda N. Regucalcin confers resistance to amyloid- $\beta$  toxicity in neuronally differentiated PC12 cells. *FEBS openbio*, 8:349-360, 2018. 査読あり doi:10.1002/2211-5463.12374
6. Muranaka H, Hayashi A, Minami K, Kitajima S, Kohno S, Nishimoto Y, Nagatani N, Suzuki M, Kulathunga N, Sasaki N, Okada N, Matsuzaka T, Shimano H, Tada H and Takahashi C. A distinct function of the retinoblastoma protein in the control of lipid composition identified by lipidomic profiling. *Oncogenesis*, 26;6 (6):e350, 2017. 査読あり doi: 10.1038/oncsis.2017.51
7. Kitajima S, Yoshida A, Kohno S, Li F, Suzuki S, Nagatani N, Nishimoto Y, Sasaki N, Muranaka H, Wan Y, Thai T C, Okahashi N, Matsuda F, Shimizu H, Nishiuchi T, Suzuki Y, Tominaga K, Gotoh N, Suzuki M, Ewen M E, Barbie D A, Hirose O, Tanaka T and Takahashi C. The RB-IL-6 axis controls self-renewal and endocrine therapy resistance by fine-tuning mitochondrial activity. *Oncogene*, 36:5145-5157, 2017. 査読あり doi:10.1038/onc.2017.124
8. Nagata N, Xu L, Kohno S, Ushida Y, Aoki Y, Umeda R, Fuke N, Zhuge F, Ni Y, Nagashimada M, Takahashi C, Suganuma H, Kaneko S and Ota T. Glucoraphanin ameliorates obesity and insulin resistance through adipose tissue browning and reduction of metabolic endotoxemia in mice.

Diabetes, 66:1222-1236, 2017. 査読あり doi: 10.2337/db16-0662

9. Yoshida A, Kitajima S, Li F, Chaoyang C, Takegami Y, Kohno S, Wan Y, Hayashi N, Muranaka H, Nishimoto Y, Nagatani N, Nishiuchi T, Thai T C, Suzuki S, Nakao S, Tanaka T, Hirose O, Barbie D A and Takahashi C. MicroRNA-140 mediates RB tumor suppressor function to control stem cell-like activity through interleukin-6. *Oncotarget*, 8:13872-13885, 2017. 査読あり doi: 10.18632/oncotarget.14681
10. Kitajima S and Takahashi C. The intersection of RB tumor suppressor function, stem cells, metabolism and inflammation. *Cancer Science*, 108(9): 1726-1731, 2017. 査読あり doi: 10.1111/cas.13312

〔学会発表〕(計 6 件)

1. 河野晋, 岡橋伸幸, 松田史生, 清水浩, 高橋智聡. ヒストン脱メチル化酵素 KDM5A と RB が制御する代謝分子の探索. 第 77 回日本癌学会学術総会 2018 年 9 月 28 日(大阪市/リーガロイヤルホテル大阪 : 9/27-29)
2. 河野晋, 岡橋伸幸, 松田史生, 清水浩, 高橋智聡. ヒストン脱メチル化酵素 KDM5A と RB が制御する代謝分子の探索. 第 1 回 金沢大学がん進展制御研究所・国立がん研究センター研究所若手研究発表会 2018 年 7 月 5 日(和倉町/ホテル海望 : 7/5-6)
3. Kohno S and Takahashi C. RB controls differentiation through positive regulation of phosphoglycerate mutases. Abcam Cancer and Metabolism conference 2018 2018 年 6 月 26 日 (Cambridge, UK / Fitzwilliam college : 6/25-27)
4. 河野晋, 岡橋伸幸, 松田史生, 清水浩, 高橋智聡. ヒストン脱メチル化酵素 KDM5A と RB が制御する代謝分子の探索. 第 6 回がん代謝研究会 2018 年 5 月 11 日(奄美市/奄美観光ホテル : 5/10-11)
5. 河野晋, 岡橋伸幸, 松田史生, 清水浩, 高橋智聡. 悪性進展過程における RB の代謝調節機能. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 2017 年 12 月 8, 9 日(神戸市/神戸ポートアイランド : 12/6-9)
6. 河野晋, Paing Linn, 高橋智聡. 前立腺がんにおける RB ホモ欠損に伴う脆弱性の獲得. 第 5 回がん代謝研究会 2017 年 7 月 14 日(札幌/北海道大学医学部学友会館 : 7/13-14)

〔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 :

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：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://omb.w3.kanazawa-u.ac.jp>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：河野晋

ローマ字氏名：Kohno Susumu

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。