様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　元 年　 ６ 月 ２３ 日現在

機関番号：１３３０１
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2017～2018
課題番号：１７Ｋ１５０２１

研究課題名（和文）ミトコンドリア内葉酸代謝酵素を標的としたがん治療の有効性評価

研究課題名（英文）Evaluation of efficacy for targeting enzymes of mitochondrial one-carbon metabolism for cancer treatment.

研究代表者

西村　建徳（Nishimura, Tatsunori）

金沢大学・がん進展制御研究所・助教

研究者番号：１０６２４８６９

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではがん治療においてミトコンドリア内葉酸代謝酵素を標的とすることが有効であるかについて検討を行った。ミトコンドリア内葉酸代謝酵素の中でもいまだに機能が詳細に調べられていなかったMTHFD1LとMTHFD2という二つの酵素について本研究では中心的に解析を行った。その結果、両酵素ともノックダウンを行うと細胞増殖の抑制のみならず、腫瘍原生能の低下をも誘引することが明らかにした。この理由は、プリン核酸合成の阻害とそれに伴うプリン核酸の中間産物であるAICARの蓄積であることも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究ではMTHFD1LとMTHFD2を阻害することができれば、腫瘍の増大の阻止に加え、再発や転移を抑制できることが示唆された。このことからMTHFD1LとMTHFD2の阻害剤が開発されれば、新規の抗癌剤になりうる可能性が高いことが示唆された。
葉酸代謝酵素は古くから抗癌剤のターゲットとされてきたが、副作用が強い等の理由から使用できる範囲が限られていた。しかし、我々が本研究で着目したミトコンドリア内葉酸代謝酵素、MTHFD1LとMTHFD2は成体の正常細胞では発現が低いため、これらの酵素を標的とした場合、より副作用が少ないことが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we evaluated whether enzymes of mitochondrial One-carbon metabolism can be a novel drug target to cure cancer patients. Among the enzymes, we focused especially on MTHFD1L and MTHFD2, which were not studied in detail yet. As a result, when we knock-downed either genes of cancer cells with shRNA, not only their cellular proliferation was inhibited, but also their tumor initiating ability was also inhibited. The reason for the former phenotype was the inhibition of de novo synthesis of purine nucleotides, and that for the later one was the accumulation of AICAR, which is one of the intermediates during the purine nucleotides synthesis, triggered by the down-regulation of either MTHFD1L or MTHFD2.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：葉酸代謝酵素　ミトコンドリア　腫瘍原生能

様　式　C－１９、F－１９－１、Z－１９、CK－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

葉酸代謝経路は核酸合成経路に一炭素を渡し、核酸合成に寄与している。そのため、増殖が異常に速い多くのがん細胞ではこの経路が活性化している。このような背景から葉酸代謝酵素は古くから抗癌剤のターゲットとなってきた。現在ではメトトレキサートやペメトレキセド、5-FU とその類自体が臨床で用いられている。しかしながら、これらの抗癌剤は副作用や獲得耐性の問題から therapeutic window は必ずしも広くはない。

近年葉酸代謝酵素の中でもミトコンドリア内に主に局在する酵素のほうが、上記の現在使用されている抗癌剤のターゲットである細胞質に主に局在する酵素よりもがん特異性が高いことが分かってきた。しかしながら、これらの酵素の阻害が本当に抗腫瘍効果を示すのかについてはいまだはっきりした結論は出ていない。

２．研究の目的

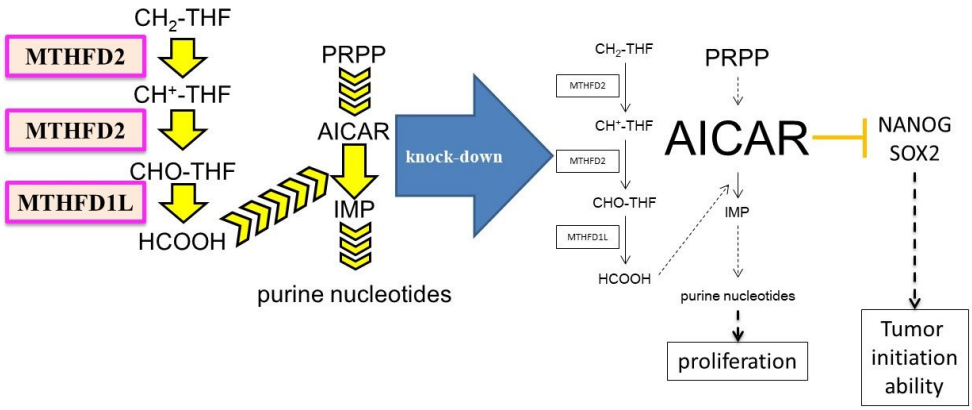
本研究ではがん治療においてミトコンドリア内葉酸代謝酵素を標的とすることが有効であるかについて検討を行った。ミトコンドリア内葉酸代謝酵素の中でもいまだに機能が詳細に調べられていなかった MTHFD1L と MTHFD2 という二つの酵素について本研究では中心的に解析を行うこととした。

３．研究の方法

現在、MTHFD1L と MTHFD2 に対する特異的阻害剤は報告されていない。そこで本研究では阻害剤の効果を模して、MTHFD1L と MTHFD2 の遺伝子発現を siRNA や shRNA を用いてノックダウンすることとした。対象臓器としては肺がんと乳癌とし、各癌種の細胞株や臨床検体を用いて MTHFD1L と MTHFD2 のノックダウンによるフェノタイプ *in vitro, in vivo* 両方の系を用いて同定した。そして、得られたフェノタイプのメカニズムを明らかにするため、本研究ではトランスクリトーム解析とメタボローム解析を行った。

４．研究成果

MTHFD1L, MTHFD2、両酵素ともノックダウンを行うと、*in vitro, in vivo*どちらの系においても細胞増殖の抑制のみならず、腫瘍原生能の低下をも誘引することを明らかにした。これらの現象のメカニズムを明らかにするため、我々はトランスクリトーム解析とメタボローム解析を行い、統合的な解析を行った。その結果、ノックダウンを行うと葉酸代謝経路から核酸合成経路に一炭素が渡されなくなり、特にプリン核酸合成が顕著に抑制されることがわかった。このプリン核酸合成の阻害が腫瘍増殖の抑制につながっている
ことがわかった。プリン核酸合成が阻害されると合成経路の中間産物が蓄積するが、中でも我々はAICARがノックダウン細胞で顕著に蓄積することを検出した。そして、この副次的に蓄積するAICARが腫瘍原生能の低下を惹起していることがわかった。



これらの結果から、患者の腫瘍においてMTHFD1LとMTHFD2を阻害することができれば、少なくとも腫瘍の増大を阻止できるだけでなく、残存がん細胞の腫瘍原生能を低下させることで再発や転移を抑制できることが示唆された。両酵素を特異的に標的とする低分子化合物の探索が今後望まれる。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 1 件）

Nishimura Tatsunori et al., Cancer stem-like properties and gefitinib resistance are dependent on purine synthetic metabolism mediated by the mitochondrial enzyme MTHFD2, *Oncogene*, **38**: 2464〜2481, 2018.

〔学会発表〕（計 4 件）

①. 西村建徳：“葉酸代謝酵素、MTHFD2 ノックダウンによる幹細胞様形質の減弱”、第 2 回がん三次元培養研究会、2018 年

②. 西村建徳：“ミトコンドリア葉酸代謝酵素のがん幹細胞様形質と薬剤耐性への寄与”、第 77 回日本癌学会学術集会、2018 年

③. 西村建徳：”Cancer Stem-like Properties And Drug Resistance Are Dependent On The Purine Synthetic Metabolism Mediated By The Mitochondrial Enzyme”, The 6th JCA-AACR Special Joint Conference, 2018

④. **西村建徳：**”Downregulation of MTHFD2, an enzyme of one-carbon metabolism in mitochondria, inhibits tumor growth and cancer stem-like properties.”, The 11th AACR-JCA Joint Conference on Breakthroughs in Cancer Research: From Biology to Precision Medicine, 2019

〔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
金沢大学広報ホームページ https://www.kanazawa-u.ac.jp/latest-research/64909
金沢大学 学際科学実験センターニュース 第 16 号 2019.2 p6

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：中田飛鳥
ローマ字氏名：Asuka Nakata
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：Xiaoxi Chen
研究協力者氏：西くるみ
ローマ字氏名：Kurumi Nishi
研究協力者氏名：目黒-堀家牧子
ローマ字氏名：Makiko Meguro-Horike
研究協力者氏名：佐々木宗一郎
ローマ字氏名：Soichiro Sasaki
研究協力者氏名：北賢二
ローマ字氏名：Kenji Kita
研究協力者氏名：堀家慎一
ローマ字氏名：Shin-ichi Horike
研究協力者氏名：斎藤香織
ローマ字氏名：Kaori Saito
研究協力者氏名：加藤啓子
ローマ字氏名：Keiko Kato
研究協力者氏名：五十嵐香織

ローマ字氏名：Kaori Igarashi
研究協力者氏名：村山貴彦
ローマ字氏名：Takahiko Murayama
研究協力者氏名：河野晋
ローマ字氏名：Susumu Kohno
研究協力者氏名：高橋智聡
ローマ字氏名：Chiaki Takahashi
研究協力者氏名：向田直史
ローマ字氏名：Naofumi Mukaida
研究協力者氏名：矢野聖二
ローマ字氏名：Seiji Yano
研究協力者氏名：曽我朋義
ローマ字氏名：Tomoyoshi Soga
研究協力者氏名：東條有伸
ローマ字氏名：Arinobu Tojo
研究協力者氏名：後藤典子
ローマ字氏名：Noriko Gotoh

※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。