



2024年2月22日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部
公益財団法人 実験動物中央研究所

乳がんの薬剤抵抗性を引き起こすメカニズムを発見 解糖系の複数の酵素タンパク質のメチル化による代謝経路の切り換えが一因 ～代謝特性を利用した新規治療標的の開発に期待～

慶應義塾大学医学部医化学教室の山本雄広専任講師、および医学部外科学（一般・消化器）教室の林田哲専任講師らを中心とする研究グループは公益財団法人実験動物中央研究所（神奈川県川崎市）の末松誠所長（同大学名誉教授）との共同研究で、乳がん細胞が化学療法に対する抵抗性を獲得するメカニズムを新たに発見しました。

乳がんは発現する遺伝子の違いで性質が異なるサブタイプに分類され、それぞれに治療方針が異なります。なかでもトリプルネガティブ乳がん（注1）は全乳がんの約10%強を占めていますが、悪性度が高く予後不良であり、抗がん剤治療の過程において耐性を獲得することが知られています。

今回、共同研究グループは、トリプルネガティブタイプの乳がん細胞を用いた実験で、その標準治療として使用される抗がん剤パクリタキセルに耐性を持つ細胞では、ブドウ糖からエネルギーを産生する経路である解糖系（注2）から途中で分岐するセリン生合成経路が活性化し、結果としてがん細胞の増殖に必要な脂肪酸の活発な合成が起こっていることを見出しました。さらに細胞実験や動物実験で、この経路を遮断することによって乳がん細胞の薬剤耐性を解除することに成功しました。本知見をより発展させることで、組織診での乳がんの悪性度の判定や、乳がん細胞の代謝を制御することにより、従来よりも治療の選択肢が広がる可能性などの利点が期待されます。

本研究成果は2024年2月22日午前0時（米国東部時間）に米国癌学会の学術誌 *Cancer Research* オンライン版にて発表されました。

1. 研究の背景と概要

がん細胞はその旺盛な増殖能を賄うため、生存に有利な代謝物を産生する事が知られています。また、もうひとつの特徴として、ストレスに対する耐性を持つことが挙げられます。抗がん剤を使い続けていると、がん細胞はさまざまな手段で抗がん剤に対する耐性を獲得してしまい、このことががん治療の大きな障壁となっています。例えば、乳がんには高い再発率と薬剤耐性獲得のために治療成績が芳しくないトリプルネガティブタイプがあり、しばしば抗がん剤の一種であるパクリタキセルへの耐性を獲得してしまいます。抗がん剤に対する抵抗性を獲得する機構はさまざまですが、がん細胞内ではエネルギー産生や細胞の「材料」作りに関わる

連鎖的な化学反応が起こっており (=代謝経路と呼ぶ)、がん細胞はその経路をうまく制御して自身の増殖に有利に振る舞うことがわかってきました。残念ながらその仕組みの多くは不明のままです。今回の研究ではその詳細なメカニズムを探るため、トリプルネガティブタイプにおいて抗がん剤パクリタキセルに対する感受性に違いがある細胞株に着目し、それぞれの代謝特性を比較するところから研究をはじめました。主な実験結果は以下の通りです。

- ① がん細胞は正常細胞よりも大量のブドウ糖を取り込み、解糖系という経路を通じ乳酸へ変換することで、エネルギー源である ATP を産生する事が知られていますが、一方でその急速な細胞増殖を支えるために、核酸 (DNA、RNA の材料) やアミノ酸、細胞膜の原料となる脂質など、細胞を構成する上での「材料」が大量に必要になります。これら「材料」の合成経路の多くは解糖系から分岐します。我々は取り込まれたブドウ糖がどのように利用されるかを明らかにするべく、安定同位体 (注 3) で標識したブドウ糖をパクリタキセルに対する感受性の異なる 2 種類の乳がん細胞に取り込ませ、どのように代謝されていくのかを質量分析技術を用いて測定しました。その結果、耐性を持つ細胞では、取り込まれたブドウ糖は解糖系から分岐するセリン生合成経路 (注 4) を経由し、核酸合成経路および脂肪酸合成経路にて代謝される事がわかりました (図 1)。

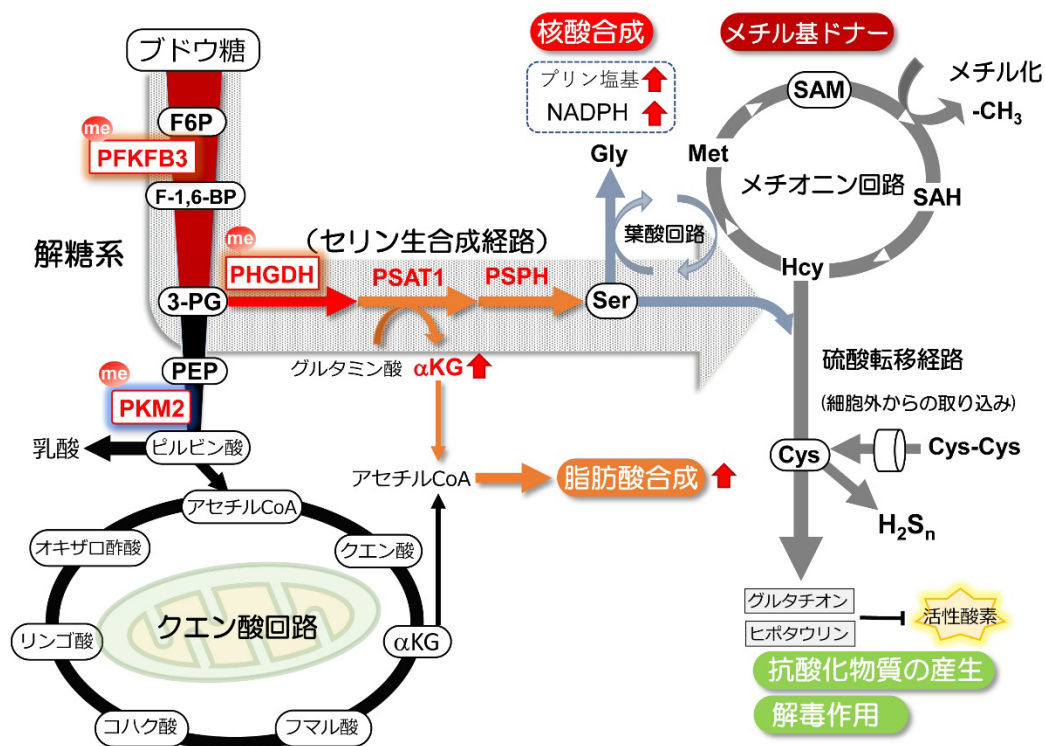


図 1. パクリタキセル抵抗性乳がん細胞の代謝特性。

メタボローム解析の結果から、がん細胞に取り込まれたブドウ糖は解糖系から分岐するセリン生合成経路を経て、脂肪酸合成、核酸合成の材料として使われる事がわかった。

- ② セリン生合成経路への経路切り替えのメカニズム解明を試みるため、複数のトリプルネガティブ乳がん由来の乳がん細胞株を比較して、代謝酵素 (注 5) の発現およびその翻訳後修飾 (注 6) の状態を調べました。その結果、パクリタキセルに耐性を持つ乳がん細胞では解糖系の一連の反応で重要な働きを持つ酵素 PFKFB3 (ホスホフルクトキナーゼ/フル

クトースビスホスファターゼ 3) および PKM2 (ピルビン酸キナーゼ M2)、さらにセリン合成経路中の重要な制御酵素である PHGDH (3-ホスホグリセリン酸デヒドロゲナーゼ) が高度にメチル化修飾 (注 7) を受けていることがわかりました (図 2A)。PFKFB3 と PHGDH はメチル化により酵素活性が活性化し、PKM2 は逆に活性が低下します (図 1)。これら 3 酵素のメチル化はアルギニンメチル化酵素 PRMT1 (タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ 1) の働きで制御されており、PRMT1 を遺伝子破壊した耐性細胞ではパクリタキセルに対する抵抗性が解除されました (図 2B)。このように 3 つの代謝酵素のメチル化修飾の有無がパクリタキセルに対する耐性獲得をもたらすための代謝経路切り替えの「スイッチ」として作用する事がわかりました。

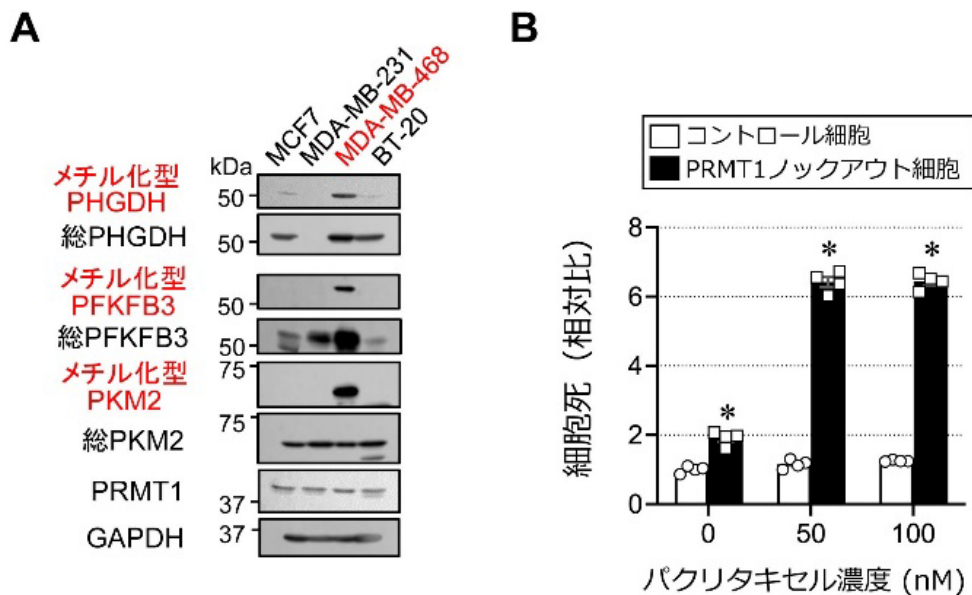


図 2. パクリタキセル抵抗性乳がん株では代謝酵素 PFKFB3、PKM2、PHGDH のメチル化レベルが高い。

- (A) 4 種類の異なる乳がん細胞株で代謝酵素のメチル化レベルを比較した。パクリタキセルに対し抵抗性を示す MDA-MB-468 細胞において 3 つの酵素のメチル化レベルが高い。
- (B) 3 つの代謝酵素のメチル化を制御するメチル基転移酵素 PRMT1 をノックアウトした MDA-MB-468 細胞では、パクリタキセルに対する耐性が解除された。

- ③ 実際のトリプルネガティブ乳がん患者の術前組織診断 (注 8) で使用されたサンプルを用いて、組織切片上の代謝物の分布をイメージメタボロミクス (注 9) にて検出を試みるとともに、上記の代謝酵素のメチル化の度合いを免疫染色法にて判定しました。その結果、がん細胞集塊部において脂肪酸の合成および分解に関与する代謝物の集積が認められたと同時に、上記の 3 つの酵素 (PFKFB3、PKM2、および PHGDH) のメチル化型ががん細胞の核内に染色されました (図 3A、B)。また、術前化学療法による病理学的完全奏効 (pathological complete response: pCR) (注 10) が得られた患者の検体 (5 例) と得られなかった患者 (non-pCR) 検体 (4 例) で染色比較したところ、non-pCR の患者では有意にメチル化型酵素の核局在の割合が多くなっていることがわかりました (図 3C)。さらにマウスへのパクリタキセル耐性乳がんの腫瘍移植実験においても、PRMT1 欠損細胞

(3つの酵素のメチル化が起こらない)では対照群(耐性株)に比べてパクリタキセルによる腫瘍退縮効果が回復していました。これらのことから、上記3つの代謝酵素のメチル化はパクリタキセルに対する薬剤抵抗性の有無の指標となるとともに、メチル化修飾を人為的に抑制する事でパクリタキセルの腫瘍縮小効果の回復が見込める可能性がある事がわかりました。

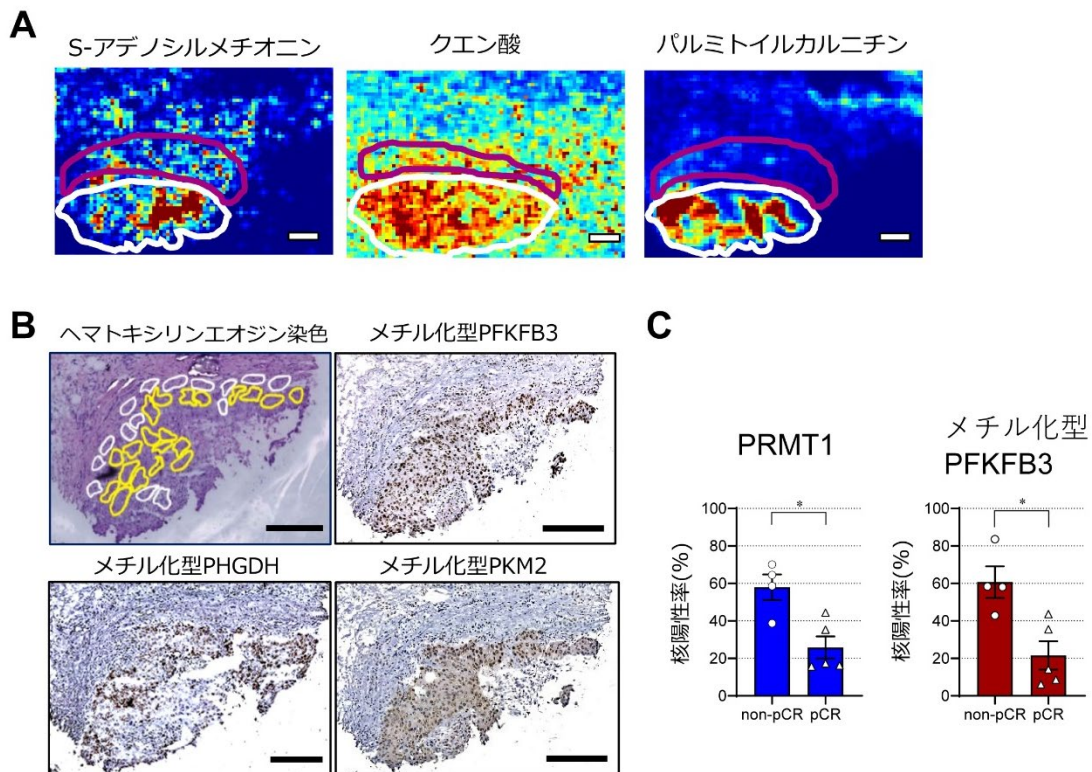


図3. トリプルネガティブ乳がん患者サンプルを用いた解析。

- (A) イメージングメタボロミクス解析の結果。白はがん集塊部、マゼンダはがん間質(注11)部を指す。セリン生合成系を経て産生されたとされる *S*-アデノシルメチオニン、および脂肪酸合成や分解途中で産生されるクエン酸、パルミトイルカルニチンの蓄積ががん部において認められた。
- (B) (A) と同一の凍結切片を用いた乳がん患者の針生検の免疫染色像。黄色で囲われた部分はがん細胞集塊部、白はがん間質部分を示す。がん集塊部において PFKFB3、PHGDH、PKM2 のメチル化型が核に局在する。
- (C) トリプルネガティブ乳がん患者で病理学的完全奏効に達した群 (pCR) と達しなかった群 (non-pCR) に分けてがん細胞におけるメチル基転移酵素 PRMT1 とメチル化型 PFKFB3 の核陽性細胞数をカウントした。non-pCR 群において有意に高いメチル化レベルが認められた。スケールバーは(A) 200 μ m、(B) 250 μ m を示す。

2. 研究の成果と意義・今後の展開

今回の研究で明らかになった、タンパク質のメチル化修飾を介した代謝経路切り替えにより、トリプルネガティブ乳がん細胞ではセリン生合成経路が活性化されることに起因する脂肪酸合成能の維持が耐性獲得のメカニズムの一端であることがわかりました。今後、代謝酵素のメチル化状態を術前検査で事前に調べることができれば、がんの悪性度や化学治療の奏効を予測する質的診断ができる可能性があります。さらに、脂肪酸代謝の阻害剤やメチル化

酵素の阻害剤とパクリタキセルとの薬剤併用によって、単剤では薄かった効果を増強し、薬剤抵抗性を解除できる可能性が示唆されました。本成果をより発展させることでこれまでのがん治療の限界を克服できる、代謝特性の違いに着目した新しいがん治療法の開発につながることを期待されます。

3. 特記事項

本研究は、JSPS 科研費 JP15H04355, JP17K19614, JP21K06072)、公益財団法人光科学技術研究振興財団、公益財団法人武田科学振興財団、国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 (ERATO) 末松ガスバイオロジープロジェクト (研究総括末松誠)、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 革新的先端研究開発支援事業 (AMED-CREST) 「疾患における代謝産物の解析および代謝制御に基づく革新的医療基盤技術の創出」研究開発領域 (研究開発総括 清水孝雄) における研究開発課題「代謝システム制御分子の系統的探索による治療戦略創出と創薬展開」(研究開発代表者 加部泰明)、国立研究開発法人科学技術振興機構 ムーンショット型研究開発事業「2040 年までに、主要な疾患を予防・克服し 100 歳まで健康不安なく人生を楽しむためのサステナブルな医療・介護システムを実現」研究開発プログラム「健康寿命伸長にむけた腸内細菌動作原理の理解とその応用」および「2050 年までに、超早期に疾患の予測・予防をすることができる社会を実現」研究開発プログラム「生体内ネットワークの理解による難治性がん克服に向けた挑戦」等多くの研究支援によって実施されました。なお、末松名誉教授は慶應義塾大学 WPI-Bio2Q に PI (Principal Investigator) として参画しています。また、末松教授 (当時) は、本研究に関する研究開発費を AMED から受給していません。

4. 論文

タイトル : PRMT1 sustains de novo fatty acid synthesis by methylating PHGDH to drive chemoresistance in triple-negative breast cancer.

タイトル和文 : PRMT1 は PHGDH をメチル化修飾し、新規脂肪酸合成を維持することでトリプルネガティブ乳がんの化学療法抵抗性を促進する。

著者名 : 山本雄広、林田 哲、眞杉洋平、押川清孝、早川典代、伊藤真衣、西銘千代子、鈴木雅実、永山愛子、河合佑子、菱木貴子、松浦友美、内藤善子、久保亜紀子、山本有紗、吉岡佑士郎、倉堀智一、長坂美咲、瀧澤美奈子、高野直治、河上浩司、坂元亨宇、涌井昌俊、山本卓志、北川雄光、加部泰明、堀澤健一、鈴木淳史、松本雅記、末松 誠

掲載誌 : *Cancer Research*

DOI : 10.1158/0008-5472.CAN-23-2266

【用語解説】

(注 1) トリプルネガティブ乳がん : ER (estrogen receptor : エストロゲン受容体)、PgR (progesterone receptor : プロゲステロン受容体)、HER2 (human epidermal growth factor receptor 2 : 上皮成長因子受容体 2) これら 3 つの蛋白発現が陰性である乳がんのサブタイプ。内分泌療法が奏効せず、有効的な治療標的が存在しない。現在は抗がん剤および免疫チェックポイント阻害剤が有効であるが、他のサブタイプと比較して転移再発率が高く予後が不良である。

(注 2) 解糖系 : ブドウ糖をピルビン酸や乳酸などの有機酸に分解する代謝経路。反応に酸素を必要としないため、嫌気的条件下においても ATP を産生できる代謝経路である。

- (注 3) 安定同位体：放射線を出さず、自発的には他の核種に変化しない同位体を指す。安定同位体標識された化合物はその質量数の違いで細胞内に元々存在する化合物との違いを質量分析計で区別することができる。今回の実験では質量数が通常よりも+1だけ重い炭素原子 (^{13}C) を含むブドウ糖をがん細胞に取り込ませ、一定時間後にブドウ糖がどのような経路で代謝されたかを追跡調査した。
- (注 4) セリン生合成経路：解糖系の中間代謝物質 3-ホスホグリセリン酸から分岐し、3段階の酵素反応によってアミノ酸であるセリンを生合成する代謝系経路。本経路で生じたセリンはグリシンに代謝され核酸の材料となる経路、ホモシステインと縮合して硫黄代謝へつながる経路、2段階目の酵素 PSAT1 (ホスホセリンアミノトランスフェラーゼ 1) によって α ケトグルタル酸の産生を通じて脂肪酸代謝合成へつながる経路など、細胞増殖の材料供給経路へのハブ代謝経路として重要である。
- (注 5) 代謝酵素：体内に吸収された栄養素を分解する酵素群。ここでいう代謝酵素はブドウ糖由来の炭素骨格を有する代謝物を代謝する酵素群を指す。
- (注 6) 翻訳後修飾：mRNA の遺伝情報によって合成されたタンパク質が、その翻訳終了後に細胞内外からの何らかの刺激によって、化学官能基が特定のアミノ酸の側鎖に付加される事。付加された官能基の種類や部位によって、タンパク質の活性や細胞内局在、あるいは安定性が変化することが知られている。
- (注 7) メチル化修飾：DNA や RNA、たんぱく質、脂質などさまざまな基質にメチル基 ($-\text{CH}_3$) が結合する修飾様式を指す。メチル基転移反応はメチオニン代謝の中間代謝物質 S-アデノシルメチオニン (SAM) がメチル基転移酵素によってメチル基が供与されることによって起こる。たんぱく質の場合は主にアルギニン、リジン残基がメチル化修飾を受け、その機能調節に重要な翻訳後修飾である。
- (注 8) 術前組織診断：腫瘍の位置を確認しながら、針で穿刺を行うことで乳がん組織を取り出して病変組織を病理学的に観察・診断すること。
- (注 9) イメージングメタボロミクス：組織等の薄切試料を用いて、組織切片上の空間位置情報を残したまま 2次元の質量分析等によって代謝産物を部位特異的に検出すること。この技術により代謝物の分布情報が測定・および相対存在量を知ることができる。
- (注 10) 病理学的完全奏効 (pathological complete response: pCR)：化学療法を先行した患者に対して手術を行い、摘出した病変組織を、顕微鏡を用いて検査したところ、病理学的にがん細胞が化学療法によって完全に消失したと確認された状態。
- (注 11) がん間質：がん細胞は繊維芽細胞や血管細胞や免疫細胞など周囲の環境から増殖に必要な因子や、栄養、足場の提供を受けて増殖や進展を引き起こす事が知られているが、このようにがん細胞を取り巻く、異種かつ多様な細胞およびコラーゲンなどのタンパク質成分の総称をがん間質と呼ぶ。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部 医化学教室

専任講師 山本雄広 (やまもとたけひろ)

TEL : 03-5363-3063 FAX : 03-5363-3466 E-mail : take-y@keio.jp

慶應義塾大学医学部 外科学教室

専任講師 林田 哲 (はやしだてつ)

秘書 小野 祐子 (おの ゆうこ)

TEL : 03-5363-3802 FAX : 03-3355-4707 E-mail : yukorascal@keio.jp

公益財団法人 実験動物中央研究所

所長 末松 誠 (すえまつまこと)

TEL : 044-201-8516 FAX : 044-201-8511 E-mail : gasbiology@ciea.or.jp

公益財団法人 実験動物中央研究所 広報室

〒210-0821 神奈川県川崎市川崎区殿町 3-25-12

TEL : 044-201-8516 FAX : 044-201-8511 E-mail : pr-office@ciea.or.jp

<https://www.ciea.or.jp/>

【本リリースの配信元】

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課：奈良・岸

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL : 03-5363-3611 FAX : 03-5363-3612 E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp

<https://www.med.keio.ac.jp>