

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ
「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
(英語) AMED CREST: Creation of Innovative Technology for Medical Applications Based on the Global Analyses and Regulation of Disease-Related Metabolites
- 研究開発課題名： (日本語) 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
(英語) Development of a novel medical application by systematic mining of metabolism regulator molecules
- 研究開発担当者 (日本語) 慶應義塾大学医学部医化学教室 専任講師 加部泰明
所属 役職 氏名： (英語) Department of Biochemistry, School of Meidicine, Keio University
Associate Professor, Yasuaki Kabe
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 代謝システム制御薬による難治性がん制御法の開発」および「宿主・寄生体連関における代謝調節技術の開発
開発課題名： (英語) Development of a novel therapeutic system against intractable cancer and inflammation disease
- 研究開発分担者 (日本語) 慶應義塾大学医学部医化学教室 専任講師 加部泰明
所属 役職 氏名： (英語) Department of Biochemistry, School of Meidicine, Keio University
Associate Professor, Yasuaki Kabe

II 成果の概要（総括研究報告）

・ 研究開発代表者による報告の場合

（和文）

本研究課題は、疾患などによって変動・制御される代謝システム制御分子に関して、その受容体候補探索を活用し、生物学的意義を解明して創薬に展開することを目的とする。これを遂行するために4つの要素技術、(1) 臨床がん検体などのタンパク発現のプロファイリング可能な抗体基盤プロテオミクス解析システム、(2) 代謝物の変換を追跡できる metabolomics 技術および、代謝物の組織内分布を高空間分解能でイメージングできる Imaging MS 技術、(3) 低分子代謝物などの特異的受容体候補を細胞・組織から探索可能な affinity nanobeads 技術、(4) スクリーニングした候補化合物の動物疾患モデル動物における解析技術、を駆使する事により以下の4つの実施項目を推進している。

研究項目① 天然有機化合物による新たな抗がん標的を介した新規抗がん剤の開発

研究項目② Met/Cys など含硫物質の代謝制御を介したがん治療システムの開発

研究項目③ 芳香族アミノ酸によるがん増殖の抑制作用

研究項目④ 宿主・寄生体連関における代謝調節技術の開発

平成 28 年度の研究成果としては、膜タンパク質 PGRMC1 の結晶構造解析により世界に先駆けてその詳細な分子構造を明らかとし、難治性がんを含む悪性腫瘍において PGRMC1 はヘムにより重合化して、がん増殖に関わる EGFR と会合して、これによるがん増殖シグナルを増強する明らかとした (*Nature Commun.* 2016)。このような PGRMC1 の新規の構造情報を基に、現在これに結合してその機能を阻害する天然化合物を見出しており、この知見をベースに新たな抗がん剤の開発を推進している。また、sigma 2 ligand と呼ばれる PGRMC1 に結合する候補化合物の検証を行い、その抗癌作用についても検証している (*Parmaicol. Res.* 2017)。さらに、腸管内で大量に生成される酪酸やプロピオン酸などの短鎖脂肪酸類の新規受容体の同定に成功し、短鎖脂肪酸が腸管免疫の活性化することによりサルモネラなどの病原菌感染の防御機能を発揮する事を見出している。また、 ω 9 型の不飽和脂肪酸であるオレイン酸の新規受容体の同定に成功し、オレイン酸の生成が慢性肝炎やこれが進行した肝癌発症に大きく関わる事を明らかとしている (*Gastroenterology*, 2017)。

また分担研究者の田久保らは、p38MAPK アイソザイムの p38 α が造血幹・前駆細胞のストレス下の増殖に重要な役割を果たすことをノックアウトマウスとメタボローム解析を駆使して見出した (*Cell Stem Cell* 2016)。造血ストレスが負荷された造血幹・前駆細胞は p38 α /Mitf/Impdh2 シグナルを誘導することで増殖に必要なアミノ酸やプリン体関連代謝物の量を増加させる。その結果造血幹・前駆細胞の増殖が可能となり、ストレスからの造血恒常性の回復を促進するシグナルであることが示された。これらの知見はストレスを受けながらも活発に増殖する癌細胞でも同様であると考えられ、病態生理や治療標的の解明・同定の一助となることが期待される。

(英文)

Our research aims to develop a novel medical application system based on our original information about binding of candidate compounds with target proteins, which concern metabolic regulation. In this program, we proposed four main projects as follows:

1. Regulation of the PGRMC1-mediated cancer progression by natural compounds
2. Development of novel anti-cancer strategy by controlling sulfur amino acid metabolism
3. Metabolic regulation of cancer cells by aromatic amino acids
4. Regulation of enteric immune-response by using fatty acids

Among these analyses, we have revealed the x-ray crystal structure of PGRMC1, which was highly expressed in several malignant cancer cells. We showed that PGRMC1 formed the heme-mediated dimer structure, and this dimerization up-regulated the EGFR-mediated cancer proliferation and the cytochrome P450-mediated chemoresistance (*Nature Commun.* 2016). On the basis of the structural information of PGRMC1, we have found that some natural compounds specifically bound to PGRMC1 and interfered with the PGRMC1-mediated cancer progression. We also analyzed the PGRMC1-binding property with sigma 2 ligands, which were known as anti-cancer agents (*Pharmacol. Res.* 2017). Furthermore, we have identified a novel binding protein for short-chain fatty acids (butyrate and propionate), which were abundantly produced in intestine. We found that short-chain fatty acids protected against Salmonella-infection by activating innate immune response. We also reported that oleic acids associated in hepatic cancer development by regulating its novel binding proteins (*Gastroenterology*, 2017).

Hematopoietic stem cells (HSCs) maintain quiescence by activating specific metabolic pathways, including glycolysis. We do not yet have a clear understanding of how this metabolic activity changes during stress hematopoiesis, such as bone marrow transplantation. We reported a critical role for the p38MAPK family isoform p38 α in initiating hematopoietic stem and progenitor cell (HSPC) proliferation during stress hematopoiesis in mice. We found that p38MAPK is immediately phosphorylated in HSPCs after a hematological stress, preceding increased HSPC cycling. Conditional deletion of p38 α led to defective recovery from hematological stress and a delay in initiation of HSPC proliferation. Mechanistically, p38 α signaling increases expression of inosine-5'-monophosphate dehydrogenase 2 in HSPCs, leading to altered levels of amino acids and purine-related metabolites and changes in cell-cycle progression in vitro and in vivo. Our studies have therefore uncovered a p38 α -mediated pathway that alters HSPC metabolism to respond to stress and promote recovery (*Cell Stem Cell* 2016). These observations implicate potential applications of tumor pathophysiology and therapy.

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

III 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 件、国際誌 11 件)

1. Kabe Y, Yamamoto T, Kajimura M, Sugiura Y, Koike I, Ohmura M, Nakamura T, Tokumoto Y, Tsugawa H, Handa H, Kobayashi T, Suematsu M. Cystathionine β -synthase and PGRMC1 as CO sensors. *Free Radic Biol Med.* 99:333-344 (2016).
2. Nishimoto K, Seki T, Hayashi Y, Mikami S, Al-Eyd G, Nakagawa K, Morita S, Kosaka T, Oya M, Mitani F, Suematsu M, Kabe Y, Mukai K. Human Adrenocortical Remodeling Leading to Aldosterone-Producing Cell Cluster Generation. *Int J Endocrinol.* 2016:7834356 (2016).
3. Takeshita M, Kuno A, Suzuki K, Matsuda A, Shimazaki H, Nakagawa T, Otomo Y, Kabe Y, Suematsu M, Narimatsu H, Takeuchi T. Alteration of matrix metalloproteinase-3 O-glycan structure as a biomarker for disease activity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 18(1):112 (2016).
4. Kabe Y, Nakane T, Koike I, Yamamoto T, Sugiura Y, Harada E, Sugase K, Shimamura T, Ohmura M, Muraoka K, Yamamoto A, Uchida T, Iwata S, Yamaguchi Y, Krayukhina E, Noda M, Handa H, Ishimori K, Uchiyama S, Kobayashi T, Suematsu M. Haem-dependent dimerization of PGRMC1/Sigma-2 receptor facilitates cancer proliferation and chemoresistance. *Nat Commun.* 7:11030 (2016).
5. Suematsu M, Nakamura T, Tokumoto Y, Yamamoto T, Kajimura M, Kabe Y. CO-CBS-H2S Axis: From Vascular Mediator to Cancer Regulator. *Microcirculation.* 23(3):183-90 (2016).
6. Pati ML, Groza D, Riganti C, Kopecka J, Niso M, Berardi F, Hager S, Heffeter P, Hirai M, Tsugawa H, Kabe Y, Suematsu M, Abate C. Sigma-2 receptor and progesterone receptor membrane component 1 (PGRMC1) are two different proteins: Proofs by fluorescent labeling and binding of sigma-2 receptor ligands to PGRMC1. *Pharmacol Res.* 117:67-74 (2017).
7. Nishimoto K, Koga M, Seki T, Oki K, Gomez-Sanchez EP, Gomez-Sanchez CE, Naruse M, Sakaguchi T, Morita S, Kosaka T, Oya M, Ogishima T, Yasuda M, Suematsu M, Kabe Y, Omura M, Nishikawa T, Mukai K. Immunohistochemistry of aldosterone synthase leads the way to the pathogenesis of primary aldosteronism. *Mol Cell Endocrinol.* 441:124-133 (2017).
8. Uchida T, Nishimoto K, Fukumura Y, Asahina M, Goto H, Kawano Y, Shimizu F, Tsujimura A, Seki T, Mukai K, Kabe Y, Suematsu M, Gomez-Sanchez CE, Yao T, Horie S, Watada H. Disorganized Steroidogenesis in Adrenocortical Carcinoma, a Case Study. *Endocr Pathol.* 28(1):27-35 (2017).
9. Tamura A, Nishimoto K, Seki T, Matsuzawa Y, Saito J, Omura M, Gomez-Sanchez CE, Makita K, Matsui S, Moriya N, Inoue A, Nagata M, Sasano H, Nakamura Y, Yamazaki Y, Kabe Y, Mukai K, Kosaka T, Oya M, Suematsu S, Nishikawa T. Somatic KCNJ5 mutation occurring early in adrenal development may cause a novel form of juvenile primary aldosteronism. *Mol Cell Endocrinol.* 441:134-139. (2016).

10. Tokumoto Y, Tamaki S, Kabe Y, Takubo K, Suematsu M. Quiescence of adult oligodendrocyte precursor cells requires thyroid hormone and hypoxia to activate Runx1. *Sci Rep.* 21;7(1):1019 (2017).
11. Lai KKY, Kweon SM, Chi F, Hwang E, Kabe Y, Higashiyama R, Qin L, Yan R, Wu RP, Lai K, Fujii N, French S, Xu J, Wang JY, Murali R, Mishra L, Lee JS, Ntambi JM, Tsukamoto H. Stearoyl-CoA Desaturase Promotes Liver Fibrosis and Tumor Development in Mice via a Wnt Positive-Signaling Loop by Stabilization of Low-Density Lipoprotein-Receptor-Related Proteins 5 and 6. *Gastroenterology.* ;152(6):1477-1491. (2017).

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 「新規ガス受容体 PGRMC1 の構造的機能制御の解明」, 第 14 回日本ヒトプロテオーム学会, 加部泰明, 2016/7/28, 国内
2. 「新規ガス受容体 PGRMC1 の構造的機能制御の解明」, 第 89 回日本生化学会大会, 加部泰明 2016/9/26, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ
「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
(英語) AMED CREST: Creation of Innovative Technology for Medical Applications Based on the Global Analyses and Regulation of Disease-Related Metabolites
- 研究開発課題名： (日本語) 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
(英語) Development of a novel medical application by systematic mining of metabolism regulator molecules
- 研究開発担当者 (日本語) 慶應義塾大学医学部医化学教室 専任講師 加部 泰明
所属 役職 氏名： (英語) Department of Biochemistry, School of Medicine, Keio University
Associate Professor, Yasuaki Kabe
- 実施期間： 平成 29 年 4 月 1 日 ～ 平成 30 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) Met/Cys など含硫物質の代謝制御を介したがん治療システムの開発
開発課題名： (英語) Development of novel therapeutic strategy for cancers by controlling sulfur amino acid metabolism.
- 研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター研究所・早期診断バイオマーカー開発部門・
ユニット長・本田 一文
所属 役職 氏名： (英語) Division of early detection biomarker for cancer, National Cancer
Center Research Institute, Laboratory head, Kazufumi Honda

II 成果の概要（総括研究報告）

・ 研究開発代表者による報告の場合

・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：加部 泰明 総括研究報告を参照。

国立がん研究センター研究所では、抗体基盤プロテオミクスを利用して化学療法耐性卵巣がんの特異的に発現するアミノ酸代謝酵素を同定した。同酵素を過剰発現した卵巣がん細胞株は非発現卵巣がん細胞株に比較してシスプラチンに対する細胞障害活性が顕著に低下した。同酵素に対して抑制効果を持つ低分子化合物とシスプラチンを同時投与すると、細胞障害活性が *in vitro*, *in vivo* ともに向上した。同酵素の抑制を基軸とした新規卵巣がん治療戦略の概念を実証した。

III 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 6件）

1. Takahashi N, Iwasa S, Fukahori M, Sudo K, Sasaki Y, Shoji H, Honma Y, Okita NT, Takashima A, Hamaguchi T, Boku N, Shimada Y, **Honda K**, Yamada T, Yamada Y. A phase I study of the combination of panitumumab and bevacizumab in KRAS wild-type colorectal cancer patients previously treated with fluoropyrimidine, oxaliplatin, irinotecan and bevacizumab. ***Cancer Chemother Pharmacol*** 2016 Sep;78(3):567-75. doi: 10.1007/s00280-016-3111-x. Epub 2016 Jul 20.
2. Miura N, Kamita M, Kakuya T, Fujiwara Y, Tsuta K, Shiraishi H, Takeshita F, Ochiya T, Shoji H, Huang W, Ohe Y, Yamada T, **Honda K**. Efficacy of adjuvant chemotherapy for non-small cell lung cancer assessed by metastatic potential associated with ACTN4. ***Oncotarget***. 2016 May 31;7(22):33165-78. doi: 10.18632/oncotarget.8890.
3. Kakuya T, Mori T, Yoshimoto S, Watabe Y, Miura N, Shoji H, Onidani K, Shibahara T, **Honda K**. Prognostic significance of gene amplification of ACTN4 in stage I and II oral tongue cancer. ***Int J Oral Maxillofac Surg***. 2017 Apr 3. pii: S0901-5027(17)31345-0. doi:
4. **Honda K**, Srivastava S. Potential usefulness of apolipoprotein A2 isoforms for screening and risk stratification of pancreatic cancer. ***Biomark Med***. 2016 Nov;10(11):1197-1207. Epub 2016 Sep 27. DOI: 10.2217/bmm-2016-0209
5. Yoneyama T, Ohtsuki S, **Honda K**, Kobayashi M, Iwasaki M, Uchida Y, Okusaka T, Nakamori S, Shimahara M, Ueno T, Tsuchida A, Sata N, Ioka T, Yasunami Y, Kosuge T, Kaneda T, Kato T, Yagihara K, Fujita S, Huang W, Yamada T, Tachikawa M, Terasaki T. ***PLoS One***. 2016 Aug 31;11(8):e0161009. doi: 10.1371/journal.pone.0161009. eCollection 2016.
6. Shoji H, Tada K, Kitano S, Nishimura T, Shimada Y, Nagashima K, Aoki K, Hiraoka N, Honma Y, Iwasa S, Takashima A, Kato K, Boku N, **Honda K**, Yamada T, Heike Y, Hamaguchi T. The

peripheral immune status of granulocytic myeloid-derived suppressor cells correlates the survival in advanced gastric cancer patients receiving cisplatin-based chemotherapy. ***Oncotarget***. 2017 In press.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Hirokazu Shoji, Ken Kato, Seich Yoshimoto, Kaoru Onidani, Nami Miura, ***Kazufumi Honda***. Next generation sequencing of circulating tumor cells isolated from the peripheral blood of patients with head and neck, and gastrointestinal cancer. EUROPEAN SOCIETY FOR MEDICAL ONCOLOGY (ESMO) Congress 2016, 2016/10/7-11. Copenhagen Denmark. (Poster).

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし

(4) 特許出願
なし

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ
「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
(英語) AMED CREST: Creation of Innovative Technology for Medical Applications Based on the Global Analyses and Regulation of Disease-Related Metabolites

研究開発課題名： (日本語) 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
(英語) Development of a novel medical application by systematic mining of metabolism regulator molecules

研究開発担当者 (日本語) 慶應義塾大学医学部医化学教室 専任講師 加部泰明
所属 役職 氏名： (英語) Department of Biochemistry, School of Medicine, Keio University
Associate Professor, Yasuaki Kabe

実施期間： 平成28年 4月 1日 ～ 平成29年 3月31日

分担研究 (日本語) 宿主・寄生体連関における代謝調節技術の開発
開発課題名： (英語) Development of metabolism-modulating technologies based on the understanding of host-parasite relationships

研究開発分担者 (日本語) 生体恒常性プロジェクト プロジェクト長 田久保 圭誉
所属 役職 氏名： (英語) Department of Stem Cell Biology, Project director, Keiyo Takubo

II 成果の概要（総括研究報告）

- ・ 研究開発代表者による報告の場合
- ・ 研究開発分担者による報告の場合
研究開発代表者：慶應義塾大学・医学部・加部泰明 総括研究報告を参照。

III 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 2 件）

1. Karigane D, Kobayashi H, Morikawa T, Ootomo Y, Sakai M, Nagamatsu G, Kubota Y, Goda N, Matsumoto M, Nishimura EK, Soga T, Otsu K, Suematsu M, Okamoto S, Suda T, *Takubo K, p38 α Activates Purine Metabolism to Initiate Hematopoietic Stem/Progenitor Cell Cycling in Response to Stress. Cell Stem Cell. 2016, 19(2):192-204.
2. *Tokumoto Y, Tamaki S, Kabe Y, Takubo K, Suematsu M. Quiescence of adult oligodendrocyte precursor cells requires thyroid hormone and hypoxia to activate Runx1. Sci Rep. in press

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Metabolic regulation of hematopoietic stem cell function 口頭 Keiyo Takubo 第 94 回日本生理学会大会 2017 年 3 月 29 日 浜松 国内
2. ストレス時の造血幹細胞の代謝特性を規定する分子機構 口頭 田久保圭誉 新学術領域研究「酸素生物学」公開シンポジウム(福岡) 2017 年 2 月 9 日国内
3. Metabolic and transcriptional control of hematopoietic stem cell fate during stress 口頭 Keiyo Takubo 千葉大学再生医療研究センターセミナー(千葉) 2016 年 12 月 9 日 国内
4. Transcription factor program for hematopoietic stem cell aging 口頭 Keiyo Takubo 第 39 回日本分子生物学会年会(横浜) 2016 年 11 月 30 日 国内
5. 造血幹細胞の加齢変化をもたらす転写因子プログラム 新学術領域研究「生殖エピゲノム」「幹細胞老化と疾患」第 4 回公開シンポジウム(三島) 口頭 田久保圭誉 2016 年 11 月 16 日 国内
6. 代謝から読み解く造血幹細胞 口頭 田久保圭誉 早稲田大学 TWIns セミナー(東京) 2016 年 11 月 7 日 国内
7. 造血幹細胞の急性・慢性ストレス応答の分子機構 口頭 田久保圭誉 中部大学生命健康科学研究所セミナー(春日井) 2016 年 10 月 4 日 国内
8. p38 α Activates Purine Metabolism to Initiate Hematopoietic Stem/Progenitor Cell Cycling in Response to Stress 口頭 Keiyo Takubo 第 89 回日本生化学会大会(仙台) 2016 年 9 月 26 日 国内

9. Identification of aging program for hematopoietic stem cells at single cell level 口頭 **Keiyo Takubo** Hematopoietic Stem Cell Researcher Symposium(東京) 2016年9月9日 国内
10. 冬眠する造血幹細胞を呼び起こす代謝シグナル 口頭 **田久保圭誉** 第4回がんと代謝研究会(鹿児島) 2016年7月8日 国内
11. Metabolic regulation of hematopoietic stem cells during stress 口頭 **Keiyo Takubo** 1st International Symposium on Stem Cell Aging and Disease(東京) 2016年6月29日 国内
12. A metabolic signal that awakens resting hematopoietic stem/progenitor cells 口頭 **Keiyo Takubo** 第14回幹細胞シンポジウム(淡路) 2016年6月20日 国内
13. 造血幹細胞を支える細胞内代謝マシナリー 口頭 **田久保圭誉** 第35回セルセラピーセミナー(前橋) 2016年6月17日 国内
14. 低酸素環境による造血幹細胞の制御と変容 口頭 **田久保圭誉** 第16回日本抗加齢医学会総会(国内) 2016年6月10日 国内
15. ニッチによる造血幹細胞の制御機構 口頭 **田久保圭誉** 東京医科歯科大学大学院セミナー(東京) 2016年5月30日 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
特記事項なし。

(4) 特許出願