

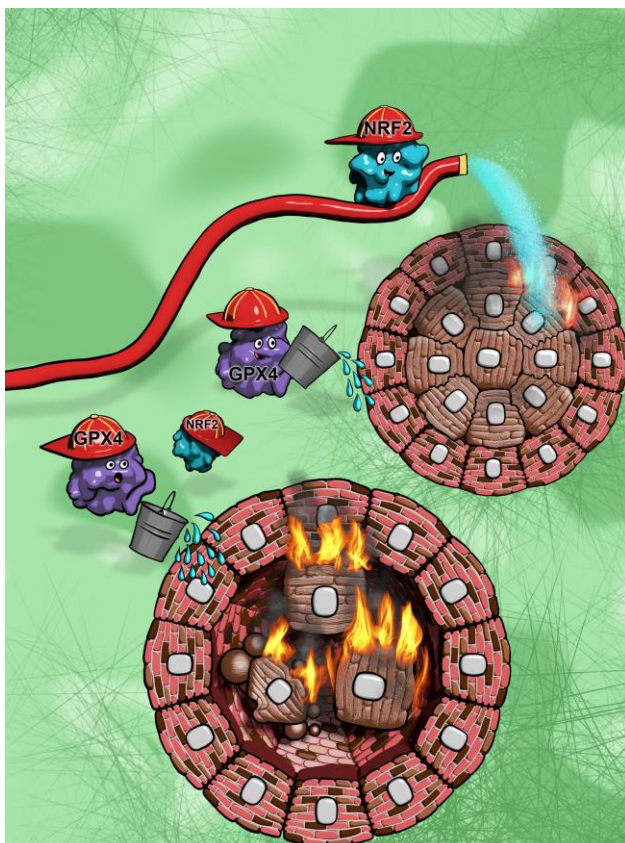
# 酸化ストレス防御が3次元癌スフェロイド形成に必須であることを発見 —抗酸化が腫瘍形成に必須であることの新証拠—

## 概要

京都大学白眉センター 高橋重成 特定准教授、ハーバード大学医学大学院 Joan S. Brugge 教授（ハーバードラドウィグ癌センター総責任者兼務）らの研究グループは、酸化ストレス誘導型転写因子 NRF2 の過活性化が3次元癌スフェロイド（球状集合体）の形成に必須であることを発見しました。さらに、事実上世界初となる3次元培養下での CRISPR スクリーニングを実施することで、NRF2 を介した脂質過酸化の抑制がそのメカニズムの一端を担うことを見出しました。

かつて、抗酸化サプリメントは癌抑制効果があると信じられてきましたが、近年行われた大規模疫学調査により、抗酸化サプリメントの摂取はむしろ癌の発生率を上昇させることが明らかにされました。しかし、酸化ストレスと癌との関連性は詳細が不明でした。

本研究では、肺癌など様々な腫瘍で過活性が認められ、生体内抗酸化物質のマスターレギュレーターとして機能する NRF2 に注目し、その効果を一連の肺がん細胞株において大規模に調査しました。その結果、標準的な培養方法である2次元（平面）培養では、NRF2 の過活性が細胞の増殖に影響を及ぼすことはなかった一方、生体内の状態により近い3次元培養下では NRF2 の過活性が細胞の生存・増殖に必須であることがわかりました。また3次元培養下において、CRISPR-Cas9 技術（2020年ノーベル化学賞）を用いた大規模スクリーニングを行った結果、NRF2 によるフェルトーシス（脂質過酸化による細胞死）の回避がスフェロイド内部細胞の生存に必要であることを明らかにしました。本研究成果は、3次元培養を用いた研究の更なる重要性を示すのと同時に、NRF2 の癌に対する新規創薬標的として応用が期待されます。さらに癌予防の観点において、抗酸化サプリメントは負の側面を持つ可能性を再認識させる結果となりました。



本研究成果は、2020年10月31日に米国の国際学術誌「Molecular Cell」のオンライン版に掲載されました。

図：NRF2 の過活性がスフェロイド内部細胞の生存に必須であることを示している。(© Rachel Davidowitz)

## 1. 背景

かつて数十年もの間、ビタミンCやビタミンEをはじめとした抗酸化サプリメントは癌抑制効果があると信じられてきましたが、近年行われた大規模疫学調査により、抗酸化サプリメントの摂取はむしろ癌の発生率を上昇させることが明らかにされました。

癌細胞は、正常細胞が本来存在している場所（ニッチ）を逸脱して生存・増殖することが知られていますが、近年の研究により、このようなニッチの逸脱は高いレベルの酸化ストレスにさらされることになり、抗酸化を含めた強固な酸化ストレス防御機能の獲得が癌化および癌の成長過程において必須であることが分かってきました。実際、放射線治療や一部の癌化学療法は酸化ストレスを亢進させることで癌細胞を攻撃することが知られており、癌細胞は正常細胞に比べて酸化ストレスに対して脆弱であるといえます。

このように、癌と酸化ストレスとの間には密接な関連性がありますが、癌細胞がどのようなメカニズムで酸化ストレスに対して適応しているのかは、詳細が不明でした。

## 2. 研究手法・成果

本研究では、生体内抗酸化物質のマスターレギュレーターとして機能する NRF2（東北大学山本らによって同定）に注目し、その効果を一連の肺がん細胞株において大規模に調査しました。NRF2 は肺癌をはじめとした様々な腫瘍で過活性が認められ、NRF2 活性と癌の悪性化・予後悪化との間には強い相関があることが知られています。

驚くべきことに、標準的な培養方法である 2 次元（平面）培養においては、NRF2 の過活性が細胞の増殖に影響を及ぼすことはなかった一方、生体内の状態により近い、マトリゲルを用いた 3 次元培養系では NRF2 の過活性が細胞の生存・増殖に必須であることが分かりました。また事実上世界初となる、3 次元培養下における CRISPR-Cas9 技術（2020 年ノーベル化学賞）を用いた大規模スクリーニングを行うことで、NRF2 の過活性化は GPX4（脂質過酸化を消去する酵素）と共に、スフェロイド内部細胞で生じるフェロトーシス（脂質過酸化に伴う細胞死）を抑制していることが明らかになりました。

興味深いことに、質量分析を用いた網羅的タンパク質発現量の比較を行った結果、NRF2 の発現をノックダウンさせると GPX4 を含む大部分のセレノシステイン含有タンパク質（セレノプロテイン）の発現が劇的に増大することがわかりました（詳細なメカニズムは未解明ですが、NRF2 は細胞内セレンウム濃度を制御している可能性が考えられます）。そこで、NRF2 と GPX4 の両者を阻害した結果、より効率的に癌細胞を死滅させることがわかりました。

## 3. 波及効果、今後の予定

本研究成果は、3 次元培養を用いた研究の更なる重要性を示すと同時に、NRF2 の癌に対する新規創薬標的として応用が期待されます。さらに癌予防の観点において、抗酸化サプリメントは負の側面を持つ可能性を再認識させる結果となりました。

## 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、Hoffmann-La Roche Ltd、National Institutes of Health (GM97645)などの支援を受けて実施されました。Harvard Medical School (米国)との共同研究です。

### <研究者のコメント>

好気性生物はミトコンドリアを獲得することで、分子状酸素 ( $O_2$ ) を利用した効率的な ATP 産生を可能にしました。しかし、 $O_2$  は非特異的な反応や代謝過程でどうしても反応性の高い活性酸素種を生み出してしまうため、生命体はミトコンドリアの獲得と同時に酸化ストレスとの戦いを強いられることになりました。ここで生じた強力な選択圧が、酵素的および非酵素的な抗酸化系の獲得を誘導したと思われます。

癌細胞は正常細胞とは異なる特有の代謝経路を有しており、これが癌細胞の増殖の基になっている一方、代謝系の異常は多量の活性酸素種を生み出してしまいます。特に、癌細胞の特徴であるニッチの逸脱は更なる活性酸素種の産生を引き起こすことが知られています。本研究により、癌化の過程においても進化と同様の選択圧が生じ、NRF2 の過活性など強固な酸化ストレス防御機構を有する癌細胞のみが腫瘍形成できることが示唆されました。

活性酸素種が織りなす生物応答は未だ多くが謎に包まれています。好気性生物にとって根幹を成す生命現象を解明するべく、今後も活性酸素種を切り口とした研究に邁進していきたいと思えます。



高橋 重成

白眉センター特定准教授

### <論文タイトルと著者>

タイトル：3D Culture Models with CRISPR Screens Reveal Hyperactive NRF2 as a Prerequisite for Spheroid Formation via Regulation of Proliferation and Ferroptosis

(NRF2 の過活性を介した増殖およびフェロトーシスの制御が癌スフェロイド形成において必要不可欠であることを、3次元培養と CRISPR スクリーニングの組み合わせにより示した)

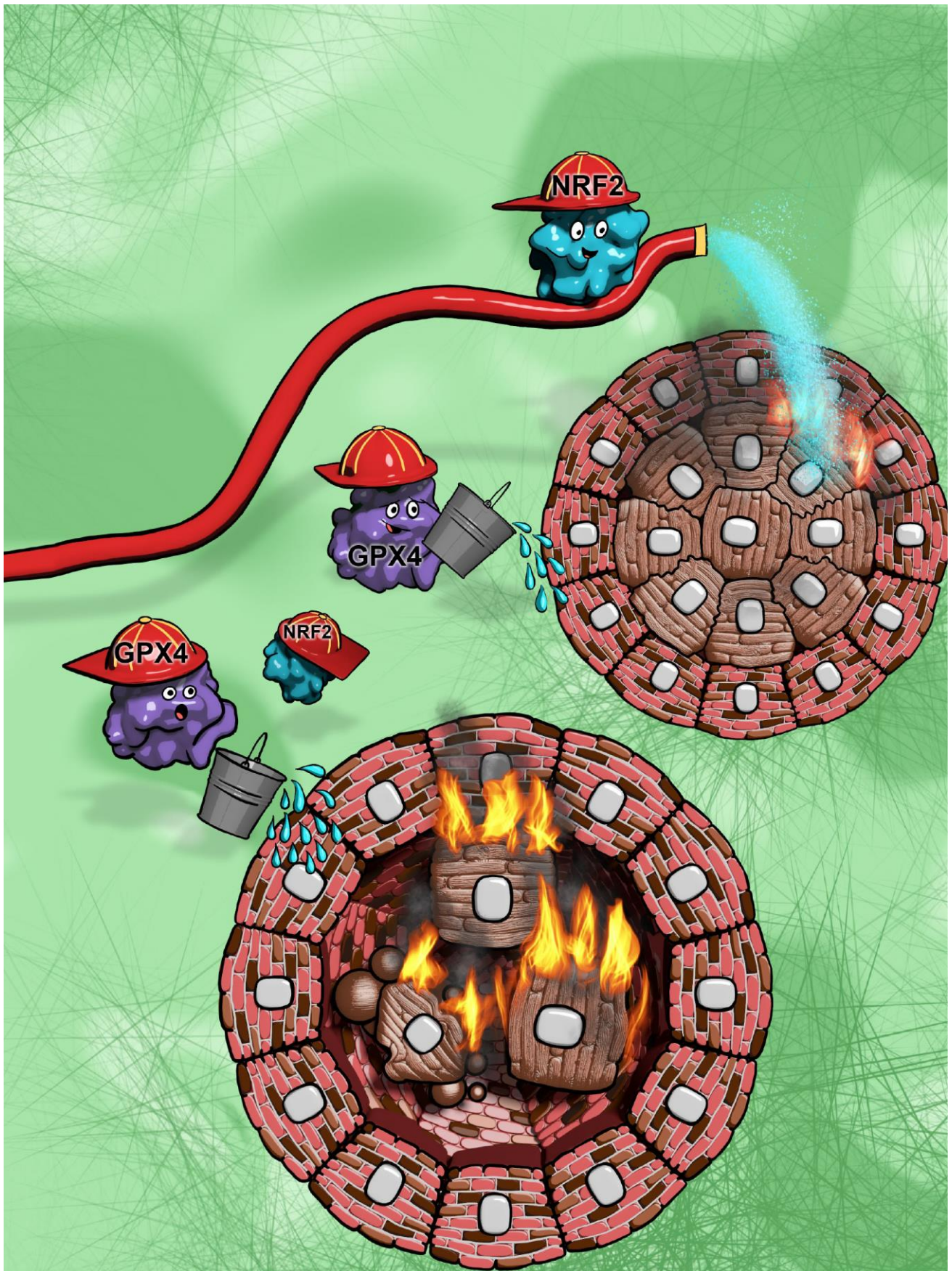
著者：Nobuaki Takahashi(共同責任著者), Patricia Cho, Laura M. Selfors, Hendrik J. Kuiken, Roma Kaul, Takuro Fujiwara, Isaac S. Harris, Tian Zhang, Steven P. Gygi, and Joan S. Brugge(共同責任著者)

掲載誌：*Molecular Cell*

DOI：<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.10.010>



< 参考図表 >



図：NRF2 の過活性がスフェロイド内部細胞の生存に必須であることを示している。(© Rachel Davidowitz)