

研 究 報 告 書
令和5年度：A課題

令和7年 4月30日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀 田 知 光 殿

研究施設 東京大学医学部附属病院

住 所 東京都文京区7-3-1

研究者氏名 山本 恵介

(研究課題)

膵癌肝転移における代謝クロストークの解明と治療標的化

令和6年 3月 5日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

【研究の背景と目的】

膵癌の腫瘍内部はあらゆる癌の中で最も低栄養である。このため膵癌は代謝特性を柔軟に改変し、線維芽細胞や神経細胞などの間質細胞から供給される代謝産物を最大限に利用して増殖する(Yamamoto K, Nature 2020; Banh RS & Yamamoto K, Nature 2021)。非必須アミノ酸の1種であるセリンは多くの同化経路の基質であり、その多寡は細胞増殖の律速要素となる。申請者らは、ヒト膵癌の約4割がこのセリン生合成経路の律速酵素 PHGDH を欠損しており(以下 PHGDH 欠損膵癌)、自力でセリンを合成できないため、膵原発巣では腫瘍内の感覚神経から放出されるセリンに依存して増殖することを発見した(Banh RS & Yamamoto K, Cell 2020)。しかし、原発巣とは微小環境の構成細胞が異なる肝転移巣において、どの間質細胞が PHGDH 欠損癌細胞にセリンを供給しているのかは不明であった。

肝細胞は全身の代謝恒常性維持に関わる主要な細胞であることから、肝細胞に着目して予備検討を行ったところ、膵癌肝転移巣近傍では肝細胞でのセリン生合成が増強していることを見出した。そこで、肝転移巣では PHGDH 欠損膵癌は肝細胞からセリン供給を受けて増殖するのではないかという仮説を立てた。本研究では、この仮説を検証し、膵癌細胞が肝細胞のセリン合成を促進する機序を解明するとともに、その機序を阻害することで PHGDH 欠損膵癌の肝転移に対する新しい制御法を開発することを目的として行った。

【方法】 マウス・ヒト膵癌細胞株より同種同系統/異種・肝転移移植モデルを作成する。コラゲナーゼ還流法によりマウス正常/担癌肝より肝細胞を単離、解析/培養に用いる。安定同位体トレーシングにより、膵癌/肝細胞における代謝変動を評価する。阻害剤ないし遺伝子改変マウスを用いて肝細胞におけるセリン生合成経路を遮断、肝転移巣の増殖に与える影響を評価する。

【結果】

マウス膵癌の転移巣が肝細胞に誘導する代謝変化を調べるため、マウス膵癌肝転移モデルを作成し、肝転移形成後に、コラゲナーゼ還流法を用いて担癌肝臓より肝細胞を単離した。得られた肝細胞を用いて RNA-seq にて代謝遺伝子の発現を解析したところ、肝転移を有するマウスでは肝細胞における PHGDH 発現が著明に増加していることを見出した。さらに、単離した肝細胞から抽出したタンパク質を用いたウェスタンブロッティングで、タンパクレベルでも PHGDH 発現が増加していることを確認した。また、免疫組織化学染色により、肝細胞における PHGDH 発現は、癌細胞近傍の肝細胞において特に増強していることを見出した。

上記のマウス生体内での結果を、*in vitro* 実験系で再現するために、単離したマウス肝細胞と、ヒトおよびマウス膵癌細胞の共培養系を確立した。PHGDH 欠損膵癌細胞は、セリン不含培地では増殖不能だが、マウス初代肝細胞との共培養により PHGDH 欠損膵癌のセリン欠乏培地での増殖が回復することを確認した。マウス初代培養肝細胞におけるセリン生合成経路酵素の発現は低く、単独培養下ではセリン不含培地にしても大きく変化しなかったが、膵癌細胞との共培養時には、肝細胞におけるセリン生合成経路酵素の発現が大幅に増加することを見出した。さらに、膵癌細胞、肝細胞中でのセリンの由来を探索するために、U13C グルコースを用いた安定同位体トレーシングを行った。U13C グルコースからセリン生合成経路を介して新規に合成されたセリンは 13C を 3 つ含む(M+3)ため、もともと細胞内に含まれていたセリン (M+0) と区別可能である。PHGDH 欠損膵癌では、セリン不含培地での単独培養では U13C グルコースに由来するセリン(M+3)は検出されなかったが、肝細胞と共培養した際には M+3 セリン分画が有意に増加したことから、肝細胞で U13C グルコースを基質として生合成されたセリン(M+3)が膵癌細胞に取り込まれていることが示唆された。

【考察】

当初、肝細胞におけるセリン生合成経路の活性化は、近傍のがん細胞によるセリン消費に伴う局所的なセリン濃度の低下に対する応答と考えていた。しかしながら、予想に反して、セリン不含培地で培養された肝細胞におけるセリン生合成経路は、肝細胞単独培養に比べ、PHGDH 欠損膵癌と共培養された際に大きく増加した。このことから、肝細胞における PHGDH 発現増加は、環境セリン濃度の低下に対する応答というよりは、膵癌細胞からの積極的な作用により誘導されている可能性が示唆された。具体的には、PHGDH 欠損膵癌は何らかの液性因子を介して肝細胞でのセリン生合成を誘導しているものと考えており、現在、この液性因子を同定するために、*in vitro* での共培養、*in vivo* の肝転移モデルのそれぞれから得られたがん細胞・肝細胞を用いた RNA-seq を計画・実施中である。さらに、液性因子の肝細胞上の責任受容体の同定、受容体と PHGDH 発現制御をつなぐ下流シグナル経路の解明を目指すとともに、これらの阻害による抗腫瘍効果の実証へと研究を発展させる予定である。

【謝辞】

本研究の遂行に多大なご支援を賜りましたがん研究振興財団に深く感謝申し上げます。