

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

東京大学医学部附属病院

山本 恵介

【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】

まず、PHGDH 欠損膵癌が肝細胞からセリン供給を受けるかを検証するため、単離マウス初代肝細胞とヒト・マウス膵癌細胞を用いた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できなかったが、マウス初代肝細胞との共培養により、その増殖が回復した。一方、マウス初代肝細胞では、単独培養下におけるセリン生合成経路酵素の発現は低く、セリン不含条件でも大きな変化は認められなかったが、膵癌細胞との共培養下では同経路酵素の発現が増加した。次に、U-¹³C グルコースを用いた安定同位体トレーシングにより、膵癌細胞内セリンの由来を解析した。PHGDH 欠損膵癌細胞をセリン不含培地で単独培養した場合、U-¹³C グルコース由来の M+3 セリンはほとんど検出されなかった。一方、肝細胞との共培養下では、膵癌細胞内の M+3 セリン分画が有意に増加した。これにより、肝細胞で新規合成されたセリンが PHGDH 欠損膵癌細胞に供給されていることが示唆された。

さらに、膵癌細胞が肝細胞のセリン合成を促進する機序を明らかにするため、RNA-seq により膵癌細胞および肝細胞の遺伝子発現を網羅的に解析した。肝細胞との共培養下で PHGDH 正常膵癌に比べて PHGDH 欠損膵癌で発現が増加し、かつ PHGDH 欠損膵癌において肝細胞との共培養時に単独培養時より発現が増加する液性因子を抽出した結果、17 個の候補因子を同定した。このうち因子 X については、PHGDH 欠損膵癌細胞における因子 X のノックアウト、因子 X に対する中和抗体、または因子 X 受容体阻害剤の添加により、肝細胞との共培養による膵癌細胞の増殖回復が消失することを確認した。さらに、マウス肝転移巣の組織間質抽出液を用いた ELISA 解析により、PHGDH 欠損膵癌肝転移では、PHGDH 正常膵癌肝転移に比べて因子 X 濃度が上昇していることを確認した。

【考察】

本研究により、PHGDH 欠損膵癌は、肝転移巣において肝細胞からセリン供給を受けて増殖する可能性が示された。特に、PHGDH 欠損膵癌細胞はセリン不含条件では増殖できないにもかかわらず、肝細胞との共培養により増殖が回復し、さらに膵癌細胞内に U-¹³C グルコース由来の M+3 セリンが増加したことから、肝細胞が PHGDH 欠損膵癌に対する代謝的支持細胞として機能していると考えられる。

また、肝細胞単独ではセリン不含条件でもセリン生合成経路は十分に誘導されなかった一方、膵癌細胞との共培養下では同経路酵素の発現が増加した。この結果は、PHGDH 欠損膵癌が肝細胞内のセリン生合成を能動的に誘導し、その産物を利用している可能性を示している。すなわち、肝転移巣における PHGDH 欠損膵癌の増殖は、癌細胞自身の代謝特性のみならず、転移先臓器である肝臓の代謝機能を利用する腫瘍-宿主間相互作用によって支えられていると考えられる。さらに、本研究では、PHGDH 欠損膵癌が肝細胞のセリン合成を誘導する媒介因子として因子 X を同定した。因子 X の遺伝学的または薬理的阻害により、肝細胞との共培養による膵癌細胞の増殖回復が消失したことから、因子 X はこの代謝相互作用の中心的因子である可能性が高い。また、マウス肝転移巣の組織間質抽出液において因子 X 濃度が

上昇していたことは、この機序が培養系にとどまらず、生体内の肝転移微小環境においても作動していることを支持する。

以上の成果は、PHGDH 欠損膵癌肝転移に対して、癌細胞そのものではなく、癌細胞による肝細胞代謝リプログラミングを標的とする新たな治療戦略の可能性を示すものである。今後は、因子 X 受容体の下流で肝細胞内のどのシグナル伝達経路が活性化され、どの転写因子を介して PHGDH 発現およびセリン生合成が誘導されるのかを明らかにする必要がある。さらに、肝細胞特異的 PHGDH 阻害、因子 X またはその受容体の阻害、あるいは下流シグナル伝達経路の阻害により、PHGDH 欠損膵癌肝転移の増殖を抑制できるかをマウスモデルで検証することで、肝転移に対する新規制御法の開発につながると期待される。

【謝辞】

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