

令和 4 年 4 月 29 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17693

研究課題名（和文）代謝リモデリングを介した膵癌進展メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of pancreatic cancer progression via metabolic remodeling

研究代表者

伊東山 瑠美（Itoyama, Rumi）

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・特定研究員

研究者番号：50868172

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：通常乏血性である膵癌には、特有の代謝リモデリングがあることが予想される。中でも非必須アミノ酸の一種であるセリンおよび、その生合成酵素であるPHGDHに着目した。本研究では外的セリン飢餓状態で、PHGDHの発現誘導によるセリン生合成亢進の新たなメカニズムをDNAメチル化という観点から明らかにした。

またin vitroだけでなく、臨床検体やin vivoでの検証も行っており、今後実臨床への応用に向けた研究の展開が期待できると考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌はあらゆるがんの中で最も難治とされるがんの一つである。通常、膵癌は血管に乏しい腫瘍であるため、血液を介した外部からの栄養を得るには過酷な環境であるにも関わらず、増殖し、転移することが知られており、外からの栄養の供給に頼らずに自らエネルギーを産生するための特殊な代謝経路を有しているのではないかと考えた。

我々はアミノ酸の一種であるセリンに注目し、このセリンを自ら活発に合成することでその増殖能を維持している可能性を見出し、またその経路を亢進させる新たなメカニズムを明らかにした。ここを治療ターゲットとすることで難治がんである膵癌の新たな治療法の開発に繋がるのではないかと考えている。

研究成果の概要（英文）：Pancreatic cancer is usually hypovascular, so that it is expected to have specific metabolic remodeling system. We focused on serine, which is one of the non-essential amino acids, and its biosynthetic enzyme, PHGDH. In this study, we clarified a new mechanism of serine biosynthesis enhancement by induction of PHGDH expression under external serine starvation from the view point of DNA methylation.

In addition to in vitro study, we have also conducted in vivo study and experiment with clinical samples, we expect to expand our research for clinical applications in the future.

研究分野：消化器外科学、腫瘍生物学

キーワード：膵癌 代謝リモデリング セリン PHGDH メチル化

1. 研究開始当初の背景

がん細胞は正常細胞とその代謝が異なることが知られており、周囲を取り巻く微小環境に適応するようその代謝をリモデリングしている。今回研究対象とした膵癌は、あらゆるがんの中でも最も予後不良である。通常、膵癌は乏血性であり、外からの栄養の供給という点からは過酷な環境であるが、それでも増殖することを考えると自らエネルギーを産生する特有の代謝リモデリング機構を有している可能性が高く、そのことが予後不良である一因なのではないかと考えた。

多くの代謝産物の中でも非必須アミノ酸の一種であるセリンに着目した。通常膵癌患者は低栄養状態で、低アミノ酸血症であることが知られているが、過去には膵癌患者の血中アミノ酸の中でもセリンが健常者と比較して有意に高値であることが報告されている。また、複数のがん種で、外的セリンの欠乏が抗腫瘍効果を有する可能性が示唆される一方で、膵癌においては外的セリン欠乏だけではその効果は認めないという報告もあり、膵癌は外的セリン飢餓に耐性を有する可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、未だ予後不良である膵癌の進展メカニズムについて、特にセリンを軸にした代謝リモデリングに着目し、明らかにすることで、これまでにない新たな治療ターゲットの開発につなげることを目的とした。

3. 研究の方法

セリン生合成酵素である PHGDH に焦点を当て、まずは膵癌切除検体における PHGDH の発現レベルと予後との関連、また血中セリン濃度との関連を検証した。

次に膵癌細胞株をセリン飢餓状態で培養した際の増殖能と PHGDH の発現変化を検討した。また、PHGDH の発現レベルと、PHGDH 発現の key regulator として知られる転写因子 ATF4 の結合部位のメチル化レベルを検証した。

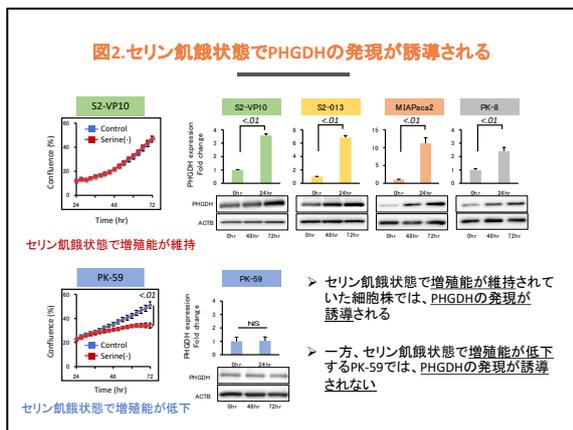
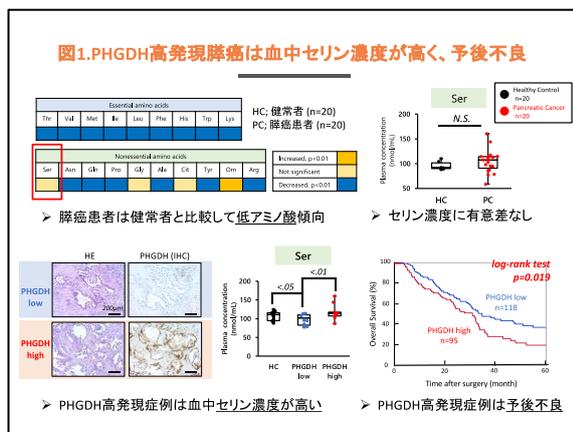
また、ヌードマウスに膵癌細胞株を皮下移植し、コントロール食とセリン欠乏食を与えた場合とでそれぞれ腫瘍重量の比較を行った。

4. 研究成果

まず、膵癌患者の血液を健常者と比較すると、概ね膵癌患者で低アミノ酸血症であったが、セリンに関しては有意差を認めなかった。同一患者での膵癌切除検体で PHGDH の高発現群、低発現群に分けて検証すると、PHGDH 高発現症例では血中セリン濃度が高いことがわかり、また予後不良であることがわかった (図 1)。

次に、5 種の膵癌細胞株をセリン欠乏状態で培養した際の増殖能を検証すると、PK-59 のみ外的セリン飢餓で増殖能が低下することがわかった。この時の PHGDH の発現レベルを検証すると、増殖能の低下がなかった 4 種の膵癌細胞株ではセリン飢餓に応じて PHGDH の発現が誘導されているが、PK-59 ではこの PHGDH の発現誘導が起きないことがわかった (図 2)。

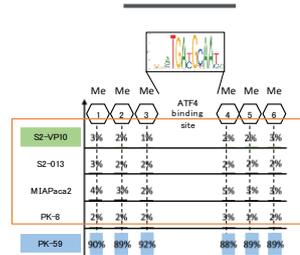
PHGDH の発現誘導のメカニズムに関しては過去に複数報告があり、その key regulator として転写因子である ATF4 の存在が知られているが、セリン飢餓状態で PHGDH 発現誘導が起きるものと起きない細胞株の間で、ATF4 そのものの発現レベルの違いや細胞内の局在に大きな違いは認められなかった。そこで、PHGDH のプロモーター領域に存在する ATF4 の結合部位を public database を用いて同定し、その周囲の CpG site のメチル化レベルを測定したところ、セリン飢餓状態で PHGDH の発現誘導が起きる 4 株では非常に低メチル化であることがわかったが、一方、発現誘導の起きない PK-59 においては



90%程度と高メチル化であることがわかった。このDNAメチル化レベルによる、セリン飢餓状態でのPHGDH発現誘導の違いが生じるメカニズムは新たな知見といえる。

セリン飢餓状態に対する振る舞いの異なる、PHGDHプロモーター領域が高メチル化である細胞株と、低メチル化である細胞株をそれぞれヌードマウスに皮下移植し、コントロール食とセリン欠乏食を与えた群とに分けて形成された腫瘍の重量を比較した結果、in vitroの実験同様、低メチル化膀胱癌細胞株は食餌内容によって腫瘍の重量に差はなかったが、高メチル化膀胱癌においてはセリン欠乏食を与えたマウスでの腫瘍がより小さいことが明らかになった。

図3. PHGDH発現誘導にはepigeneticな機序が関与



> セリン飢餓状態でPHGDHの発現が誘導されないPK-59のみ、ATF4 binding site周囲のCpGが高メチル化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伊東山瑠美, 石本崇胤, Luke Bu, 米村敦子, 三宅慧輔, 北村文優, 内原智幸, 山下洋市, 近本亮, 馬場秀夫
2. 発表標題 膵癌進展におけるPHGDH発現誘導とセリン生合成の意義
3. 学会等名 第120回 日本外科学会定期学術集会 一般演題
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Rumi Itoyama, Takatsugu Ishimoto, Kazuki Matsumura, Fumimasa Kitamura, Norio Uemura, Yosuke Nakao, Toshihiko Yusa, Takanobu Yamao, Takaaki Higashi, Kensuke Yamamura, Hiromitsu Hayashi, Katsunori Imai, Yo-ichi Yamashita, Hideo Baba
2. 発表標題 Mechanism of pancreatic cancer progression through enhanced serine biosynthesis
3. 学会等名 第32回日本肝胆膵外科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊東山 瑠美, 石本 崇胤, Luke Bu, 米村 敦子, 三宅 慧輔, 北村 文優, 秋山 貴彦, 林 洋光, 今井 克憲, 山下 洋市, 馬場 秀夫
2. 発表標題 PHGDH promoter 領域のメチル化膵癌は、セリン生合成を亢進することで予後に悪影響を及ぼす
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------