

令和 5 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20828

研究課題名（和文）肝細胞におけるセリン生合成経路を標的とした膵がん肝転移治療法開発の試み

研究課題名（英文）Targeting liver metabolism to control metastatic pancreatic cancer in the liver

研究代表者

山本 恵介（Yamamoto, Keisuke）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10608532

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：申請者は、ヒト膵癌の約4割が非必須アミノ酸の一つであるセリンの生合成経路を欠損していること、これらの膵癌は、膵臓原発巣では神経細胞からセリン供給を受けて生存していることを報告した。しかし、進行膵癌患者の大部分が罹患する肝転移病変において、セリン生合成経路欠損膵癌がどのようにしてセリンを獲得しているかは不明である。本研究では、肝転移巣近傍の肝細胞ではセリン生合成が増加していること、マウス初代肝細胞との共培養により、肝細胞で合成されたセリンが、セリン生合成経路欠損膵癌細胞に取り込まれ、その生存を促進することを明らかにした。現在、その詳細な機序の解明と治療標的化を目指した検討を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌は予後の悪い難治癌であり、治療法も限られていることから、新しい治療標的を見つけることが重要です。申請者は、膵癌の約4割の症例が非必須アミノ酸の一つであるセリンの生合成経路を欠損しており、原発巣に浸潤する神経細胞からのセリン供給に依存していることを報告しました。しかし、こうした膵癌細胞が、肝転移巣でどのようにしてセリンを獲得し生存しているのかは不明でした。本研究では、肝転移巣周辺の肝細胞がセリン合成を肩代わりし、癌細胞に供給していることを明らかにしました。その詳細な機序を解明し、これを抑制することで、転移性膵癌に対して特異性の高い、新規治療法の開発につながることを期待されます。

研究成果の概要（英文）：We previously reported that approximately 40% of pancreatic cancer cases lack serine synthesis pathway (SSP) and that these cancers depend on serine-supply from neural cells in the primary tumor in the pancreas. However, it has been unknown how metastatic pancreatic cancer cells acquire serine, especially in the liver metastasis. In the current study, we identified that hepatocytes are the major suppliers of serine to pancreatic cancer cells in the liver metastasis. Using coculture of pancreatic cancer cells and murine primary hepatocytes, we demonstrated that hepatocytes do produce and secrete serine, which promotes the growth of pancreatic cancer cells that lack SSP under serine-limited conditions. Currently, we are trying to understand the underlying mechanisms and to develop new therapeutic approaches that specifically target pancreatic cancer cells lacking SSP.

研究分野：消化器内科学

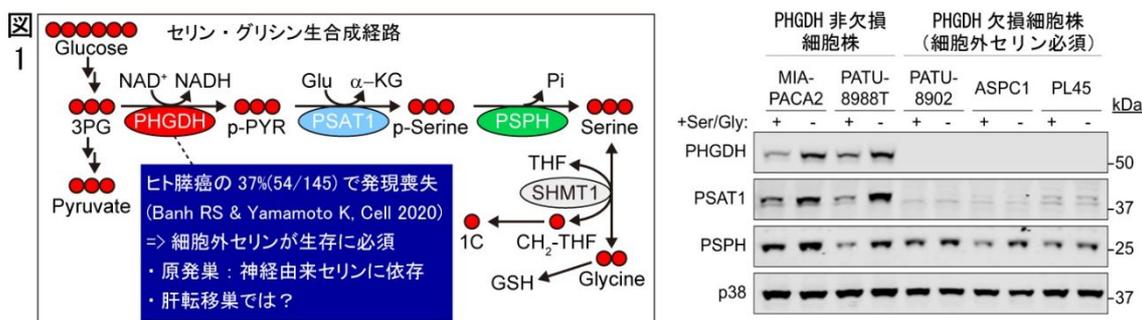
キーワード：膵癌 肝転移 セリン生合成経路

## 1. 研究開始当初の背景

膵癌は5年生存率が約10%と予後不良の難治癌である。治療選択肢も少なく、現時点では膵癌に対して有効な分子標的薬も免疫療法も存在しない(山本, Nature 2020; 山本, J Gastroenterol. 2022; 山本, Cancers 2022)。このため、患者ごとの膵癌の特性に基づいた、新規治療法の開発が喫緊の課題である。

膵癌は線維性間質を伴った乏血性の腫瘍を形成とし、腫瘍内部に高度な低酸素・低栄養環境を生じる。このような過酷な環境で生存するために、膵癌細胞は膵星細胞や神経細胞から栄養素の供給を受け (Parker SJ & 山本, Cancer Discov. 2020; Banh RS & 山本, Cell 2020)、自身の代謝を改変して適応するなど(山本, Nature 2020; 山本, Autophagy 2020; Biancur DE & 山本, Cell Metab 2021; Banh RS & 山本, Nature 2021)個性的な代謝特性を有している。申請者は、こうした膵癌の代謝特性の理解に基づいて、膵癌に特異的な脆弱性を同定し、新たな治療法の開発を目指して研究を行ってきた。

セリンは、ヒト膵癌の原発巣腫瘍内部でグルタミンに次いで2番目に不足しているアミノ酸である(Kamphorst JJ, Cancer Res 2015)。セリンは様々な生合成経路の基質であり、その確保は細胞の生存・増殖に必須である。通常、細胞は細胞外のセリンを取り込むが、これが不足した場合にはグルコースを基質としてセリンを生合成する。これまで、マウスモデルを用いた検討から、膵癌ではセリン生合成経路が亢進していると考えられてきたが(Maddocks ODK, Nature 2017)、我々は予想に反して、ヒト膵癌では約4割の症例がセリン生合成経路の律速酵素であるPHGDHの発現を喪失していることを発見した(Banh RS & 山本, Cell 2020)(図1)。重要なことに、これらPHGDH欠損/セリン生合成経路欠損膵癌細胞は、グルコースからセリンを生合成できないため、セリン不含培地では死滅する。しかしながら、膵癌マウスモデルを用いた検討では、セリン欠乏食餌でのPHGDH欠損膵癌の増殖は通常食餌の50%程度までの減少にとどまり、腫瘍の完全消失には至らなかった。その後の検討で、これは膵癌原発巣においては腫瘍内へ浸潤した神経細胞から膵癌細胞へセリンが供給されるためであることを発見した(Banh RS & 山本, Cell 2020)。一方で、原発巣とは癌細胞を取り巻く環境が異なっている肝転移巣において、PHGDH欠損膵癌がどのようにしてセリンを獲得しているのかは不明である。そこで、肝転移近傍に豊富に存在し、生体内の代謝恒常性の維持に中心的な役割を果たしている肝細胞が、転移膵癌細胞の代謝を支えているのではないかという仮説を立てた。



## 2. 研究の目的

「膵癌肝転移巣では、肝細胞でのセリン生合成の増加・細胞外放出が生じ、転移膵癌細胞へセリンが供給される」という仮説を検証し、「肝細胞におけるセリン代謝リプログラミングを標的とした、膵癌肝転移治療法の開発」を目標とする。

### 3．研究の方法

マウス・ヒト膵癌細胞株に加え、申請者が樹立・整備した患者由来膵癌オルガノイド・xenograft パネル（山本, Oncotarget 2016）を用い、同種同系統/異種・肝転移移植モデルを作成する（山本, Nature 2020）。コラゲナーゼ還流法により正常肝/担癌肝より肝細胞を単離し、解析・初代培養に用いる。安定同位体ラベルにより、癌細胞・肝細胞におけるセリン生合成経路のフラックスを解析する。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、肝転移巣に与える影響を評価する。患者検体での PHGDH 発現プロファイルに基づく治療方針決定の可能性を検討する。

### 4．研究成果

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。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エ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。これらのデータは当初の仮説を支持するものであり、現在さらなる検討を進めているところである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yamamoto Keisuke, Iwadate Dosuke, Kato Hiroyuki, Nakai Yousuke, Tateishi Keisuke, Fujishiro Mitsuhiro	4. 巻 57
2. 論文標題 Targeting autophagy as a therapeutic strategy against pancreatic cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 603 ~ 618
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-022-01889-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto Keisuke, Iwadate Dosuke, Kato Hiroyuki, Nakai Yousuke, Tateishi Keisuke, Fujishiro Mitsuhiro	4. 巻 14
2. 論文標題 Targeting the Metabolic Rewiring in Pancreatic Cancer and Its Tumor Microenvironment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 4351 ~ 4351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14184351	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kato Hiroyuki, Tateishi Keisuke, Iwadate Dosuke, Yamamoto Keisuke, Fujiwara Hiroaki, Nakatsuka Takuma, Kudo Yotaro, Hayakawa Yoku, Ijichi Hideaki, Otsuka Motoyuki, Kishikawa Takahiro, Takahashi Ryota, Miyabayashi Koji, Nakai Yousuke, Hirata Yoshihiro, Toyoda Atsushi, Morishita Shinichi, Fujishiro Mitsuhiro	4. 巻 114
2. 論文標題 HNF1B driven three dimensional chromatin structure for molecular classification in pancreatic cancers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1672 ~ 1685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15690	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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			
米国	New York University			