

課題番号 33

エネルギー代謝特性を標的とする新規肺がん治療法の開発

[1] 組織

代表者：田沼 延公

(宮城県立がんセンター)

対応者：岡田 克典

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

田中 遼太 (宮城県立がんセンター)

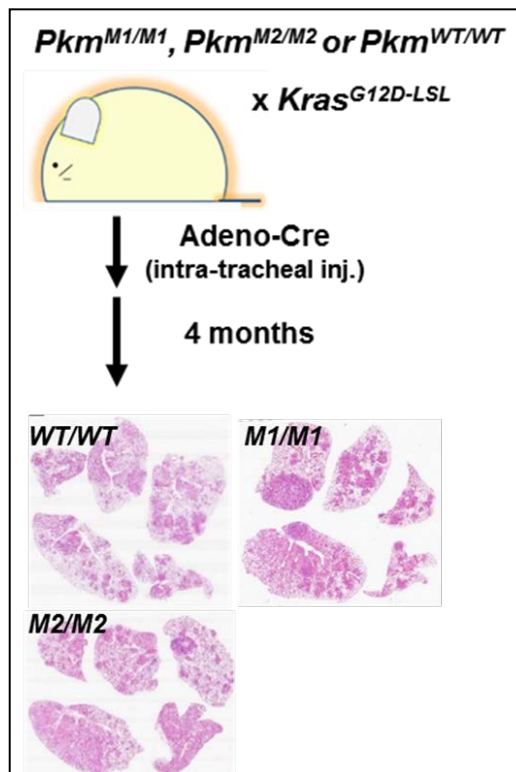
佐藤 卓 (宮城県立がんセンター)

研究費：物件費 20万

[2] 研究経過

エネルギー代謝特性を標的としたがん治療法の研究・開発は、近年ますますその重要性を増している。その実現に向けて、本共同研究では、肺がんのエネルギー代謝特性を解明することを目的として研究を行った。

以下、研究活動状況の概要を記す。腫瘍細胞では好気代謝が抑制されている(ワールブルグ効果)。定説では、“この形質が、がん様々な代謝上の利点をもたらす”とされてきたが、最近は反証も多い。いずれにしても、代謝と、がんの転移・治療抵抗性との密な関係が明らかになりつつも、不明の点が多く、その本態解明が待望されている。がんのワールブルグ効果における最重要因子の1つに Pkm (ピルビン酸キナーゼ M) がある。解糖系最終ステップを触媒するこの酵素は、構成的活性化型の Pkm1、条件的活性化型の Pkm2、という2つの isoform が選択的スプライシングで作分けられる (Pkm スイッチ)。細胞株の実験から、“Pkm2 へのスプライシングスイッチ”がワールブルグ効果に必須と報告されている。我々は、マウスでの遺伝子改変 (ノックイン) によって、マウス個体レベルで Pkm スイッチを不能化することに成功した。本共同研究では、それら Pkm 遺伝子改変マウスを用いた肺がん実験や、同マウス肺上皮細胞を用いた形質転換実験を行い、肺がんにおけるワールブルグ効果の意義を解明する。肺がんをモデルに、“がんの代謝特性を標的とする新規治療”開発のための基礎となるデータを収集した。共同研究の打ち合わせは、ほぼ隔月で行った。



[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、Pkm:Kras ダブルノックインマウスを用いて、個体レベルでの肺がん実験を行った。Cre リコンビナーゼを発現するアデノウイルスを気管内投与して、活性化変異型 Kras の発現を誘導した。その結果、Pkm1 が、Pkm2 よりも肺がんの進展を促進することが明らかになった。

第2に、*ex vivo* で肺がんを再現する実験系の構築に取り組んだ。近年、細胞外マトリックス製剤 (マトリゲルなど) を用いた3次元培養法により大腸上皮細胞などの培養が可能となっていることに着目し、同手法を肺上皮細胞に応用した。試行錯誤を経て、マウス肺上皮細胞を、その EGF 依存性を保ったまま、長期培養・増幅することに成功した。そこで、単離した肺上皮細胞に、SV40 large-T 抗原・活性化変異型 Kras ($Kras^{G12D}$)・活性化変異型 EGFR ($EGFR^{ex19del}$) 等を遺伝子導入した。ヌードマウスへの移植実験にて、SV40 large-T + $Kras^{G12D}$ あるいは SV40 large-T + $EGFR^{ex19del}$ 細胞が、造腫瘍能を獲得していることを確認できた。このような形質転

換は、Kras^{G12D}あるいはEGFR^{ex19del}のみを単独導入した細胞ではみられなかった。SV40 large-Tを単独で導入した場合にも、細胞の形質転換はみとめられなかった。従い、3次元培養肺上皮細胞の形質転換に、実際の生体内発がんと同様、p53やpRBに代表されるがん抑制機構の不活化とがん遺伝子活性化の両方が必須であることがしめされた。Kras^{G12D}形質転換細胞の増殖は、MEK阻害剤やFGFR阻害剤処理によって抑制された。EGFR^{ex19del}形質転換細胞由来の腫瘍は、EGFR阻害剤に非常に高い感受性をしめた。

第3に、前項で開発したex vivo肺発がん系を用いて、Pkmノックインマウス由来肺上皮細胞を形質転換し、その増殖や造腫瘍能を比較した。この検討により、Pkm1が、Pkm2よりもむしろ、腫瘍増殖を促進させることが明らかになった。詳細な検討から、Pkm1が、細胞のオートファジーを活性化することが明らかになった。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究で明らかになった成果は、Pkm1によるグルコース代謝の亢進が細胞自律的にがんを促進するという、腫瘍学分野における重大発見をもたらした。少なくとも一部のがんにおいては、Pkm1が新たな治療標的となることが期待される。また、Pkm1によるオートファジー制御という新しい研究領域の開拓（萌芽的研究の発見）に結びつき、今後の発展が期待されている。

[4] 成果資料

- (1) Sato T. ほか、投稿中。
- (2) Tanaka R. ほか、投稿中