

研 究 報 告 書
令和5年度：A課題

2025年 3月21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 兵庫医科大学

住 所 兵庫県武庫川町1-1

研究者氏名 大島 健司

(研究課題)

グルタミントランスポーターとPI3K/Akt阻害剤の併用による新規大腸がん治療法の開発

令和6年 3月 18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。

1. 研究の背景

がんの代謝を標的とする化学療法は、最も古くからある治療戦略の一つで、1940年代には白血病に対する葉酸代謝拮抗薬の有効性が報告されている。その後もL-アスパラギナーゼや5-フルオロウラシルなどの薬剤が開発され、現在でも臨床の現場で使用されているものも多い。しかしこれらの薬剤は、がん細胞以外の細胞にも作用し副作用が問題となる。近年、メタボローム解析などの技術革新により、がん細胞に特異性の高い代謝動態を解明し、それらを分子標的とする治療法の開発が試みられている。特にグルタミンがミトコンドリアのTCA回路に補充されるグルタミノリシスはがん細胞で亢進しており、グルタミン代謝を標的とする薬剤が近年開発されている。グルタミントランスポーターXの阻害剤や、グルタミン代謝酵素を幅広く阻害するグルタミン拮抗薬 6-Diazo-5-oxo-L-norleucine (DON) のプロドラッグ JHU083、DRP-104 はマウス同種移植、異種移植モデルで腫瘍縮小効果を示すことが報告されている。しかし、がん細胞の代謝可塑性により耐性が生じ、単剤での効果は限定的である。代謝の可塑性を引き起こすメカニズムの解明と、それを標的とする併用療法の開発が望まれている。

2. 研究の目的

本研究では、グルタミン代謝に関わる分子の中でも、細胞内グルタミン濃度の調整に直接的に関わるグルタミントランスポーターXに焦点をあて、Xの阻害剤への耐性を引き起こす大腸がん細胞の代謝可塑性のメカニズムを明らかにし、可塑性を引き起こす別の代謝経路やシグナル伝達経路を分子標的とする新たな大腸がん治療法の開発を行う。

3. 研究の結果

- ① ヒト大腸がん原発巣の切除検体 80 例 (*KRAS* 変異陽性 27 例、*NRAS* 変異陽性 3 例、*BRAF* 変異陽性 7 例、変異陰性 43 例) を用いてグルタミントランスポーターXの免疫組織化学染色を行った (倫理審査承認済み・第 4428 号)。隣接非がん部と比較し、がん部でXの発現が高く、さらに *RAS* 変異陽性例および *BRAF* 変異陽性例は変異陰性例よりもXの発現が高い傾向が認められた (*RAS* 変異陽性例 $p=0.001$, *BRAF* 変異陽性例 $p=0.0318$) (図 2)。また、肝転移巣を有する 13 症例でXの免疫組織化学染色を行ったところ、非がん部肝組織には発現が認められない一方で、肝転移巣では強い発現が認められた。
- ② *KRAS* 変異陽性大腸がん細胞株 HCT116 (WT/*KRAS* G13D)、(*KRAS* G13D/-)、(WT/-) および、*BRAF* 変異陽性大腸がん細胞株 RKO (WT/*BRAF* V600E/*BRAF* V600E)、(WT/-/-) を用いた検討により、MAPK 経路がXの発現を促進していることを見出している。
- ③ 次に、Xが大腸がんの治療標的になる可能性を検討した。in vitro においてXのknockdownおよび、Xの阻害剤は大腸がん細胞の増殖を抑制することを確認している。特に、*KRAS* 変異陽性大腸がん細胞株 HCT116 (*KRAS* G13D/-) では、(WT/-) よりも阻害剤への感受性が高い傾向が認められている。
- ④ Xの阻害剤への抵抗性を獲得した大腸がん細胞で生じる代謝変化と、発現が上昇している代謝酵素を、メタボローム解析と RNA-seq 解析を行い検討した。阻害剤への抵抗性を獲得した大腸がん細胞では、細胞内のセリンの増加とともにセリン合成酵素 Y の発現が増加しており、セリン合成に代謝がシフトしていることを見出している。また、細胞内のグルタチオンの減少を認め、Xの阻害剤とグルタチオン合成酵素である γ -glutamylcysteine synthetase 阻害剤 BSO との併用は相乗効果を示すことを見出している (Bliss score 39)。
- ⑤ Xの阻害剤への抵抗性を獲得した大腸がん細胞では、Akt/mTOR 経路の活性化が認められた。さらに、Xの阻害剤と Akt 阻害剤カピバセルチブおよび MK-2206 との併用は相乗効果を示すことを見出している (Bliss score 30)。また、大腸がん細胞株で Akt 阻害剤は Y の発現を低下させることを見出している。これは、X 阻害剤への抵抗性を獲得した大腸がん細胞のセリン合成への代謝シフトが Akt の活性化によるものであることを示唆している。

4. 今後の展望

Xの阻害剤への抵抗性を獲得した細胞でAkt/mTOR経路が活性化するメカニズムを解析する。また、ヒト大腸がんオルガノイド、マウス移植モデルを用いた治療実験を行う。

5. 本研究により得られた成果

(1) 腫瘍の進行に寄与する代謝酵素の機能解明

大島健司 第 70 回日本病理学会秋期特別総会、A 演説 (学術研究賞演説) 2024 年 11 月 7 日