

## 伊東山 瑠美 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

Metabolic shift to serine biosynthesis through 3-PG accumulation and PHGDH induction promotes tumor growth in pancreatic cancer

(PHGDH の発現誘導と 3-PG の蓄積を介したセリン生合成系への代謝シフトが膵癌の腫瘍増殖を促進する)

がん細胞はそれを取り巻く微小環境に応じて、細胞内代謝を変化させて適応している。一般に、膵癌は乏血性で間質組織に富むため、外からの栄養を取り込み難く、エネルギー源を自ら産生する必要があると考えられる。本研究では、非必須アミノ酸のセリンの生合成系に着目し、外的セリン飢餓状態での膵癌細胞の代謝シフトの分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

膵癌患者の血液サンプルを用いたアミノ酸分析、癌部の切除検体の免疫組織化学染色を行い、セリン生合成酵素の一つである Phosphoglycerate Dehydrogenase (PHGDH) の発現レベルを検討した。次に、膵癌細胞株を用いて、セリン飢餓の培養条件における増殖能の変化、その際の細胞内セリン濃度や PHGDH の発現の変化を分析した。さらに PHGDH 遺伝子プロモーター領域に存在する、主要な転写因子 ATF4 の結合部位近傍の CpG 配列のメチル化状態を pyrosequence 解析法で調べた。解糖系からセリン生合成系が分岐するため、これらの代謝経路の関係について、解糖系酵素 Phosphoglycerate Mutase 1 (PGAM1) のノックダウンとセリン飢餓を組み合わせた場合の代謝経路の解析を行った。

血中アミノ酸分析の結果、膵癌患者では低アミノ酸血症の傾向を呈していた。セリン濃度は健常者と患者の間に有意差はなかったが、癌部の PHGDH 高発現群がその低発現群に比べて血中セリン濃度が高値であった。臨床的に PHGDH 高発現群が予後不良であった。次に、5 種類の膵癌細胞株をセリン欠乏培地で培養して検討すると、PHGDH 遺伝子プロモーター領域が高メチル化であった PK-59 では、セリン飢餓条件で有意に増殖能が減少した。他方、低メチル化であった他 4 種の膵癌細胞株では、セリン飢餓条件で PHGDH の発現が誘導されて、セリン生合成が亢進することで増殖能が維持されていた。低メチル化の細胞での PHGDH ノックダウンによってセリン飢餓時の増殖能は低下した。また、解糖系酵素 PGAM1 のノックダウン細胞をセリン飢餓条件下に培養すると、セリン合成系の上流の 3-phosphoglycerate (3-PG) が蓄積し、セリン生合成がさらに亢進して、細胞の増殖能が増加した。ヌードマウスへの膵癌細胞株の移植実験、患者の癌部検体でも、これらを支持するデータが得られた。

以上の結果から、膵癌細胞では、PHGDH 遺伝子プロモーター領域のメチル化レベルが PHGDH の発現誘導とセリン飢餓耐性に関わる可能性を見出した。

審査において、(1) 本研究の膵癌患者の臨床的な背景；(2) 血中と腫瘍内のセリン濃度との相関性；(3) セリン飢餓で生じる細胞内代謝の変化；(4) セリン合成と解糖・ATP 合成との関係；(5) セリン合成と増殖、浸潤・転移との関連性；(6) PHGDH 遺伝子プロモーターのメチル化機序と生命予後との関係；(7) PHGDH と PGAM1 の発現の相関性；(8) 膵癌組織の間質 CAF を含めた考察；(9) 用いた膵癌細胞株の変異の特徴；(10) 診断のバイオマーカーとしての可能性；(11) 化学療法の現状とセリン合成阻害による治療可能性、などについて活発な質疑が行われ、申請者から適切な回答が得られた。

本研究は、微小環境中の膵癌細胞はセリン生合成を亢進することで増殖能を維持する場合があります、PHGDH 遺伝子のメチル化や発現レベルが増殖能を評価するマーカーとして有用である可能性、セリン合成系が治療標的になる可能性を示唆したことから、学位論文に相応しいと評価された。