

乳癌代謝調節機序の解明と新規画像診断への応用

東北大学病院 乳腺・内分泌外科

原田 成美

1. はじめに

乳癌治療の根幹は、手術・薬物療法・放射線治療を組み合わせた集学的治療である。なかでも薬物療法は近年急速な進展を遂げ、治療効果が飛躍的に高まった。一方で、薬剤不応性・耐性が新たな問題となっており、「効かない薬を投与される時間と費用の無駄」が指摘されている。薬剤不応性・耐性獲得メカニズムの解明は薬剤感受性の評価へと直結するため、無駄を排した効率的でかつ患者負担の少ない治療法の選択、いわゆる個別化治療に結びつく。

癌細胞には、その活発な増殖や転移などを可能にするため正常細胞とは異なる代謝経路が存在することが知られている。この現象は代謝リプログラミングと呼ばれ、ワールブルグ効果（グルコース代謝の亢進）がその代表格であり、グルコーストランスポーターによるグルコースの取り込みを可視化した FDG-PET として応用されている。さらに、癌組織から得られるダイレクトな代謝産物の情報を得る技術であるメタボロミクスは、癌細胞ではグルコースのみならずアミノ酸など他のエネルギー源を用いることで、環境に応じた代謝経路を変化させていることを明らかとした(1)。しかし、乳癌組織を用いたメタボローム解析の報告はなく、またこれまでの他癌種での報告は手術検体を用いた解析であり、診断さらに治療方針の決定に有用な生検検体での解析例はない。本研究では、高感度・高精度でかつ最速の薬効評価画像システムの構築へとつなげることを目指し、乳腺針生検検体を用いたメタボローム解析を行うことで、乳癌組織における代謝変化明らかにし、代謝産物を基にした薬剤不応性・耐性を予測可能な真のバイオマーカーの確立を目的とした。

2. 方法

高速プロファイリングが可能な Capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry (飛行時間型質量分析型キャピラリー電気泳動装置, CE-TOFMS)を用い、初診時乳癌疑い患者より採取した針生検検体 20 例での 116 個の中心炭素代謝に関わるイオン性代謝物質の種類を同定し、濃度を測定した。CE-TOFMS を用いた解析は、HMT 社 (Human Metabolome Technologies; <http://humanmetabolome.com/>) に受託解析 (C-SCOPE)へ依頼した。

3. 結果

症例の内訳は、良性 (benign) 5 例、非浸潤性乳管癌 (DCIS) 5 例、浸潤性乳管癌 (IDC) 10 例であり(表 1)、中心炭素代謝に関わる 116 物質中 97 例が検出可能であった。

多変量解析の一つである主成分分析を行った結果、得られた代謝産物のデータには Benign, DCIS, IDC、それぞれの区別に寄与する代謝産物が含まれることが示唆された (図 1)。

検出可能であった代謝物質を用いてクラスター解析を行い、HeatMap 表示をさせた。Benign では、代謝産物が比較的均一であったが、DCIS の 2 例、IDC では様々な代謝産物の発現を有し、特定の代謝産物が顕著に偏在する傾向は見られなかった (図 2)。

表1. 臨床病理学的所見

Histologic type	Age	ER	PgR	HER2	Ki67 (%)	Clinical stage	Tumor size (mm)
Benign							
A1	77						
A2	42						
A3	47						
A4	52						
A5	69						
DCIS							
B1	60	+	+	-	12	0	0
B2	73	+	-	-	14	0	0
B3	69	+	+	-	15	0	0
B4	55	+	+	-	7.9	0	0
B5	65	-	-	-	9.1	0	0
IDC							
C1	62	+	+	-	11.1	IIA	11
C2	85	+	+	-	8	I	20
C3	50	+	+	-	18.5	I	15
C4	72	+	+	-	20	IIA	40
C5	64	+	+	-	60	I	15
C6	76	+	-	-	34.4	IIA	23
C7	60	+	+	-	80	IIIA	28
C8	57	-	-	+	52	I	10
C9	76	-	-	+	59.5	IIA	21
C10	38	-	-	-	90	I	15

図1. 主成分分析結果

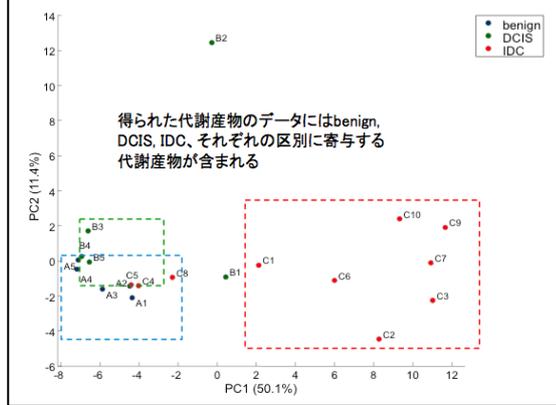


図2. クラスター解析結果

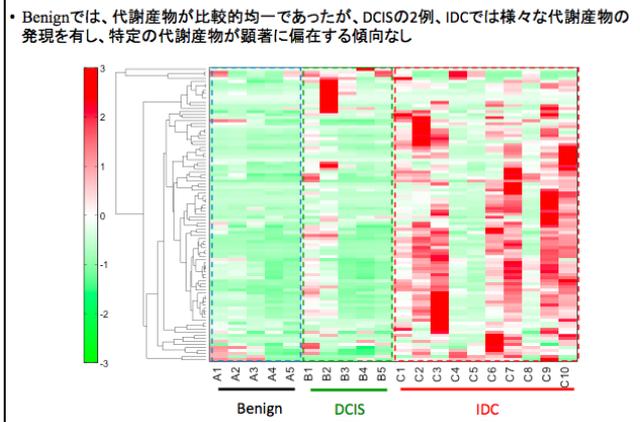


図3. 非癌/癌組織間における代謝産物の特徴

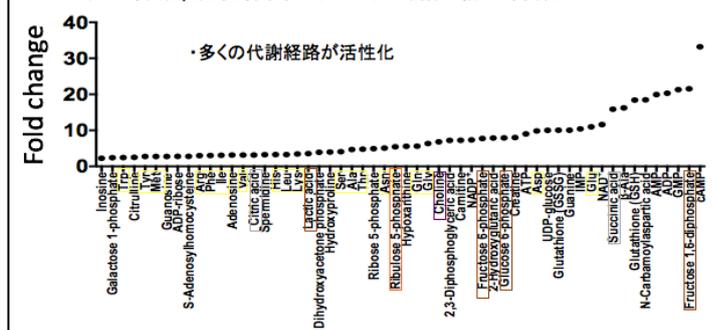
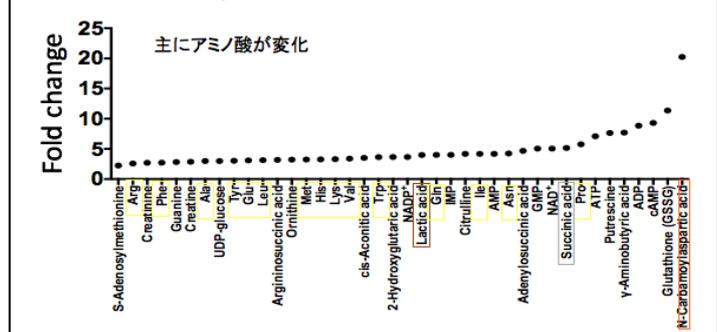


図4. 非浸潤性乳癌/浸潤性乳癌組織間における代謝産物の特徴



非癌組織 (Benign) / 癌組織 (IDC) で代謝産物濃度の解析を行うと、様々な代謝経路に関わる代謝産物濃度の上昇があった (図 3)。一方、癌組織であっても非癌組織 (Benign) / 癌組織 (DCIS) の比較では、有意差を持った代謝産物の差異はみられなかったが、癌組織である DCIS / IDC 群での比較では、アミノ酸代謝が活性化されていた (図 4)。

癌細胞では 細胞の生合成が亢進され、嫌気性解糖が優位となるが、実際に、IDC でピルビン酸の濃度は低い、好気性代謝の TCA サイクルの中間体の濃度は、IDC で高く、他の代謝産物を利用し、中間体の濃度を保っていることが示唆された (図 5)。

4. 考察

多くの代謝産物が Benign, DCIS, IDC の順に増加し、乳癌組織における代謝リプログラミングの存在が明らかにされた。非癌組織 (Benign) / 癌組織 (IDC) での検討では、癌組織で濃度上昇が見られる代謝産物は様々な代謝経路に属するものであり、癌細胞が細胞増殖の維持に必要なエネルギー源となる ATP のみならず、細胞の構成成分である蛋白や核酸などの合成も亢進していることが明らかとなった。癌組織である

DCIS/IDC 群での比較では、主にアミノ酸の濃度が上昇していることから、癌細胞に特徴的とされるグルコースの他に、アミノ酸を利用することで、細胞増殖を維持しているものと考えられた。さらに、これらのアミノ酸は、IDC ではピルビン酸の濃度に比較し中間体の濃度が高くなっていることから、TCA サイクルの中間体の供給源となっている可能性が示唆された。

近年、アミノ酸代謝リプログラミングは、アミノ酸トランスポーター阻害剤や標識したアミノ酸を用いた画像診断法 (アミノ酸 PET) が開発され、新規治療戦略としての期待が高い (2)。今後は、本研究を元にメタボローム解析を切り口に、乳癌アミノ酸代謝リプログラミングが従来の薬物療法に及ぼす影響を明らかにし、新規標的としての位置付けを検討する。さらに、アミノ酸 PET へと応用することで、生体内でのアミノ酸代謝リプログラミング診断を基盤とした新規治療戦略システムの構築を目指す。

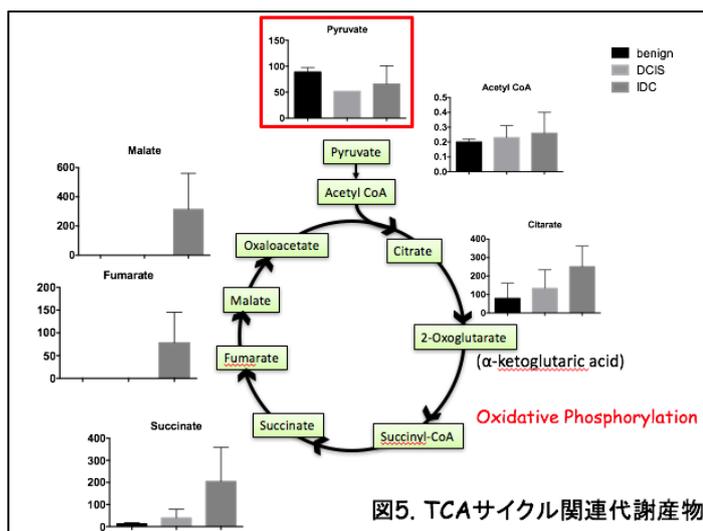


図5. TCAサイクル関連代謝産物

5. 参考文献

1. Hirayama A, Kami K, Sugimoto M, Sugawara M, Toki N, Onozuka H, et al. Quantitative Metabolome Profiling of Colon and Stomach Cancer Microenvironment by Capillary Electrophoresis Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Cancer Res.* 2009;69:4918-25.
2. Bhutia YD, Babu E, Ramachandran S, Ganapathy V. Amino Acid Transporters in Cancer and Their Relevance to “Glutamine Addiction” : Novel Targets for the Design of a New Class of Anticancer Drugs. *Cancer Res.* 2015;75:1782-8.