

膵神経内分泌腫瘍における新規分子標的治療の開拓： オートタキシンは治療ターゲットとなるか？

名古屋市立大学大学院医学研究科 消化器代謝内科学

吉 田 道 弘

I 要 旨

膵神経内分泌腫瘍（膵 NEN）におけるオートタキシン（ATX）の診断マーカーおよび治療ターゲットの可能性につき検証した。臨床検体を用いた解析では、膵 NEN 患者における血清中 ATX 濃度が膵癌を含む他の膵疾患（慢性膵炎・自己免疫性膵炎・IPMN）および健常人よりも有意に高値であり、さらに腫瘍組織中の ATX 発現も高発現していることを発見した。膵 NEN 細胞株を用いた基礎実験（In vitro/In vivo 実験）を通じ、ATX の機能制御が膵 NEN の抗腫瘍効果をもたらす事を証明し得た。

これらより、膵 NEN において ATX が診断マーカーだけにとどまらず分子標的治療のターゲットとして期待されることを明らかとした。この研究からさらに実験を継続し臨床応用へと発展することを期待している。

II 目 的

神経内分泌腫瘍（NEN）は膵臓・消化管・肺に多く発生し、かつては希少癌と言われていたが、近年増加傾向にある。膵 NEN において、治療は手術切除が原則であるが、特に頻度の多い非機能性 NET では無症状のため、転移して治療が困難となった状態で診断される事が多く、集学的治療として全身薬物療法の役割・期待は大きい。

近年の分子標的治療の発展は目覚ましいが、膵 NEN では 2011・2012 年に適応となったエペ

ロリムス（mTOR 阻害剤）・スニチニブ（受容体チロシンキナーゼ阻害剤）の 2 剤のみが標準治療で、新規分子標的薬の登場はない。膵 NEN の病態に適した新しい分子標的の解明が重要である。

我々の研究チームでは、癌細胞膜上に過剰に存在する G 蛋白質共役受容体の代表であるリゾホスファチジン酸（LPA）受容体に着目して国内外で消化器癌を横断的に研究してきた¹⁾。脂質メディエーターである LPA はオートタキシン（ATX）と呼ばれるリゾホスホリパーゼ D を介して体内で合成され、6 つのサブタイプからなる受容体を介して、増殖性・運動性の亢進、抗アポトーシス作用、血管新生作用など多彩な作用を有し癌増殖因子として位置づけられている。今回、「膵 NEN における ATX が腫瘍の発育に関与しているのではないか」との学術的な問いから、本研究では膵 NEN における LPA シグナルの意義と ATX をターゲットとした新規分子標的治療の開拓を目的とした。

III 方 法

A. 基礎実験

- 1) LPA シグナルによる膵 NEN 細胞増殖・浸潤促進の検証：膵 NEN 細胞株（QGP-1・BON-1）を用い、LPA 投与下に増殖・遊走・浸潤能を評価する。
- 2) ATX 発現調節による膵 NEN 細胞への影響の検証：膵 NEN 細胞株に形質導入で ATX の発現抑制（siRNA）および ATX

阻害剤 (GLPG1690) を用いて増殖・遊走・浸潤能の変化を検証する。

- 3) それぞれの刺激実験における分子生物学的变化を解析する。
- 4) マウス皮下移植モデルを用いた *in vivo* 実験：ATX 阻害剤の効果を検証する。治療群・コントロール群から得られた組織検体・血液検体を用い、WB・PCR・免疫染色で各種発現検証を行う。

B. 臨床検体（血液・組織標本）を用いた実験

- 1) 血中 ATX 値測定：膵 NEN を含む膵疾患患者・膵疾患を持たない健常者の血中 ATX 値を比較する。膵 NEN 群においてはその臨床像と対比し評価する。
- 2) 膵組織中の ATX 発現レベル解析：膵 NEN の外科的手術標本・内視鏡的採取組織を用いて、ATX の発現レベルを解析しその臨床像と対比して評価する。

IV 結 果

A. 基礎実験

- 1) 膵 NEN 細胞株 (QGP-1・BON-1) に対する LPA 投与で増殖・遊走の亢進が確認された。さらに、LPA の前駆体で ATX の作用ターゲットである LPC の投与でも同様に増殖・遊走能の亢進が確認された (図 1)。浸潤能については、これらの細胞株自体が Transwell Migration Assay で十分な浸潤を来さず、検証できなかった。
- 2) QGP-1・BON-1 に対する siATX の形質導

入により、細胞増殖・遊走能の減弱が確認された。ATX 阻害剤 (GLPG1690) を用いた実験においても、両細胞株ともに増殖・遊走能が減弱した (図 2)。

- 3) WB での解析で、LPA, LPC の投与により LPA 受容体シグナルの下流に位置する pERK の亢進が確認され、その活性化は ATX 抑制により減弱することが確認された。
- 4) マウス皮下移植モデルを QGP-1・BON-1 それぞれで作製し ATX 阻害剤 (GLPG1690) を連日腹腔内投与 (60mg/kg) したところ、両細胞株モデルにおいても、GLPG1690 投与群で有意に腫瘍縮小効果が確認できた (図 3)。免疫染色上、Ki67 陽性細胞数、pERK 陽性細胞数について、治療群で有意に少ない結果が確認でき、シグナル伝達上も LPA シグナルが抑制されていることが裏付けられた。

B. 臨床検体（血液・組織標本）を用いた実験

- 1) 男女それぞれで、膵 NEN 患者の血中 ATX 値が膵癌を含む他の膵疾患よりも高値を呈した (図 4)。さらに、NEN 症例での定期フォローの結果では治療効果を反映するマーカーであることも確認できた (図 5)。
- 2) 膵 NEN の手術標本での ATX の免疫染色上、正常膵組織にはみられない ATX の強発現が膵 NEN 実質に確認された (図 6)。臨床像との比較では、NEC 症例よりも NET 症例において高頻度に高発現が確認された (NEC : 33%、NET : 64%)。

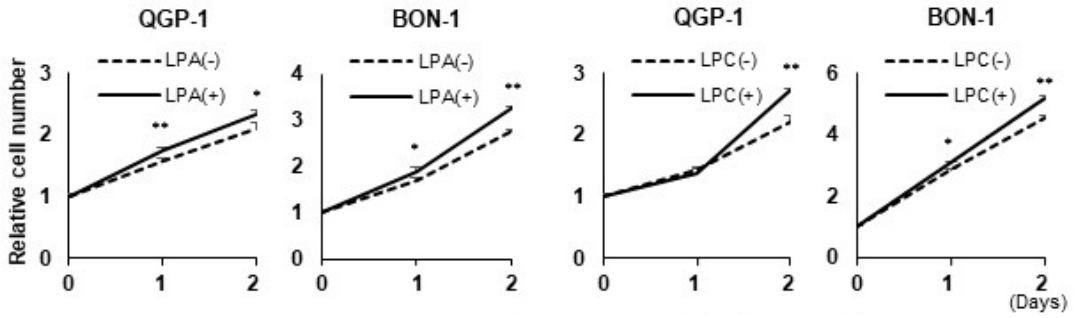


図 1 LPA/LPC投与による増殖能亢進

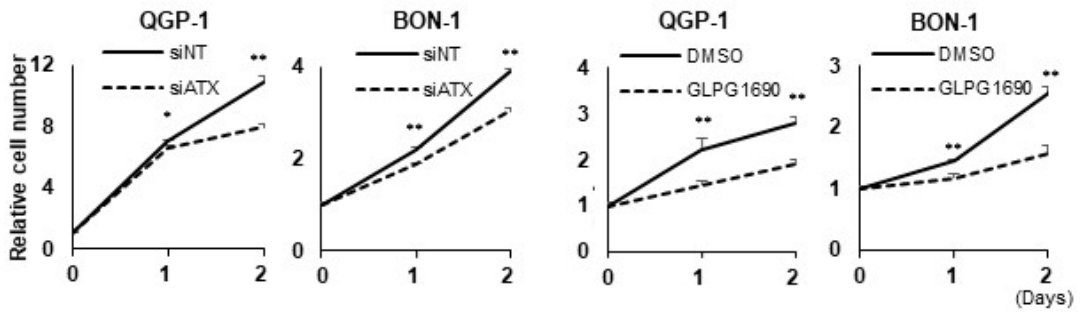


図 2 ATX抑制による増殖能抑制

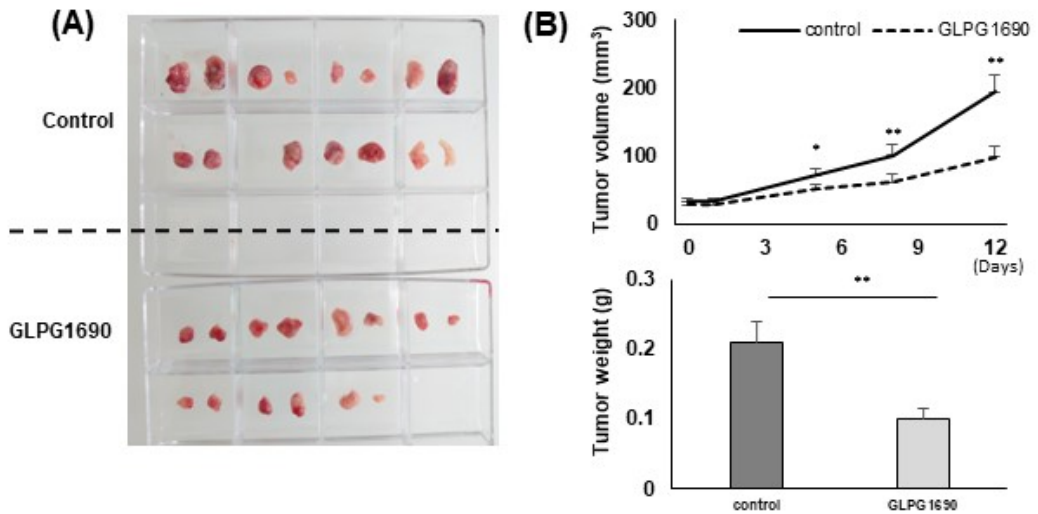


図 3 GLPG1690投与による抗腫瘍効果

膵神経内分泌腫瘍における新規分子標的治療の開拓：オートタキシンは治療ターゲットとなるか？

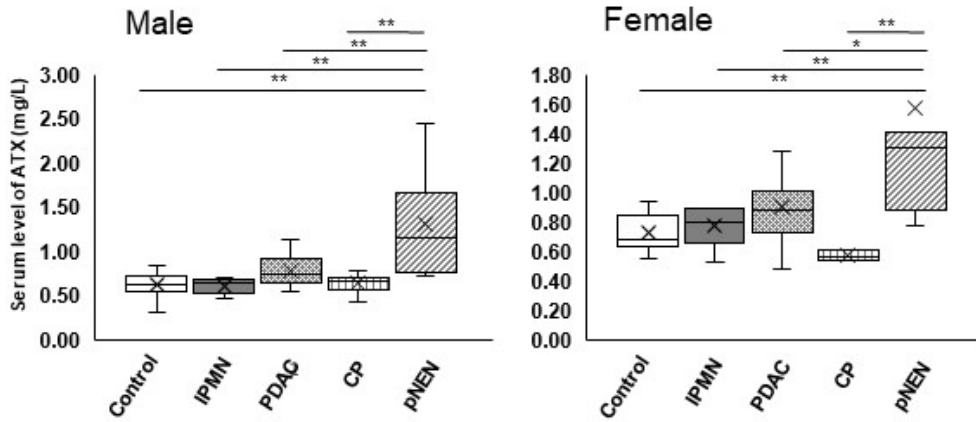


図4 血中ATX濃度比較

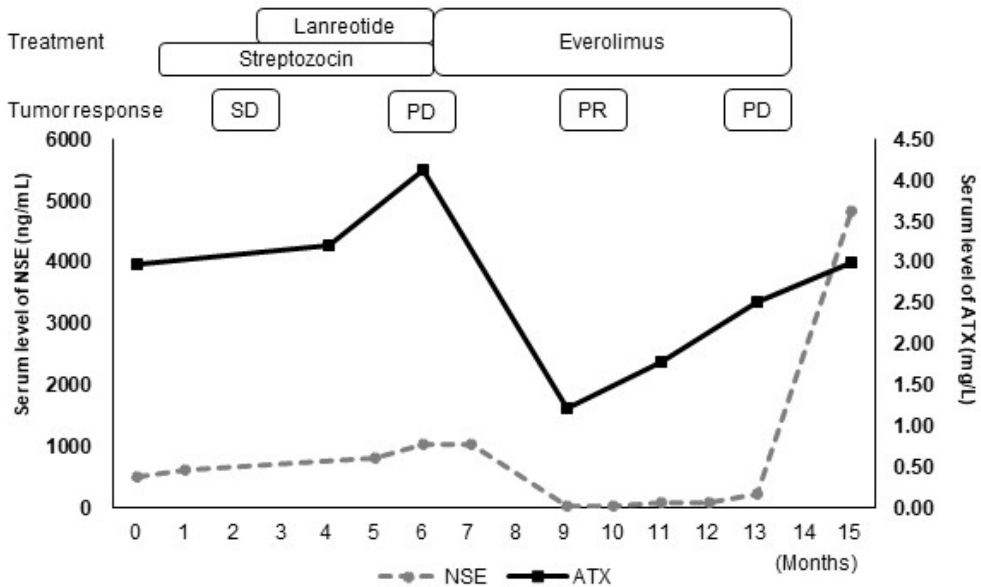
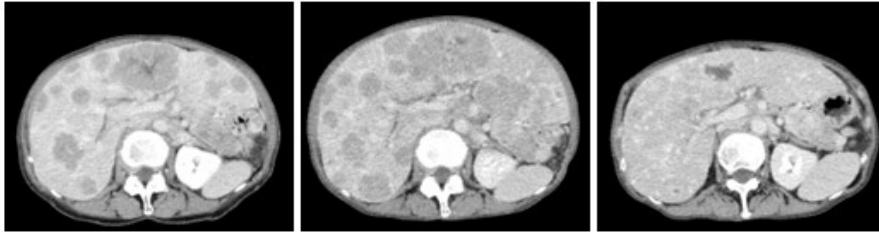


図5 NEN治療中のATX発現の推移

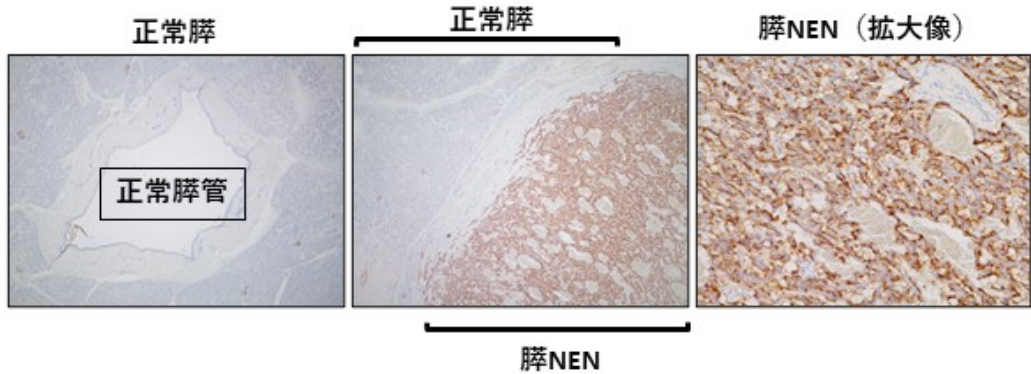


図6 ATX免疫染色

V 考 査

膵 NEN においては、血清および NEN 組織中に ATX の高発現が確認され、さらに NEN 症例での定期フォローの結果では治療効果を反映する腫瘍マーカーであることも確認でき、新たなバイオマーカーとしての役割が期待された。基礎実験においては、ATX が治療ターゲットとなることが示され、ATX は診断・治療バイオマーカーだけでなく治療ターゲットとして期待されることが明らかとなった。ATX をターゲットする治療薬は現在、肺線維症などで前臨床試験中の薬剤が複数存在し、今後の臨床応用が期待されており、本研究をもとに、膵 NEN における新たな治療薬として期待する。本研究結果について消化器病学会 2023・膵臓学会 2023 (いずれも主題) で発表した。本報告書提出期限以後も癌学会 2023 (English oral)・JDDW2023 (主題) で学会発表予定である。これらの結果をまとめ現在、論文投稿中である。

VI 結 語

膵 NEN において、ATX は診断・治療バイオマーカーにとどまらず、治療ターゲットとなり得、今後の NEN 診療において注目されるターゲットといえる。さらなる研究を重ね、診断・治療の両面において臨床応用を目指す。

参考文献

- 1) Jinno N, Yoshida M, Hayashi K, Naitoh I, Hori Y, Natsume M, Kato A, Kachi K, Asano G, Atsuta N, Sahashi H, Kataoka H. Autotaxin in ascites promotes peritoneal dissemination in pancreatic cancer. *Cancer Sci.* 2021 Feb; 112(2): 668-678. doi: 10.1111/cas.14689. Epub 2020 Dec 21. PMID: 33053268; PMCID: PMC7893983.