

【目的】がん細胞は一般に解糖系に強く依存して生存しているが、解糖系の抑制時にも生存可能であり、細胞内代謝システムをリプログラミングしていることが推察される。そこで、その代謝リプログラミング様式を明らかにし、それを特異的に抑制することが、がん細胞内の代謝を標的とした治療に有効であると考えられる。本研究では特に、ATP 産生オルガネラであるミトコンドリアに焦点を当て、解糖系の抑制時に認められる細胞内代謝リプログラミングの制御機構の解明を目的に、主として膵がん細胞を用いた検討を行った。

【方法】ヒト膵がん細胞株として PANC-1 細胞を用い、培養液中のグルコースをガラクトースや低濃度のグルコースに置換することで解糖系の抑制を図った。解糖系抑制時のミトコンドリア機能は、膜電位を評価可能な JC-1 染色試薬、および培養液中の酸素濃度の減少による呼吸活性を指標として測定した。また、解糖系抑制時の細胞内代謝物量の変動を、中心炭素代謝を中心とした 110 の代謝物のメタボローム解析から評価した。解糖系抑制時のオートファジー活性はオートファゴソームマーカー LC3 のフラックスアッセイから、マイトファジー活性はミトコンドリアターゲティング配列を付加した Keima-Red の励起波長の変化から観察した。さらに、マイトファジーを制御するタンパク質として PTEN-induced kinase 1 (PINK1) に焦点を当て、その mRNA 発現量、および siRNA による発現抑制時のミトコンドリア活性を評価した。

【結果】培養液中の糖源が置換された PANC-1 細胞は、その解糖系は抑制されているものの、亢進したミトコンドリア機能に依存して生存し続けることが明らかとなった。また、解糖系抑制時の PANC-1 細胞の生存経路の変化と併せて、細胞内の代謝環境も大きく変化しており、特に TCA 回路中間産物の量の減少や多くのアミノ酸量の増加が認められ、これらはミトコンドリア機能依存的であることが示された。さらに、解糖系の抑制によって、細胞内タンパク質分解システムであるオートファジーの亢進が観察され、特にミトコンドリア特異的オートファジーであるマイトファジーの亢進も認められた。PANC-1 細胞におけるマイトファジーを制御する因子として PINK1 の mRNA 発現量上昇も確認され、PINK1 の発現抑制時にはミトコンドリア膜電位の上昇が制限されたことから、解糖系の抑制時に PINK1 依存的マイトファジーによってミトコンドリア機能が維持されていることが示唆された。

解糖系を抑制された膵がん細胞におけるマイトファジーによるミトコンドリア代謝制御

