

大腸がんオルガノイドを用いた転移モデルの網羅的リン酸化変動解析による治療標的探索

佐藤 友美^{1,2}、井上 正宏³、長山 聡^{4,5}
朝長 毅²、足立 淳²

1 福島県立医科大学・基礎病理学講座、2 医薬基盤健康栄研、プロテオーム
3 京大・院医・クリニカルバイオ、4 がん研・有明病院、5 京大・医

【背景・目的】がんは現在も国内における死亡原因の第一位であり、その克服へ向けた分子メカニズムの解明及び治療法開発が望まれているが、死亡につながる遠隔転移の分子機構は未解明の部分が多い。本研究では遠隔転移源となる体内循環がん細胞塊で確認された転移確立過程における細胞塊内極性転換現象を再現できる大腸がん由来のオルガノイド(Okuyama, Am. J. Pathol., 2016, Kondo, PNAS, 2011) をモデルとして用い、転移確立過程におけるリン酸化変動を網羅的に解析することで、転移確立過程の分子機構を解明することを目指し、新規創薬標的の探索と評価を行った。

【方法】CTOS 法で調整した大腸がん由来オルガノイドを浮遊培養からゲル包埋培養へ移行させることで転移過程における体内循環状態から、転移先への生着過程のモデルとした。ゲル包埋移行後 1 時間で変動したリン酸化状態をリン酸化プロテオミクスにより網羅的に同定した。In Silico においてリン酸化変動タンパク質の Ontology 解析、キナーゼ活性予測を行い、活性化が予測されたキナーゼに対して阻害剤を用いた評価を行った。

【結果と考察】ゲル包埋培養 1 時間のサンプルから 13603 サイトのリン酸化サイトを同定した。そのうち 2 倍以上有意にリン酸化状態が変動したサイトは 485 タンパク質、764 サイトであった。リン酸化変動タンパク質の Ontology 解析は Adherens junction や Tight junction 関連のタンパク質でリン酸化が大きく変動していることを示しており、浮遊状態でオルガノイド表面に形成されているアピカル膜が接着確立過程で消失する現象(Onuma, J. Pathol., 2021, Okuyama, Am. J. Pathol., 2016) に一致していると考えられた。

この過程で活性変動するキナーゼについて予測した結果から、受容体型チロシンキナーゼ RTK_X に着目した。RTK_X の阻害は、ゲル包埋時に ECM との接着確立に伴うオルガノイド表面アピカル膜の消失と内部極性の転換現象を阻害し、増殖については体内循環がん細胞塊モデルである浮遊培養状態、腫瘍組織モデルであるゲル包埋状態共に同等の阻害効果を示した。

これらの結果から RTK_X の阻害は転移源である体内循環がん細胞塊と腫瘍組織に対して同等の増殖阻害効果を示し、転移確立過程において足場依存的増殖への切り替わりにつながる ECM との接着確立を阻害することが期待できると考えられた。このように患者検体由来オルガノイドを用いた微量サンプルからもリン酸化プロテオミクスを用いた網羅的リン酸化変動解析により有効な創薬標的の発見につながる可能性が示唆された。