

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	叶 許緑
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 725 号
学位授与の日付	平成 29 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Inhibition of glutaminolysis inhibits cell growth via down-regulating mTORC1 signaling in lung squamous cell carcinoma. (肺扁平上皮癌における mTORC1 シグナル活性低下を介するグルタミン代謝阻害による細胞増殖抑制)
論文審査委員	主査 教授 菊地 利明 副査 講師 川島 寛之 副査 教授 西條 康夫

博士論文の要旨

背景

肺癌は、男性と女性ともに世界的な癌関連死の主な原因である。近年、いくつかの分子標的薬が開発され、非小細胞肺癌の生存率が改善されているが、ほとんどの場合は肺腺癌に限られている。肺腺癌の分子標的治療法の進歩と比べ、肺扁平上皮癌に対する分子標的薬の開発は停滞している。従って、肺扁平上皮癌における新規な標的分子の同定が急務である。

グルタミン代謝阻害はいくつかの固形癌や急性白血病において有望な治療策として報告されている。2 種類のグルタミナーゼ (GLS) のアイソフォーム (GLS1 と GLS2) がヒト細胞において同定されている。最近の研究ではグルタミン代謝が mTORC1 経路の活性化を促進することによって、細胞増殖の促進とオートファジーの抑制を示していることが明らかとなっている。

目的

本研究では、肺扁平上皮癌細胞株におけるグルタミン代謝の細胞増殖に対する影響を調べ、治療法としてグルタミン代謝阻害が有望な標的となる可能性を探ることを目的とした。

方法

申請者は、肺扁平上皮癌細胞 6 株 (Sq-1, LK-2, LC-1/sq, EBC-1, RERF-LC-AI, QG56) を収集し、グルタミン (Gln) 欠乏状態で細胞を培養し、Gln 依存性を調べた。次に GLS1 と GLS2 の mRNA 発現レベルをリアルタイム RT-PCR で調べ、その mRNA GLS1/ mRNA GLS2 と Gln 依存性との関連について解析した。GLS1 の選択的阻害薬である bis-2-(5 phenylacetamido-1, 2, 4-thiadiazol-2-yl) ethyl sulfide (BPTES) 或いは compound 968 の投与により、GLS1 阻害による細胞増殖の抑制について確認した。さらにグルタミン代謝を阻害し、mTORC1 シグナルの重要な下流基質である S6 蛋白のリン酸化レベルを western blot で解析した。またグルタミン代謝阻害によるオートファジー誘導について LC3-II タンパクの発現レベルを western blot で解析した。更に Gln 非依存性細胞株において GLS2 mRNA ノックダウンによるグルタミン代謝と mTORC1

シグナルへの影響について調べた。

結果

肺扁平上皮癌細胞 6 株において、5 細胞株 (Sq-1, LK-2, LC-1/sq, EBC-1, RERF-LC-AI) が Gln 依存性を示し、QG56 が Gln 非依存性を示した。Gln 依存性の程度は、GLS をコードする mRNA のレベル比 (mRNA GLS1/ mRNA GLS2) と正相関していることを明らかにした。Gln 依存細胞株において、Gln の欠乏や GLS1 選択的阻害によるグルタミン代謝阻害は S6 蛋白のリン酸化レベルを低下させ、mTORC1 シグナル伝達活性を低下させ、明らかに細胞増殖を抑制することを示した。また、Gln 依存細胞株において、Gln の欠乏や GLS1 選択的阻害によるグルタミン代謝阻害はオートファジーの誘導を促進することを明らかにした。さらに、GLS2 mRNA ノックダウンされた Gln 非依存細胞株 QG56 において、細胞増殖抑制及び Gln 依存性への寄与が確認され、Gln の欠乏や GLS1 選択的阻害によるグルタミン代謝阻害は mTORC1 シグナル伝達を抑制することが確認された。

考察

Gln 代謝の律速酵素である GLS ががん化への形質転換や腫瘍細胞の増殖においても重要な役割を担っていることが報告されている。現在、GLS 阻害が癌治療における有望な標的として注目されている。また GLS 1 が非小細胞肺癌において Gln 依存性に関連する重要な酵素であることが報告されている。

今回、申請者らは分子標的薬の開発が停滞している肺扁平上皮癌におけるグルタミン代謝阻害による抗腫瘍増殖機序の解明に注目した。6 株中 5 株の肺扁平上皮癌細胞株において Gln 依存性を示した。Gln 依存性細胞においては GLS1 の選択的阻害薬によるグルタミン代謝阻害は mTORC1 シグナル伝達のダウンレギュレーションを介して、細胞増殖の抑制とオートファジーの誘導を促進することを示した。

本研究では、肺扁平上皮癌細胞株において Gln 依存性と GLS 発現とについて解析し、はじめて GLS1 と GLS2 の mRNA 発現レベル比 (mRNA GLS1/ mRNA GLS2) が Gln 依存性と正相関することを明らかにした。mRNA GLS1/ mRNA GLS2 が Gln 依存性のマーカーとして有用性が示唆された。GLS1 選択的阻害によるグルタミンノリシス阻害は Gln 依存の肺扁平上皮癌において有望な治療策になる可能性が示された。

審査結果の要旨

本研究では、肺扁平上皮癌におけるグルタミン代謝をターゲットとした治療法の可能性を検討した。まず、肺扁平上皮癌細胞株 6 株について、グルタミン (Gln) 依存性の有無を、Gln 欠損培地、GLS1 阻害剤で検討したところ、5 株において Gln 依存性を示した。Gln 依存性の程度は、GLS をコードする mRNA 発現比 (mRNA GLS1/ mRNA GLS2) と正相関していることを明らかにした。Gln 依存細胞株において、Gln の欠乏や GLS1 選択的阻害によるグルタミン代謝阻害は S6 蛋白のリン酸化レベルを低下させ、mTORC1 シグナル伝達活性を低下させ、細胞増殖を抑制することを示した。また、Gln 依存細胞株において、Gln の欠乏や GLS1 選択的阻害によるグルタミン代謝阻害はオートファジーの誘導を促進することを明らかにした。さらに、GLS2 mRNA ノックダウンにより Gln 非依存細胞株 QG56 において、細胞増殖抑制及び Gln 依存性への寄与が確認された。

本論文は、GLS1 選択的阻害によるグルタミン代謝阻害は Gln 依存の肺扁平上皮癌において有望な治療策になる可能性を示した研究であり、博士論文としての価値を認める。