

論文の内容の要旨

論文題目 低pH腫瘍微小環境における代謝適応機構の解明

氏名 加藤 美樹

がんの悪性化や治療抵抗性には、低酸素、低栄養、低 pH などの腫瘍微小環境が重要な役割を果たす。これまで、がん細胞が低酸素や低栄養などの過酷な環境に適応するために、エピゲノム、転写、代謝制御が関わることが報告されているが、低 pH 環境への適応機構は未だ不明な点が多い。我々のグループは、低 pH 環境における細胞応答を担うエピゲノム制御、転写制御因子を報告してきた。本研究では、近年がん研究において注目されている代謝変動に着目して、①低 pH 環境が、がん細胞の代謝変動に与える影響、②低 pH 環境で変動する代謝物 (N1-アセチルスペルミジン) が、がん細胞の生存に及ぼす影響、③低 pH 環境で亢進する代謝酵素 (スペルミジン / スペルミン N1-アセチルトランスフェラーゼ ; SAT1) が腫瘍増殖に及ぼす影響、④ノンターゲット解析を駆使した、新たな低 pH 環境への代謝適応機構の探索について検討した。なお、当研究室で開発した、腫瘍微小環境を模した低酸素、低栄養、低 pH 培養系を用いて検討を実施した。

第2章では、すい臓がん細胞株 PANC-1 のメタボローム解析から、低 pH 培養下における代謝物変動、及び変動代謝物に関わる酵素の遺伝子発現について検討した。低酸素、低栄養培養下の代謝物変動と比較して、低 pH 培養下のがん細胞は、ポリアミン代謝物の変動が顕著であった。詳細に検討を行い、ポリアミン代謝物の一つである N1-アセチルスペルミジンが増加し、スペルミジンやプトレシンが低下することを明らかにした。また、低 pH 環境下ではポリアミン代謝酵素群の中で、スペルミジンを基質として N1-アセチルスペルミジンを産生する代謝酵素 SAT1 の遺伝子発現が亢進し、その一方で、ポリアミン代謝酵素のスペルミジン シンターゼ (SRM)、ポリアミンオキシターゼ (PAOX) の遺伝子発現が抑制されていることを明らかにした。また、ポリアミン代謝経路と近接している代謝経路のうち、尿素回路酵素のカルバミリルリン酸シンターゼ

(CPS1)、メチオニンサルベージ回路酵素のメチルチオアデノシンホスホリラーゼ 2A (MA2A) の遺伝子発現が抑制されていることを明らかにした。

第3章では、低 pH 培養下において変動するポリアミンが、がん細胞の生存に及ぼす影響について検討した。N1-アセチルスペルミジン、及びプトレシンが、がん細胞のミトコンドリア機能を回復させ、細胞増殖を亢進することで、過酷な低 pH 環境下での生存を可能にしていることが示唆された。一方で、低 pH 環境下において、スペルミジンは、ミトコンドリア膜電位の低下や、酸素消費速度 (OCR) の低下など、ミトコンドリア機能を低下させ、がん細胞の増殖を抑制した。このことから、低 pH 環境下における N1-アセチルスペルミジンの増加は、スペルミジンの細胞毒性回避機構であることが示唆された。

第4章では低 pH 培養下で遺伝子発現が上昇し、N1-アセチルスペルミジンを生成する酵素 SAT1 が、がん細胞及び腫瘍増殖に及ぼす影響について検討した。SAT1 は尿素回路、メチオニン回路、及びメチオニンサルベージ回路の代謝変動に関与しないこと、また、低 pH 培養下における SAT1 の遺伝子発現抑制は、細胞増殖には影響を及ぼさなかった。一方、*in vivo* マウス腫瘍移植実験において、SAT1 のノックダウン細胞はコントロール群と比較して、顕著に腫瘍増殖を抑制していた。その一因として、腫瘍内への腫瘍促進性免疫細胞 (ミエロイド系細胞全般) の浸潤抑制や腫瘍血管新生が抑制された。このことから、SAT1 は腫瘍微小環境を構成するがん細胞以外の細胞 (免疫細胞、線維芽細胞など) との相互作用を介して腫瘍形成を促進することが示唆された。SAT1 の発現上昇は、脳腫瘍、大腸がん、肺がんで見られ、予後不良に寄与していることが報告されており、SAT1 はがん悪性化に重要な役割を果たすことが考えられた。

第5章では、既知の代謝物を capillary electrophoresis -time-of flight mass spectrometry (CE-TOF-MS) を用いたノンターゲット解析で特定することで、検出系の有効性を検討した。ノンターゲット解析から、低 pH 培養下で増加する代謝物として、ジアセチルポリアミンなど、ターゲット解析では見られなかった新たな変動代謝物を見出しており、これらは新たながんバイオマーカーとなることが期待される。

本研究は、低 pH 環境を低酸素環境の単なる「結果」として捉えるのではなく、低 pH 環境下で変動する代謝の適応機構の解明である。例えば、N1-アセチルスペルミジン代謝酵素 SAT1 が、低 pH 環境下におけるがん細胞生存機構に非常に重要な代謝適応経路である事を明らかとした点に独創性がある。また、低 pH 環境下で上昇する代謝酵素 SAT1 の発現抑制は、腫瘍増殖を抑制させ、免疫細胞浸潤、及び腫瘍血管新生が抑制されてい

ることを新たに見出した。さらに、ノンターゲット解析から、低 pH 培養下で増加するジアセチルポリアミン代謝物を見出しており、これらは新たながんバイオマーカーとなることが期待される。本研究で明らかにした N1-アセチルスペルミジン、及び SAT1 を中心とした低 pH 特異的な代謝変動は、がん細胞の低 pH 環境への代謝適応機構の解明に新たな知見を与える。

最後に、低 pH 環境における N1-アセチルスペルミジンと SAT1 の上昇は、ステージが進行した脳腫瘍、大腸がん、及び肺がんの予後不良と相関があり、他のがん種においても同様の低 pH 環境下における代謝適応機構に寄与する可能性がある。以上から、本研究結果は N1-アセチルスペルミジンと SAT1 を標的とした新規がん治療薬の開発に繋がることが期待できる。