

## 審査の結果の要旨

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。我々のグループでは、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が、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-アセチルスぺルミジン) 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 (スぺルミジン /スぺルミン N 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) 神経芽腫患者の尿検体中代謝物について検討した。

第 1 章は、本研究の導入を、第 2 章では低 pH 培養下において、がん細胞でポリアミン代謝物の N1-アセチルスぺルミジンが増加し、N1-アセチルスぺルミジンの基質であるスぺルミジンやスぺルミジンの基質である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、スぺルミジンを基質として N1-アセチルスぺ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ポリアミンオキシターゼ (PAOX)、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 環境下において、N1-アセチルスぺルミジン、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、スぺルミジンは、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、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 環境下における SAT1 の遺伝子発現抑制は、細胞増殖には影響を及ぼさないが、*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（ミエロイド細胞、マクロファージ、好中球）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 の発現増加は、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、ノンターゲット解析の有効性を検討した。最後に第6章では結語を記述した。

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 環境下で増加する代謝酵素 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。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 の増加は、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 環境下への細胞適応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を期待できる。よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。