

論文審査の結果の要旨

氏名 大和田 賢

本論文は哺乳類細胞において細胞外環境のグルコース濃度が低下した際に生じる細胞内の反応について述べたものである。細胞は細胞外のグルコースを取り込み構成成分となる脂質・核酸や生体反応のエネルギー源となるアデノシン三リン酸 (ATP) の合成に利用している。そのため、環境中のグルコース濃度に応じた適切な反応を誘導することは分裂・増殖時の細胞にとって重要である。とくに、恒常的に増殖を繰り返すがん細胞の多くが ATP 産生を解糖系に依存しているにもかかわらず、生体内がん微小環境はグルコース濃度が非がん組織にくらべ低下していることが知られており、グルコース濃度感知の重要性はより大きいと考えられる。論文提出者および所属研究室は先行研究において固形がん由来細胞株ではグルコース飢餓環境における生存能が上昇していること、また培地中のグルコース除去によりセリンスレオニンキナーゼ AKT のリン酸化フォームが増加することを明らかにしてきた。論文提出者はグルコース欠乏環境でリン酸化 AKT が増加する分子機構の解析を通じて哺乳類細胞におけるグルコース濃度感知機構解明に取り組んだ。

論文提出者が本論文において明らかにした点は以下の通りである。

- (1) 肝臓がん由来細胞株 HepG2、膵臓がん由来細胞株 PANC-1、非がん細胞である胃漿膜下線維芽細胞においてグルコース除去後 10 分以内と短時間でリン酸化 AKT が増加した。
- (2) グルコースに構造が類似しグルコースと同様に細胞内に取り込まれるが解糖系、ペントースリン酸回路での代謝をうけない 2-デオキシグルコースはグルコース欠乏時のリン酸化 AKT 増加を抑制しないのに対し、解糖系、ペントースリン酸回路の基質となるフルクトース、ガラクトースの添加はリン酸化 AKT の増加を抑制した。
- (3) グルコース除去後、リン酸化 AKT の増加と同じく短時間のうちに細胞内過酸化水素濃度の増大が認められた。過酸化水素の増加は N-アセチルシステイン添加により抑制され、また欠乏したグルコースの代替としてフルクトース、ガラクトースを添加すると観察されなかった。
- (4) 過酸化水素の産生には細胞膜に局在する NADPH オキシダーゼ(NOX)4 が

中心的な働きを示す。

(5) HepG2 細胞、PANC-1 細胞においてグルコース欠乏により誘導された過酸化水素を N-アセチルシステイン添加により抑制するとリン酸化 AKT の増加も抑制された。一方、培地中に過酸化水素を添加するとリン酸化 AKT の増加が観察された。

(6) 過酸化水素の刺激下に AKT のリン酸化を誘導することが知られている SRC チロシンキナーゼ、PI3 キナーゼ、これら二つのキナーゼの共通のアダプタータンパク質である OSSA をそれぞれの特異的阻害剤ないし RNA 干渉法によって抑制するとグルコース欠乏により誘導されるリン酸化 AKT の増加が減弱した。

以上の結果より、哺乳類細胞のグルコース欠乏に対する生体反応のひとつとして細胞内過酸化水素の誘導とそれに引き続く SRC-OSSA-PI3K 複合体を介した AKT リン酸化の亢進が生じることが明らかになった。非がん細胞、がん細胞において AKT が制御している細胞内シグナル経路には、ストレス下での細胞生存能の賦与や外的刺激に呼応したグルコースの取り込みなどが知られている。グルコース欠乏環境下における AKT リン酸化誘導がこれらの細胞応答を誘導し代謝ストレスに対する細胞の防御機能を担っているかについては本研究では言及されなかったが、今後のさらなる解析が求められる。ただし、過酸化水素が環境中のグルコース欠乏という細胞の危機を知らせるメッセンジャーとして利用されているとする論文提出者の仮説は注目すべきものである。過酸化水素はグルコース欠乏に速やかに呼応することに加え、本論文で言及した SRC をはじめ多くのタンパク質のシステイン残基側鎖のチオール基を修飾することが知られており、細胞内のさまざまなストレス応答のシグナル伝達に関連すると予想される。これに加え過酸化水素は細胞膜を比較的自由に通過できることから、危機を察知した細胞が発したシグナルを組織中の細胞で共有するのに利用されている可能性もある。

代謝ストレス下での過酸化水素の発生機構について論文提出者が明らかにした NOX4 の役割はこの領域の研究者にとって非常に有益な情報となった。NOX4 の制御機構については不明な点が多い。本研究でもグルコース代謝産物の強い関与が示唆されたが、今後の研究によりさらに詳細な分子機構の解明につながることを期待する。

なお、本論文は江角浩安、下田祐子、土原一哉との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証をおこなったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1,994 字