

mTOR シグナルによるリポジェニック経路活性化機序の解明とその診断への応用

名古屋大学大学院医学系研究科

講師 山内祥生

【背景及び目的】

がん細胞では特徴的な代謝変化がしばしば認められ、この性質はがん細胞の悪性形質に深く関与している^{1,2}。がん細胞は、グルコースの取込みとそれに伴う解糖系の亢進が認められる。さらに、脂質合成（リポジェネシス）の亢進もがん細胞に認められる特徴的な代謝変化の一つであり、がん細胞の悪性形質に重要な役割を演じている^{3,4}。

メラノーマは悪性度が極めて高い皮膚がんであり、その患者数は国内外において増加している。メラノーマ細胞では特徴的なシアル酸含有糖脂質ガングリオシドの発現が見られ、特に、ガングリオシド GD3 は原発巣の腫瘍組織やメラノーマ細胞株などに普遍的に発現している。我々は、メラノーマ抗原 GD3 が細胞膜のコレステロールに富む脂質ラフトドメイン（脂質ラフト）において、増殖や接着のシグナルを増強することでメラノーマ細胞の悪性形質を増大していることをこれまで示してきた⁵。しかしながら、GD3 依存的な悪性形質発現の分子メカニズムは十分に理解されておらず、脂質ラフトを中心にした GD3 依存的なシグナルの変化とその分子基盤を理解することはメラノーマの治療法の開発に必須である。最近、我々は GD3 の発現に伴う Akt-mechanistic target of rapamycin (mTOR) シグナルの増強がリポジェニック経路の活性化を引き起こすとともに、このリポジェニック経路の活性化が脂質ラフトの機能性に重要な役割を果たしていることを示した⁶。本研究では、ヒトメラノーマにおいて、メラノーマ抗原 GD3 によって活性化されるリポジェニック経路の中心的な転写因子となっている Sterol Regulatory Element Binding Protein (SREBP) -1 及び SREBP-2 活性化の分子メカニズムについて解析を行った。

【結果】

各種がん細胞における SREBP-1 及び SREBP-2 の発現

SREBP には SREBP-1 及び SREBP-2 の 2 種類が存在し、それぞれ異なる遺伝子によってコ

ードされている。SREBP-1 は、主に脂肪酸の合成に関与する遺伝子群の発現を調節しているのに対し、SREBP-2 はメバロン酸経路やコレステロール合成に関与する遺伝子群の発現を制御している⁷。そこで、メラノーマ細胞や他のヒトがん細胞で主に活性化されている SREBP について検討した。その結果、肺がんや乳がん、卵巣がん細胞と比較してヒトメラノーマ細胞では、SREBP-2 の活性化が亢進していた。よって、ヒトメラノーマ細胞では SREBP-2 に依存したコレステロール合成経路が活性化していることが推察された。

mTOR による SREBP 標的遺伝子の発現調節

我々は以前、SREBP-1 及び SREBP-2 の活性化が mTOR シグナルによって制御されていることを報告した⁶。したがって、mTOR シグナルが SREBP-2 の標的遺伝子の発現を制御しているか確認するため、定量 RT-PCR 法を用いて *HMGCR*、*HMGCS*、*LDLR* 遺伝子の発現を観察した。その結果、ヒトメラノーマ SK-MEL-28 細胞において、mTOR 阻害剤 rapamycin や Ku-0063794 がこれら遺伝子の発現を顕著に減少させることが示された。これらの結果から、mTOR は SREBP の活性化を介して、コレステロール合成関連遺伝子の発現を制御していることが示唆された。

mTOR による小胞体コレステロールレベルの調節

SREBP の活性化は細胞コレステロールレベルによって厳密に制御されている。特に、SREBP-2 は小胞体コレステロール含量のわずかな違いを感知して、その活性化が調節されていることが明らかになっている⁸。次に、我々は mTOR が小胞体コレステロールレベルを制御しているかにつき、検討した。小胞体コレステロールレベルは、小胞体に局在するコレステロールエステル化酵素 ACAT1 によるコレステロールのエステル化によって測定した。その結果、mTOR の阻害は小胞体コレステロールレベルを上昇させるのに対し、mTOR の活性化は小胞体コレステロールレベルを減少させることが示された。これらの結果より、mTOR が小胞体コレステロールレベルを制御することで SREBP-2 の活性化を調節していることが示唆された。

【考察】

SREBP によって制御されるリポジェネシスは、がん細胞の悪性形質発現に極めて重要な役割を演じている。がん細胞において、mTOR シグナルが SREBP の活性を調節していることが明らかになってきたが、その詳細な分子機序はほとんど明らかになっていない。本研究結果より、mTOR が小胞体コレステロールレベルを制御することで SREBP-2 の活性化及びそ

の標的遺伝子の発現を調節していることが示唆された (図 1)。がん細胞におけるリポジェニック経路活性化機序を明らかにする上で、mTOR が小胞体コレステロールレベルを制御するより詳細な分子メカニズムの解析が必要である。また、本研究成果により、ヒトメラノーマ細胞株において、SREBP-2 の顕著な活性化が認められた。今後は、メラノーマ組織における SREBP-2 の活性化や悪性度や予後との関連を解析することで、新しい予後予測因子の同定につながることを期待される。

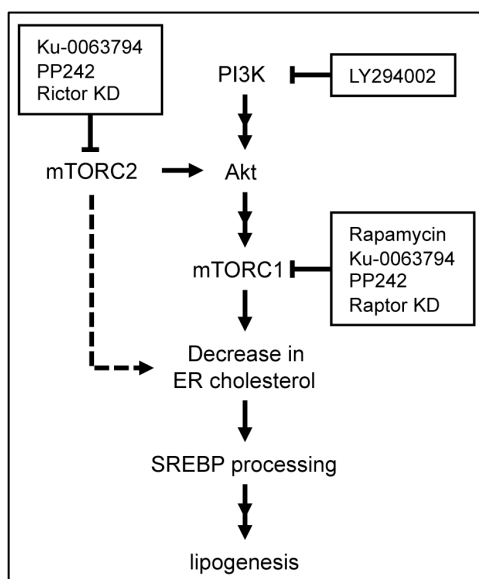


図 1. mTOR による SREBP 活性化制御モデル

【参考文献】

- 1 Schulze, A. & Harris, A. L. How cancer metabolism is tuned for proliferation and vulnerable to disruption. *Nature* **491**, 364-373, (2012).
- 2 Vander Heiden, M., Cantley, L. & Thompson, C. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* **324**, 1029-1033, (2009).
- 3 Menendez, J. & Lupu, R. Fatty acid synthase and the lipogenic phenotype in cancer pathogenesis. *Nat Rev Cancer* **7**, 763-777, (2007).
- 4 Gabitova, L., Gorin, A. & Astsaturov, I. Molecular pathways: sterols and receptor signaling in cancer. *Clin Cancer Res* **20**, 28-34, (2014).
- 5 Furukawa, K. et al. Fine tuning of cell signals by glycosylation. *J Biochem* **151**, 573-578, (2012).

- 6 Yamauchi, Y., Furukawa, K., Hamamura, K. & Furukawa, K. Positive Feedback Loop Between PI3K-Akt-mTORC1 Signaling and the Lipogenic Pathway Boosts Akt Signaling: Induction of the Lipogenic Pathway by a Melanoma Antigen. *Cancer Research* **71**, 4989-4997, (2011).
- 7 Horton, J., Goldstein, J. & Brown, M. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* **109**, 1125-1131, (2002).
- 8 Radhakrishnan, A., Goldstein, J., McDonald, J. & Brown, M. Switch-like control of SREBP-2 transport triggered by small changes in ER cholesterol: a delicate balance. *Cell Metab* **8**, 512-521, (2008).