

肝細胞癌におけるグルタミン代謝経路および mTOR 経路の複合遮断による抗癌作用

久保田 野々*[§] 納谷 裕子* 小山 雄一* 荻原 喜久美*

I. 研究の概要

【背景および目的】

肝細胞癌はアミノ酸トランスポーターである ASCT2 を介してグルタミンを取り込み、グルタミン酸へと加水分解する。グルタミン酸は ATP を産生し AMPK (AMP-activated protein kinase : AMPK) を抑制することで mTOR 経路を活性化

させる。この一連の代謝経路により、癌細胞は増殖のエネルギーを獲得すると考えられている。そこで、グルタミン代謝経路および mTOR 経路を複合遮断することで、単独阻害よりも有効な抗癌作用が得られると仮説を立てた。(図 1)

本研究では *in vitro* におけるグルタミン代謝経路および mTOR 経路の複合遮断による肝細胞癌治療への有効性の評価を目的とした。

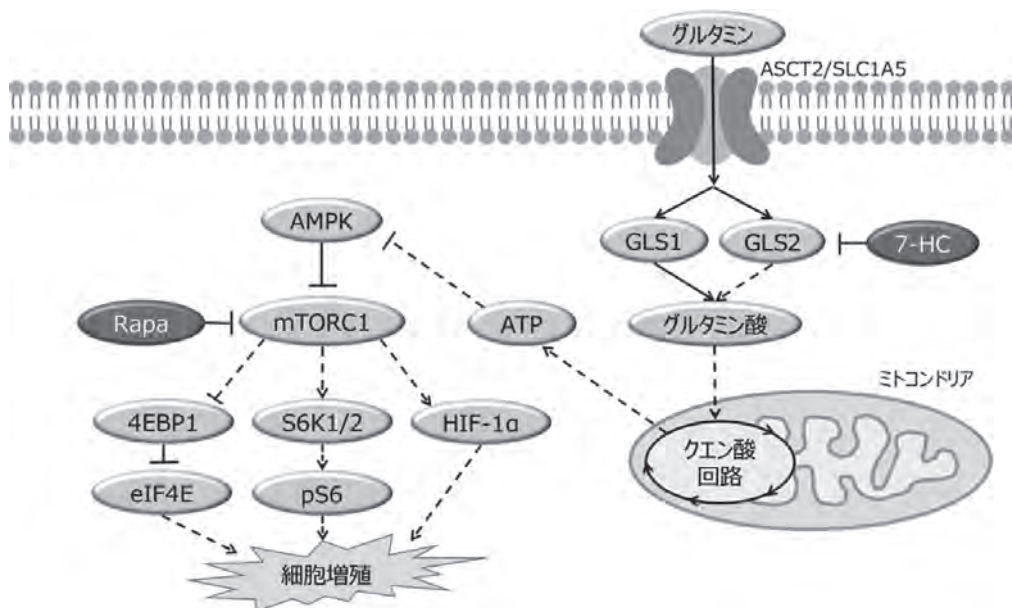


図 1 肝細胞癌におけるグルタミン代謝経路および mTOR 経路の複合遮断による抗癌作用

【材料および方法】

細胞株は正常ラット肝細胞由来細胞株 (BL9) およびアフラトキシン B1 誘発ラット肝細胞癌由来細胞株 (AFB1) を用いた。グルタミナーゼ阻害剤 (7-hydroxycoumarin : 7-HC)、mTORC1 阻害剤 (Rapamycin : Rapa) を用い、単独曝露群に Rapa (0.5 μ M) もしくは 7-HC (1 mM)、併用曝露群に Rapa (0.5 μ M) および 7-HC (1 mM)、対照群に 99.5% アルコール (溶媒の 1%) を 24 時間曝露し解析を行った。細胞傷害像の確認 (メイ・グリュンワルド・ギムザ染色)、細胞生存率分析 (トリパン青)、免疫染色 (Caspase-3、Ki67、8- ニトログアノシン、COX IV、LC3)、ウエスタンブロット分析 (Caspase-3、LC3、p62) および電子顕微鏡解析を行った。

【結果および考察】

AFB1 における Rapa および 7-HC の併用曝露群において、それぞれの単独曝露群と比較し空胞変性像数の増加 (メイ・グリュンワルド・ギムザ染色)、細胞生存率の低下 (トリパン青染色)、Caspase-3 陽性像の増加、Ki67 陽性像の低下、COX IV 陽性像の増加、LC3 陽性像 (免疫染色) の増加を認めた。ウエスタンブロット分析では併用曝露群において Cleaved caspase-3 および LC3-II の発現を認めた。電子顕微鏡解析では併用曝露群において核の断片化およびオートリソソームの形成が認められた。なお、BL9 においてはこれらの結果は認められなかった。

以上より、Rapa および 7-HC の併用曝露が肝細胞癌の細胞生存率の低下、細胞増殖能の低下、内因系アポトーシスの亢進およびオートファジーの亢進を誘導したと考えられる。したがって、グルタミン代謝経路および mTOR 経路の複合遮断によって肝細胞癌の増殖が特異的に抑制されることが示唆された。

II. 受賞の感想

この度は、第 16 回日本臨床検査学教育学会学

術大会において優秀発表賞にご選出いただき、大変光栄に思います。このような素晴らしい賞を受賞できたのも、研究の進め方について 1 からご指導してくださった研究室の先生方のおかげです。サポートしてくださったすべての方に、この場をお借りして御礼申し上げます。私にとって初めての学会発表でしたが、日頃から研究室で行っている研究の進捗報告会や英語論文講読会、組織標本プレゼンテーション等で培ってきたプレゼンテーション能力を十分に発揮することができたと感じています。

私は大学 2 年次に研究室に入室し、様々な英語論文の講読を通して 3 年次に研究内容を決定して以降、毎週実験を行い、進捗報告会にてプレゼンテーションを重ねてきました。これまで積み上げてきた資料の作成や発表のスキルを、当学会にて活かすことができ、自身にとって大きな自信へと繋がりました。この貴重な機会および本賞を与えてくださった皆様に厚く御礼申し上げます。

III. 将来への抱負

今回行った研究は、肝細胞癌にグルタミン代謝経路を阻害する 7-HC および mTOR 経路を阻害する Rapamycin を同時に曝露し、その抗癌作用を明らかにするというものでした。Rapamycin は現在、免疫抑制剤として治療に用いられることがありますが、癌治療においては薬剤耐性のつきやすさが問題として挙げられます。そこで、セカンドライン治療を見据え、Rapamycin および 7-HC の曝露を段階的にずらした実験を今後の研究の展望として掲げています。

私は来年度から、大学病院の病理部にて臨床検査技師として勤務する予定です。これまでの研究活動を通して得たプレゼンテーション能力や探究心を活かし、臨床検査技師として今後も継続的なスキルアップを目指し、より一層の努力をしてまいります。