

平成 21 年度 がん特定領域研究 若手共同研究報告書

研究課題名：癌細胞に特徴的な細胞内代謝による細胞死抑制因子 XIAP 発現誘導メカニズムの解明、ならびに、そのメカニズムを応用した新規がん治療法の開発

若手研究代表者（申請者）： 富山新太
所属研究機関： 山形大学 腫瘍分子医科学
共同研究者： 堀中 真野
所属研究機関： 京都府立医科大学 分子標的癌予防医学

研究成果概要 （600-800 字程度、図表を 1， 2 枚貼ってください。）

（目的）

難治性腫瘍に対する分子標的治療として、TRAIL とその周辺の分子は、腫瘍特異的に細胞死を誘導することから近年注目が集まっている。また、Warburg effect を代表とする腫瘍細胞特異的な細胞内代謝も新規がん治療のターゲットとして期待されていることから、今回我々は代表的な難治性腫瘍であるグリオーマ細胞を用いて、TRAIL に Warburg 効果を応用してその治療効果を高めることが出来ないか検討を行った。

（結果）

まず、ヒトグリオーマ培養細胞株である A172 細胞、U251 細胞に対し、TRAIL による処理を行うと 6 時間後に約 20% 程度の細胞死が Propidium iodide による核染色にて確認された。そこに解糖系阻害剤である 2-Deoxyglucose もしくは NaF にて処理を行う（＝腫瘍細胞内代謝の好気性代謝へのシフトさせる）と、細胞死はおよそ 60%～70% まで、有意差をもって増強された。従って、TRAIL と解糖系阻害剤の併用によって、より効率よくグリオーマ細胞に細胞死が誘導されることが明らかとなった。そこで次にこの細胞死のシグナルについて検討を行ったところ、カスパーゼの活性化、カスパーゼの基質である PARP の切断、ならびにアポトーシス促進性 Bcl-2 蛋白質である Bax の dimer 形成（＝活性化）、Bid の切断（＝活性化）が認められた（ Fig.1 ）。

続いて、このアポトーシスの更なる詳細な誘導メカニズムについて検討を行うために、細胞生存/細胞死の制御因子として注目を集めている MAPK(ERK) カスケード、PI3K(AKT) カスケードの関与についてウエスタンブロット法を用いて検討を行った。すると、TRAIL と解糖系阻害剤の併用によって、AKT の活性は大きく変化しなかったものの、ERK の活性、ならびに AKT-mTOR 経路の下流にあたる 4E-BP1 経路の活性化、P70S6K 経路の阻害が認

められたことから、これら分子の下流の制御因子が **TRAIL** と解糖系阻害剤による細胞死誘導メカニズムとして重要である可能性があると考えられた (**Fig.2**)。

そこで最後に、**4 E-BP1** の下流ならびに **ERK** 経路の下流の共通のターゲットである **c-Myc** に着目し、特異的阻害剤を用いて検討を行ったところ、**c-Myc** の阻害剤によって **TRAIL** 処理によって誘導されるカスパーゼの活性、そして細胞死が有意差をもって増強された (**Fig.3**)。

(結論)

解糖系阻害剤 (=腫瘍細胞内代謝の好気性代謝へのシフト) による **TRAIL** 依存性細胞死誘導の増強のメカニズムとして、**mTOR**⇒**c-Myc**、ないしは **ERK**⇒**c-Myc** 経路が重要であると考えられた。また、今後の **TRAIL** を用いたがん治療において、解糖系ならびに **c-Myc** は新規治療ターゲットとなり得る可能性があると考えられた。

Figure 1

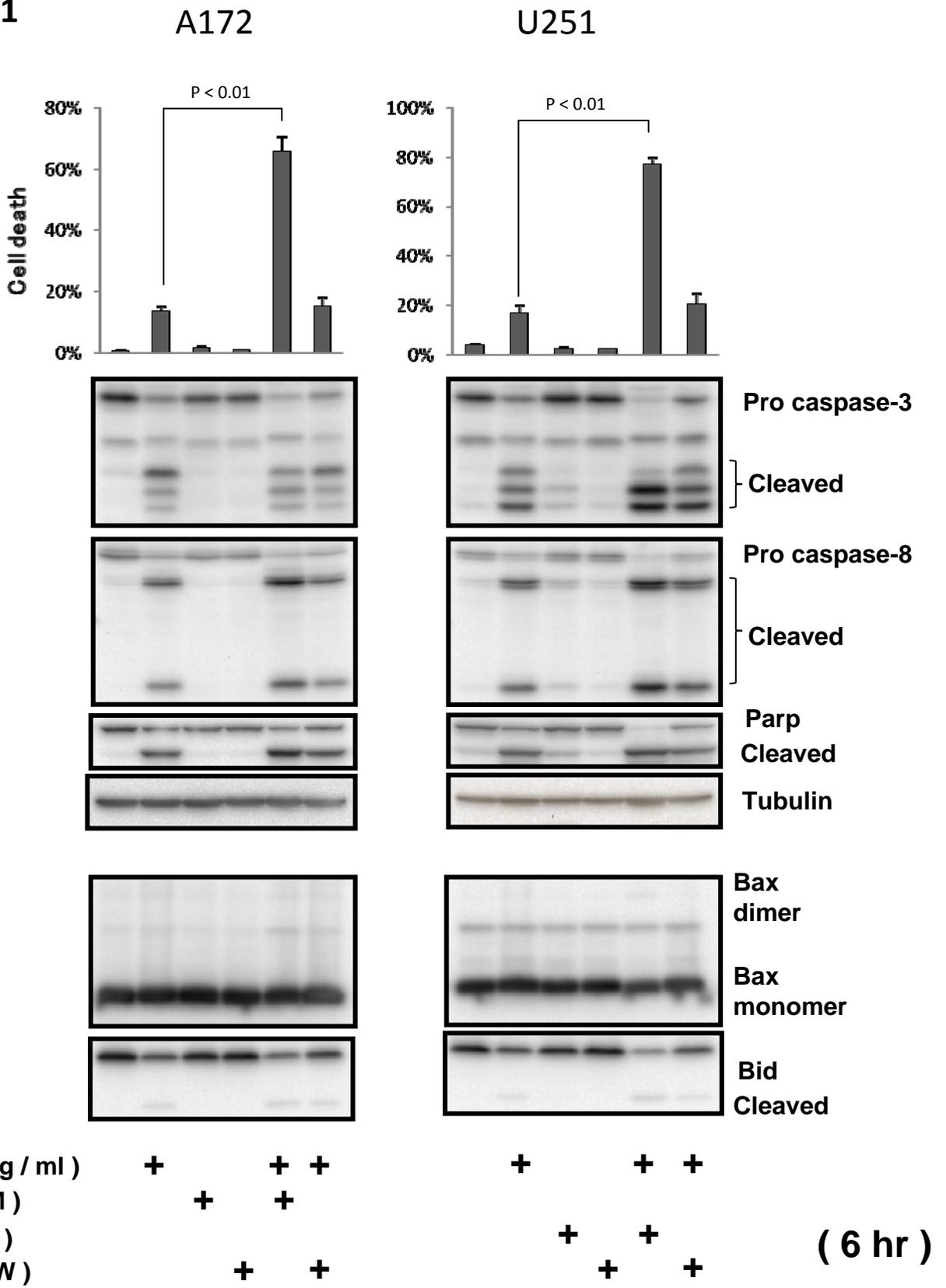
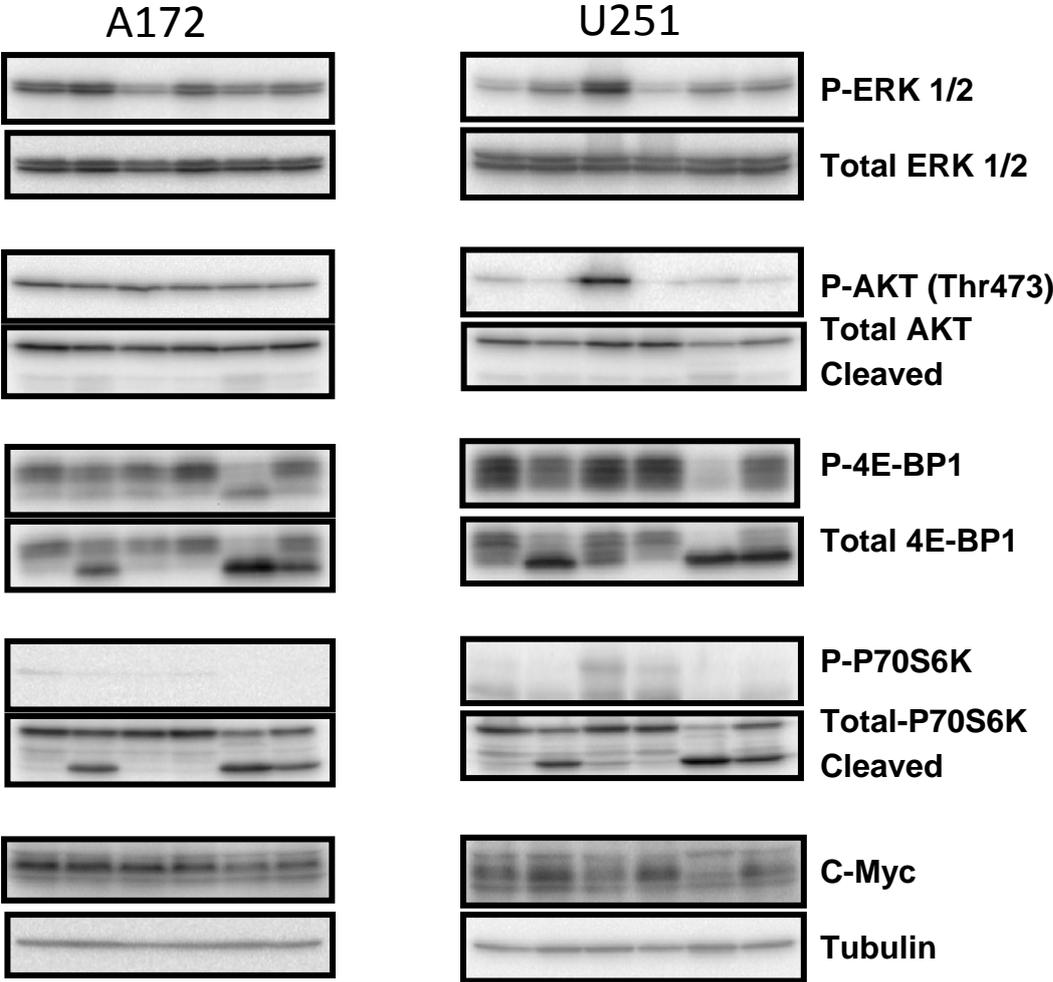


Figure 2



TRAIL (20ng / ml)
 2-DG (5 mM)
 NaF (1 mM)
 Vehicle (AW)

+		+	+
	+		+
		+	+
	+		+

+		+	+
		+	+
	+		+
		+	+

Figure 3

