

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	山口 一樹
論文題目	神経膠芽腫細胞におけるグルコース依存性及び SLC7A11/xCT 発現制御に対する細胞密度の影響と分子機構の研究		
(論文内容の要旨)			
<p>多くのがん細胞では、グルコースに対する輸送体や代謝酵素の発現量増加が見られ、取り込まれたグルコースはがん細胞の増殖と生存に必要なエネルギーと生合成中間体を供給するために利用される。さらに、ペントースリン酸経路などのグルコース代謝経路によって産生された還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate : NADPH) は、がん細胞の主要な抗酸化システムであるグルタチオンシステムにおける重要な電子供給体としての機能を持つ。そのため、グルコース欠乏環境下では多くのがん細胞は酸化ストレスを要因とした急速な細胞死を引き起こす。アミノ酸交換輸送体 SLC7A11/xCT は、細胞内グルタミン酸との交換により細胞外シスチンを細胞内に輸送する。SLC7A11/xCT を介して細胞内に輸送されたシスチンは、細胞内でシステインに還元され還元型グルタチオン (GSH) の生成に利用される。がん細胞における高いレベルの活性酸素種 (Reactive Oxygen Species : ROS) は、生存性や増殖能向上に寄与する一方で、細胞内 ROS が過剰に存在すると細胞死が引き起こされる。そのため、がん細胞は細胞内 ROS レベルを一定に調整するための抗酸化システムを増強させている。そのひとつである GSH 抗酸化システムに寄与する SLC7A11/xCT は、神経膠芽腫を含む様々ながん細胞で高発現していることが報告されている。ところが、SLC7A11/xCT を高発現している神経膠芽腫細胞において取り込まれたシスチンが、グルコース欠乏環境下では NADPH の枯渇、及び ROS 蓄積を伴った細胞死を誘導することが明らかになった。最近になって、この細胞死が異常なジスルフィド結合を伴う細胞死として Disulfidptosis と名付けて報告された。</p> <p>本論文の第一章では、神経膠芽腫細胞が高密度で存在すると、グルコース欠乏環境下でも細胞死が回避されることを見出したことを記載した。低密度状態では SLC7A11/xCT が高発現しており、グルコース欠乏下では細胞死が生じることにに対して、高密度状態では SLC7A11/xCT の発現レベルが低下しており、グルコース欠乏下での細胞死が認められなかった。さらに、高密度状態では mTOR 活性低下に伴ったリソソームにおける SLC7A11/xCT の分解が、SLC7A11/xCT の発現レベルの低下、並びにグルコース欠乏下での細胞生存に寄与することが明らかとなった。</p> <p>第二章では、神経線維腫症 2 型遺伝子 NF2/Merlin (Moesin-ezrin-radixin-like protein) 欠損細胞において、細胞が高密度状態にも関わらず SLC7A11/xCT の発現低下が認められず、グルコース欠乏下での細胞死が増加していることを見出したことを記載した。また、高密度状態では SLC7A11/xCT mRNA レベルが低下することに対して、NF2 KO 細胞の高密度状態においては SLC7A11/xCT mRNA レベルの増加が確認された。従って、高密度状態では mTOR 活性に依存しない NF2/Merlin を介した転写レベルでの SLC7A11/xCT 発現制御機構の存在が示された。</p> <p>以上本研究は、神経膠芽腫細胞における細胞密度状態に応じたグルコース欠乏下での細胞生存性を獲得する分子機構の一端を解明した。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

SLC7A11/xCT の発現が高いがん細胞においては、グルコース欠乏環境下で細胞内に大量のシスチンが取り込まれると、NADPH の枯渇及び ROS 蓄積を伴った細胞死が引き起こされる。最近になって、グルコース欠乏環境下においてシスチンの取り込みによって引き起こされる新しい細胞死概念、Disulfidptosis が報告された。ところが、この細胞死に関わる分子機構についてはあまり理解が進んでいなかった。申請者は、神経膠芽腫細胞を用いて細胞密度に対する SLC7A11/xCT の発現と細胞生存性に着目し、グルコース欠乏環境下においてシスチンの取り込みによって引き起こされる細胞死の制御に関わる分子機構の解明を試みた。

まず申請者は、神経膠芽腫細胞が高密度状態で存在すると SLC7A11/xCT の発現量が減少し、グルコース欠乏下においても細胞生存性が保たれることを見出した。そこで、低密度状態と高密度状態における神経膠芽腫細胞内の主なシグナル伝達を比較したところ、高密度状態では mTOR の活性低下が引き起こされていることが確認できた。さらに、高密度状態では mTOR の活性低下により SLC7A11/xCT がリソソームで分解されること、SLC7A11/xCT のリソソームでの分解がグルコース欠乏下における神経膠芽腫細胞の生存性維持に寄与していることが示された。一方申請者は、細胞密度の状態によって SLC7A11/xCT が転写レベルでも発現量の調節を受けていることを明らかにした。Hippo シグナル伝達経路で上流因子とされる神経線維腫症 2 型遺伝子 NF2/Merlin を欠損させた NF2 KO 細胞は、高密度状態にも関わらず SLC7A11/xCT の発現低下が認められず、グルコース欠乏下での細胞死の増加が示された。さらに、NF2 KO による SLC7A11/xCT タンパク質の発現低下の抑制は、mTOR 活性に依存していないことも示された。また、高密度状態では SLC7A11/xCT の mRNA レベルが低下することに対して、NF2 KO 細胞の高密度状態においては SLC7A11 mRNA レベルの増加が確認された。

本研究により、グルコース欠乏状態でも生存性を維持するシステムを神経膠芽腫細胞が獲得していることが明らかになり、その分子メカニズムの一端が解明された。神経膠芽腫を含む様々ながん細胞で高発現している SLC7A11/xCT は、細胞内の過剰な活性酸素種を除去する重要な役割がある一方で、グルコース欠乏環境下では細胞死を引き起こす。本研究は、神経膠芽腫細胞が SLC7A11/xCT の発現量を巧みに調節することで細胞生存性を維持していることについて、その分子メカニズムも含めて明らかにした。本研究成果が、新規の細胞死概念、Disulfidptosis に対する未解明な分子機構の解明にも寄与することが期待できる。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、分子生物学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい知見を示しており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。更に、令和6年2月9日に、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日：           年       月       日