

Title	Argininosuccinate Synthase 1-Deficiency Enhances the Cell Sensitivity to Arginine through Decreased DEPTOR Expression in Endometrial Cancer
Author(s)	大島, 健司
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/72482">https://hdl.handle.net/11094/72482</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 大島 健司	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 森中 真一
	副 査 大阪大学教授 野々村 祝夫
	副 査 大阪大学教授 悠ノ郷 淳
<p><b>論文審査の結果の要旨</b></p> <p>Argininosuccinate synthetase 1 (ASS1) はアルギニンde novo合成の律速酵素である。乳癌や膀胱癌、膠芽腫などではASS1の発現が低い患者群は予後が不良であると報告されているが、そのメカニズムは十分には明らかにされていない。今回我々は、子宮内膜癌において、ASS1の発現低下がmTOR抑制タンパク質であるDEPTORの発現低下を介してmTORC1シグナルを活性化し腫瘍の浸潤を促進することを見出した。まず、子宮頸内膜癌手術検体を用いてASS1免疫染色を行ったところ、浸潤部の腫瘍細胞でASS1の発現が低い傾向が認められた。2種類の子宮内膜癌細胞株を用いてASS1-knockout (KO)細胞を作成し機能解析を行ったところ、アルギニン枯渇後にアルギニンを再添加すると、ASS1-KO細胞はより高い浸潤能と移動能を示した。そのメカニズムとして、ASS1-KO細胞ではmTOR complexを構成するタンパク質の中で特異的にDEPTORの発現が低下しており、アルギニン枯渇後にアルギニンを再添加した際にmTORC1の活性化がより速く、より強く生じることが示された。さらに、ASS1-KO細胞におけるDEPTORの発現低下は、DEPTOR promotor領域のヒストンのメチル化を介することが示された。実際に子宮頸内膜癌手術検体を用いた免疫組織化学染色では、腫瘍浸潤先進部ではASS1の発現の低下とともにDEPTORの低下、mTORC1のシグナル活性化を示すpS6の増加を認めた。これらの結果は、同一腫瘍内のASS1の発現の多様性は、腫瘍微小環境におけるアルギニン濃度の変動に対するmTORC1シグナルの活性化を介して個々の腫瘍細胞の浸潤能に関連することを示唆するものであり、学位論文に値する。</p>	

## 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏名 Name	大島 健司
論文題名 Title	Argininosuccinate Synthase 1-Deficiency Enhances the Cell Sensitivity to Arginine through Decreased DEPTOR Expression in Endometrial Cancer (アルギニン合成律速酵素Argininosuccinate Synthase 1 によるmTORシグナルを介した子宮内膜癌浸潤制御機構)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>The increased use of arginine to fuel anabolic processes is recognized among the metabolic adaptations of cancer cells, and the endogenous production of arginine is insufficient to meet the demands of rapidly proliferating tumor cells. Thus, arginine is considered a semi-essential amino acid in certain circumstances such as tumor growth. Argininosuccinate synthetase 1 (ASS1) is a rate-limiting enzyme in de novo arginine biosynthesis. Paradoxically, although there is an increased demand for arginine by tumor cells, ASS1 expression levels are often reduced in several tumors and low ASS1 expression can be a poor prognostic factor. The mechanism underlying these findings is not fully understood. The purpose of this study is to elucidate the pathological significance of ASS1 expression and arginine metabolism in endometrial tumor cells.</p>	
<p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>ASS1-KO endometrial cancer cells generated by the Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR)/CRISPR-associated 9 (CRISPR/Cas9) system showed enhanced cell sensitivity to arginine and resulted in increased cell motility and invasion capability in response to arginine following arginine starvation <i>in vitro</i> functional assay. Further molecular analysis by DNA microarray analysis, real-time qPCR and immunoblotting revealed that ASS1-KO cells showed lower DEPTOR expression, resulting in faster and higher mTORC1 activation when re-supplemented with arginine following arginine starvation. ChIP assays with H3K4me3, H3K9me2 and H3K27me3 antibody showed that ASS1 positively regulated DEPTOR expression by altering histone methylation. Consistent with these <i>in vitro</i> results, immunohistochemistry using human endometrioid carcinoma clinical specimens demonstrated that cancer cells at the tumor invasive front showed lower ASS1 and DEPTOR expression, and higher ribosomal protein S6 phosphorylation (pS6) than those in the center of the tumor.</p>	
<p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>We demonstrated that endometrial cancer cells with decreased ASS1 expression show increased cell motility and invasion capability in response to changes in arginine concentration and tend to invade toward stroma, ahead of other ASS1-expressing cells. This is due to suppressed DEPTOR expression as a result of altered histone methylation. These findings provide novel evidence for the pathological significance of arginine metabolism within tumor cell heterogeneity and for the involvement of ASS1 in tumor cell properties.</p>	