



Title	Mitochondrial pyruvate carrier 1 expression controls cancer epithelial-mesenchymal transition and radioresistance
Author(s)	高岡, 祐史
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/81917
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	高岡 祐史
論文題名 Title	Mitochondrial pyruvate carrier 1 expression controls cancer epithelial-mesenchymal transition and radioresistance (ミトコンドリアピルビン酸輸送体1は癌の上皮間葉転換と放射線抵抗性をコントロールする)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 癌細胞は通常、解糖系による嫌氣的ATP産生がTCA回路および電子伝達系を介した好氣的ATP産生より優位であるとされている。これはワールブルグ効果として知られている。MPC (Mitochondrial pyruvate carrier) はミトコンドリア内膜に存在するピルビン酸のミトコンドリアへの取り込みを行うタンパク質であり、MPC1.2および3のサブタイプの存在が知られている。近年の研究では癌細胞においてMPC1は正常細胞と比較して低発現であり、一方でMPC2は高発現であることが報告された。このサブタイプごとの発現ミスマッチの理由に言及した報告はないが、我々の先行研究でMPC1の発現を抑制した肝内胆管癌細胞において上皮間葉転換 (EMT) が認められた。今回我々はMPCの発現抑制を用いてEMTのメカニズムの解明と治療抵抗性への影響を検討した。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 我々はTCGAデータベースとreal-time PCRを用いて、膵臓癌細胞株と結腸直腸癌細胞株のMPC1.2の発現を比較し、発現抑制に適した細胞株としてHT29、CaR1とMIA PaCa-2を選択した。まずsiRNAを用いてMPC1.2発現を抑制した株を作成したところ、MPC1抑制株で紡錘形への細胞形態変化が認められた。PCRを用いた検討ではCDH-1の発現低下とFN1の発現亢進を示した。間葉系細胞の特徴を示し、wound healing assayでもMPC1抑制株で遊走能の有意な亢進が認められた。次にMPC1抑制が引き起こすEMTの原因としてグルタミン代謝系に着目した。Glutaminase (GLS)はグルタミンをミトコンドリアに取り込む上で関与する酵素であり、GLS抑制細胞株のEMTマーカーをreal-time PCRとWestern blotで調べたところCDH1マーカー亢進が認められた。次にMPC1抑制株をグルタミンfreeの培地で培養したところE-cadherin発現が野生株と同程度まで改善し、グルタミン代謝物であるグルタミン酸を添加したところその変化はグルタミン含有培地と同程度まで低下した。さらにMPC抑制がGLSの発現亢進を引き起こすことをWestern blotで確認した。加えてMPC1の発現抑制細胞株をグルタミンfreeの培地で確認したところCDH1の発現がコントロール株と同程度まで改善することも確認された。 次にcolony formation assayを用いてMPC抑制が放射線治療の抵抗性に与える影響を検討したところ、MPC1抑制株は野生株に比して放射線照射後のコロニー生存率についても有意な亢進を認めた。解糖系に付随するペントースリン酸経路は主要なラジカルスカベンジャーであるGSHの産生経路として知られており、MPC抑制による解糖系の亢進が考えられた。	
〔総 括(Conclusion)〕 MPC1の発現低下によりグルタミンのミトコンドリア中への取り込み・代謝が亢進しEMTが促進され、さらには放射線感受性の低下も誘導することが確認された。本研究は、MPCによる癌のEMTメカニズムと放射線治療抵抗性獲得機構の一旦を初めて示した研究である。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 高岡 祐史		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 小川 和彦
	副 査	大阪大学教授 江口 英利
	副 査	大阪大学教授 小泉 雅彦

論文審査の結果の要旨

ミトコンドリアピルビン酸輸送体（MPC）は癌細胞と正常細胞において発現が異なることが知られている。本研究はMPCの発現が癌の悪性化に置いてどのような役割を果たすのか知るべく、MPCの発現抑制を用いてその変化を検討した。

MPC1抑制で細胞形態の変化および、EMTマーカーの間葉系変化などを認め、EMTを確認した。著者は本現象の原因としてグルタミン代謝系に着目し、MPC1の低下によるエネルギー基質欠乏の結果、Glutaminase (GLS) の代償的発現亢進によるグルタミンのミトコンドリア中への取り込み・代謝が亢進しEMTが促進されるというメカニズムが推測された。

さらにMPC1抑制株が野生株に比して放射線照射後のコロニー生存率についても亢進を認めることを確認した。

本研究はMPC1の癌部での発現低下が、グルタミン代謝による場合と同様の経路を介してEMTを誘導する可能性や放射線治療抵抗性に関与することを示した初めての論文であり、癌特異的代謝の一端を解明するものとして学位論文に値すると考えられる。