

氏名	西澤 諭		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 9 4 6 2 号		
学位授与年月日	令和 2 年 3 月 2 5 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Analysis of Mechanisms of Growth Suppression by Inhibition of Stearoyl CoA Desaturase and Glutamate Cysteine Ligase in Cancer Cells (癌細胞においてステアロイルCoA不飽和化酵素又はグルタミン酸システインリガーゼの阻害により誘導される増殖抑制の作用機序の解析)		
主査	筑波大学准教授	理学博士	坂本 和一
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	三浦 謙治
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	桑山 秀一
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	澤村 京一

## 論 文 の 要 旨

本論文は、脂肪酸生合成経路に着目し、「癌細胞においてステアロイル CoA 不飽和化酵素又はグルタミン酸システインリガーゼの阻害により誘導される増殖抑制の作用機序の解析」を行い、その成果について述べている。

脂肪酸生合成経路において飽和脂肪酸 (SFA) をモノ不飽和脂肪酸 (MUFA) に変換するステアロイル CoA 不飽和化酵素 (SCD) は、これまでも癌治療標的として報告されているが、阻害剤の臨床での有効性は証明されていない。また SCD 阻害による遊離脂肪酸等での不飽和化の減少は報告されているものの、網羅的な不飽和/飽和脂肪酸比の変動解析はされておらず、SCD 阻害による癌細胞での増殖抑制の作用機序も完全には解明されていない。さらに、新規の SCD 阻害化合物 T-3764518 の SCD 酵素阻害活性や腫瘍に対する増殖阻害活性は明らかにされていない。一方、グルタチオンは活性酸素ストレス防御分子の一つであり、グルタミン酸システインリガーゼ (GCL) がグルタチオン生合成経路の律速酵素として働く。GCL 阻害剤ブチオニンスルホキシミン (BSO) については癌での臨床試験で有効性は証明されておらず、GCL 阻害感受性の癌種や感受性患者層別化の指標も明らかにされていない。また、GCL 阻害により癌細胞の生存に及ぼす作用及び作用機序も解明されていない。本論文において著者は、SCD 及び GCL の阻害による癌細胞の生存に対する生理作用とその作用機序の解析を目的としている。

本論文の第一章で著者は、SCD に注目して新規の経口投与可能な低分子 SCD 阻害化合物 T-3764518 の抗癌作用及び SCD 阻害による癌細胞の生存に及ぼす作用を解析し、その成果について述べている。まず著者は、T-3764518 が SCD 酵素活性を阻害し、癌細胞において SCD によるステアロイル CoA からオレイル CoA への変換を阻害することを明らかにした。さらに著者は、大腸癌細胞株 HCT-116 を用いた増殖阻害試験の結果、T-3764518 により約 1-2nM の IC<sub>50</sub> 値での増殖阻害活性を示すことを明らかにした。また著者は、SCD 阻害による増殖抑制の作用機序を SFA 及び MUFA の単独及び SCD 阻害剤との併用での作用と比較し、MUFA により SCD 阻害による増殖阻害が回復し SFA 単独でも増殖抑制効果がみられたことから、

SFA と MUFA のバランスの異常が SCD 阻害による増殖抑制の作用機序において重要であることを明らかにした。また著者は、T-3764518 の HCT-116 xenograft モデルでの腫瘍内分布を経口投与後に測定し、0.3 mg/kg 投与で腫瘍内に増殖抑制の IC<sub>50</sub> 値の 100 倍超の化合物が分布することを見出した。さらに著者は、0.1mg/kg 以上の化合物投与で有意に腫瘍増殖が抑制され、T-3764518 が *in vivo* でも抗癌作用を示すことを明らかにした。さらに著者は、大腸癌細胞の培養系及び異種移植腫瘍において SCD 阻害による不飽和/飽和脂肪酸比の変動を網羅的に解析し、SCD 阻害により細胞膜の主要な構成成分であるホスファチジルコリンなどの脂肪酸種で不飽和/飽和脂肪酸比が低下することを明らかにした。第一章で著者は、不飽和/飽和脂肪酸バランスが癌細胞の生存に重要であり、T-3764518 が新たな癌治療薬候補として有用であると結論づけている。

第二章で著者は、グルタチオン産生経路の律速酵素である GCL の阻害が癌細胞の生存に及ぼす影響及びその作用機序を解析し、その成果について述べている。著者は、膵癌細胞株 PANC-1 において、BSO が濃度依存的にグルタチオン産生及び細胞増殖活性を抑制することを見出した。さらに著者は、BSO による細胞増殖抑制作用がシステイン供与体 N-アセチルシステイン及び GSH 誘導体により解除されたことから、細胞内グルタチオンの抑制により増殖抑制が誘導されることを明らかにした。さらに著者は、BSO により脂肪酸過酸化が誘導され、BSO の増殖阻害作用が鉄添加により増強されフェロトシス阻害化合物 ferrostatin-1 により解除されることから、GCL 阻害によりフェロトシスが誘導されることを明らかにした。また著者は、21 種の細胞株からなる癌細胞パネルを用いた BSO 感受性試験を実施し、腎癌及び膵癌が高感受性であることを見出した。さらに著者は、細胞内 GSH と BSO 感受性の相関を解析し、細胞内グルタチオンレベルが低い細胞ほど感受性が高い傾向となったことから、細胞内グルタチオンレベルが GCL 阻害剤の感受性の指標となることを発見した。第二章で著者は、GCL 阻害により癌細胞でフェロトシスが誘導されること、グルタチオン経路による脂肪酸過酸化からの防御が癌細胞の生存に重要であること、さらに腫瘍内の低グルタチオンレベルの解析により GCL 阻害剤感受性の患者の層別化が可能であると結論づけている。

本論文において著者は、癌細胞での SCD 阻害による脂肪酸変動を網羅的に解析し、細胞膜を構成する主要な脂肪酸種で不飽和/飽和脂肪酸比が低下することを明らかにした。さらに、著者は SCD 阻害により癌細胞において不飽和/飽和脂肪酸バランスの破綻により小胞体ストレス及びアポトーシスが誘導され増殖が抑制されることを明らかにした。著者は、新規の SCD 阻害化合物 T-3764518 について SCD 酵素阻害活性及び癌細胞の増殖阻害作用を明らかにし、新規阻害化合物 T-3764518 の癌治療薬としての可能性を述べている。加えて著者は、GCL 阻害により癌細胞のフェロトシスが誘導されること、また癌細胞パネル試験の結果から腎癌及び膵癌が GCL 阻害剤に高感受性であることなどを明らかに出来たと述べている。

## 審 査 の 要 旨

本論文は、ステアロイル CoA 不飽和化酵素 (SCD) の新規阻害化合物 T-3764518 の癌治療薬としての可能性を検討し、SCD の癌における機能解析を行ったものである。その結果、(1) SCD 阻害により癌細胞において不飽和/飽和脂肪酸バランスの破綻により小胞体ストレス及びアポトーシスが誘導され癌細胞の増殖が抑制されることを明らかにした。また、(2) グルタミン酸システインリガーゼ (GCL) の阻害剤 BSO により、細胞内グルタチオン産生抑制によりフェロトシスが誘導されること、癌細胞パネルでの検討により腎癌及び膵癌細胞株が高感受性であること、さらに細胞内グルタチオンレベルの低い癌細胞が GCL 阻害に高感受性であることなどを明らかにした。これらの研究成果は、癌細胞の代謝及び生存における SCD 及び GCL の機能並びにこれらの分子の癌治療標的としての可能性を示したもので、学術的にも大きな意義があるばかりでなく、癌の新たな薬剤治療法開発の道を拓くもので、その功績は極めて大きい。

令和 2 年 1 月 28 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (生物科学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。