

mTOR 複合体によるがん細胞の代謝の変化とその意義

鬼塚 裕美, 増井 憲太, 柴田 亮行

近年、悪性脳腫瘍を含むがんの病態に関与する因子として、代謝の再プログラム化 (metabolic reprogramming: がん代謝) が注目を集めている。さらには、適切に細胞内代謝を制御し細胞生存を図るためには、微小環境における栄養状態を的確に感知し、応答するシステムが必要である。本稿では、悪性脳腫瘍をモデルとして、がん代謝の活性化機構、グルコースやアミノ酸など栄養素の感知機構や、それにより誘導されるエピジェネティクス変化に着目することで、がん細胞が微小環境に応答し生存を図る分子機序の解明を目指し、がんの新たな治療開発につながりうる病態を明らかにしようとする取り組みについて概説する。

1. はじめに

最新の人口動態統計を基にした、日本人の死亡原因の第一位は男女ともに悪性新生物であり、いまや国民病ともいえるがんであるが、近年の基礎および臨床研究の進歩により、種々の効果的な治療法が開発され、たとえ発見時に進行がんであっても、長期生存を得られる症例が増加している。しかしながら、症例数の少なさから、その病態および治療法の開発が大きく遅れている、いわゆる希少がんにおいては、いまだ患者の予後改善はほとんどみられていない。希少がんとは、“人口10万人あたりの年間発生率（罹患率）が6例未満のもの”と定義され、悪性脳腫瘍や骨肉腫、小児がんなどがこれに該当する。希少がんは生存率も他のがんに比べて低いなど、多くの課題を残しているが、たとえば、悪性脳腫瘍である膠芽腫（グリオブラストーマ）は、外科手術、化学療法および放射線療法といった集学的治療にもかかわらず診断後の平均生存期間は12~15

か月にとどまる¹⁾。分子標的治療などの新規治療にも抵抗性を示し、過去20年以上もの間、生存率の向上はほとんどみられず、新たな治療法につながる病態解明が強く求められている。このような希少がんの病態解明および治療法の開発を目指し、The Cancer Genome Atlas Project (TCGA) など、多施設による大規模な共同研究プロジェクトが進められ、種々の希少がんにおいてその遺伝学的な背景が徐々に明らかとなってきた。そのような現状においては、次なるステップとして、種々のがんを特徴づける遺伝子異常に起因する、細胞特性の違いを解明することで、がんの治療抵抗性に関わる因子の抽出が可能になると考えられる。

腫瘍細胞の増殖や治療反応性を含む、がんの生物学的特性を左右する因子として、代謝の再プログラム化 (metabolic reprogramming: がん代謝) が注目を集めている。腫瘍細胞は好氣的解糖、アミノ酸代謝、脂質および核酸合成の亢進といったがん代謝を生存に有利に利用し、代謝を介したエピジェネティクス変化 (DNAやヒストン修飾などDNAの塩基配列変化によらない遺伝子発現制御システム) により未熟性を維持することが知られている。興味深いことには、近年の分子生物学的な解析により、がんにおける代謝の活性化は、遺伝子変異に基づく異常シグナルにより自律的に制御されていることがわかってきた²⁾。すなわち、がんを特徴づける遺伝子異常が、代謝の再プログラム化という表現型を通して、その悪性化に関与しているという新しい病態が明らかになってきているといえよう。一方、細胞内代謝に利用される基質に関しては、細胞外環境に存在する栄養素の状態に大きく左右されることになる。

東京女子医科大学医学部病理学（病態神経科学分野）（〒162-8666 東京都新宿区河田町8-1）

The significance of metabolic and epigenetic regulation by mTOR complexes in cancer cells

Hiroimi Onizuka, Kenta Masui and Noriyuki Shibata (Department of Pathology, Division of Pathological Neuroscience, Tokyo Women's Medical University, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku, Tokyo 162-8666, Japan)

本論文の図版はモノクロ（冊子版）およびカラー（電子版）で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910044

© 2019 公益社団法人日本生化学会

したがって、微小環境における栄養状態を的確に感知し、応答するシステムが、がん細胞の生存戦略には必須である。これらの妙技を達成するため、がん細胞は、その進化の過程において、がん代謝を介する遺伝子異常と微小環境との巧妙な相互作用を利用する。

このような背景を考慮し、本稿では、悪性脳腫瘍をモデルとして、1) がん細胞における遺伝子・シグナル異常が細胞内代謝を活性化する機構、2) がん細胞が微小環境の栄養素を的確に感知し応答する機序、3) これらの代謝活動の変化により遺伝子発現および表現型を変えることで、がん細胞が生存を促進する新たな病態について、特に悪性脳腫瘍を含む多くのがんで異常活性化が認められる mammalian/mechanistic target of rapamycin (mTOR) 複合体の役割に着目して紹介する。

2. mTOR複合体とがん代謝

がんの initiation および progression において、中心的な役割を果たす特異的現象 (hallmark) が存在することが提唱されたが、がんの新たな特徴の一つとして、代謝の再プログラム化が注目を集めている³⁾。がん細胞では、グルコー

ス (ブドウ糖) の大部分が、乳酸へと変換され、その過程で、生体分子の生合成に必要な炭素を含有する前駆体として供給される。これは、正常細胞とは異なり、十分な酸素の存在下においても解糖系が優先されることによるもので (発見者に基づき、“ワールブルグ効果”と呼ばれる)、急速に増殖するがん細胞の同化およびエネルギー需要を満たす役割を果たす⁴⁾。がん細胞がワールブルグ効果を制御する分子機序を明らかにすることができれば、がんの病態解明、ひいては新規治療標的の同定やがんの治療抵抗性における機序が明らかになる可能性がある。

がんは基本的に遺伝子異常に基づく疾患であり³⁾、実際に脳腫瘍の新分類 (WHO 2016 分類) などでも、その病理診断においては分子遺伝学的所見が組織学的形態所見に優先される⁵⁾。したがって、がん細胞における、自律的な代謝経路亢進という表現型の背景には、遺伝子およびシグナル異常が存在することが推測される。悪性脳腫瘍を含む多くのがんにおいて、epidermal growth factor receptor (EGFR) およびその下流に存在する mTOR 複合体の異常が存在することが、TCGAをはじめとする多施設大規模解析により明らかとされた⁶⁾。mTOR はタンパク質複合体として働き、mTOR キナーゼが Raptor, PRAS40, mLST8, Deptor およ

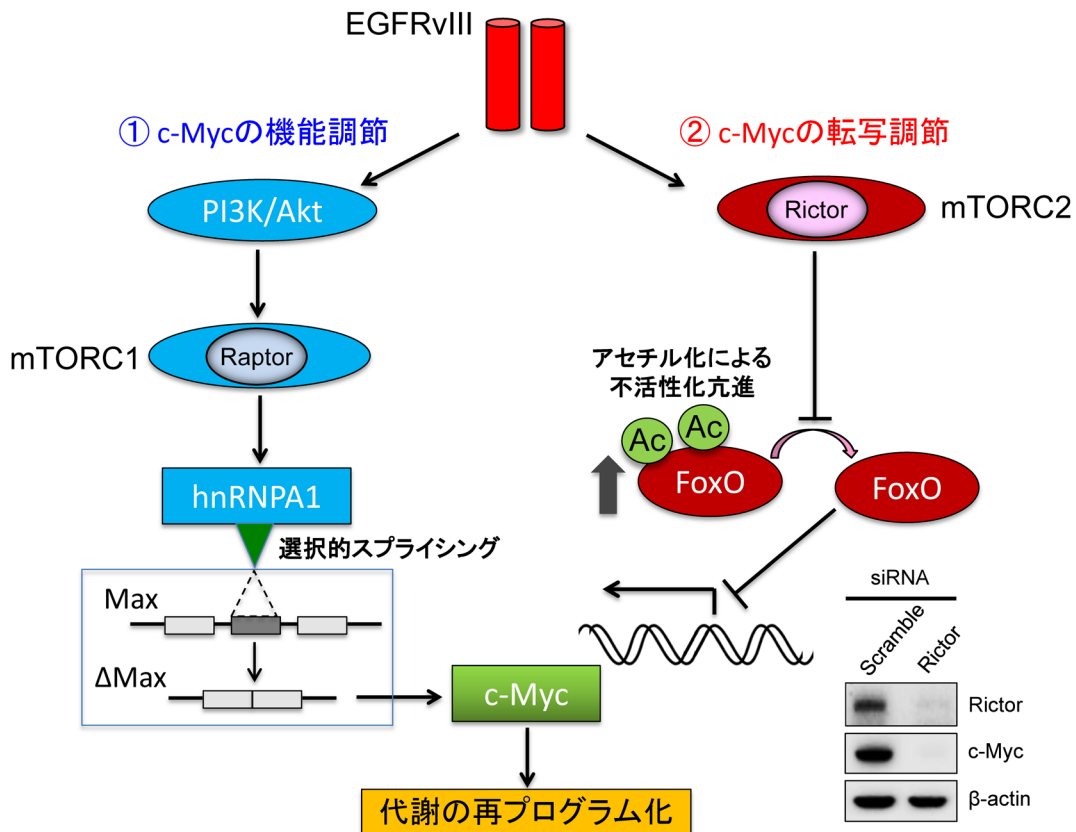


図1 二つのmTOR複合体によるがん代謝の協調的制御

ウェスタンブロットによる実験では、膠芽腫細胞株 (U87) において、Rictorのノックダウンにより mTORC2の機能を抑制すると、ワールブルグ効果の重要な調節因子である c-Mycの発現が減弱する。EGFRvIII: epidermal growth factor receptor variant III, PI3K: phosphoinositide 3-kinase, mTORC1/2: mammalian/mechanistic target of rapamycin complex 1/2, HDAC: histone deacetylase, hnRNPA1: heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, Max: myc-associated factor X, FoxO: forkhead box O, Ac: アセチル基, Raptor: mTORC1の主要構成因子, Rictor: mTORC2の主要構成因子。

びTti1/Tel2を介して形成されるmTOR複合体1 (mTORC1)と、mTORキナーゼがRictor, Protor1/2, mLST8, DeptorおよびTti1/Tel2を介して形成されるmTOR複合体2 (mTORC2)の2種類が存在する。EGFRなどの成長因子受容体を含む、細胞内外からのシグナルは、セリン・トレオニンキナーゼであるmTOR複合体により統合され、細胞増殖および代謝信号として伝達されることが知られていたが、特にmTORC2に関しては、がんの代謝調節における重要性が不明であった。

そこで我々は、mTOR複合体のがん代謝における働きを、ワールブルグ効果の重要な調節因子であるc-Myc²⁾との関係に注目して解析することを試みた。ヒト膠芽腫細胞由来であるU87細胞株に、EGFRの恒常的活性型変異体であるEGFR variant III (EGFRvIII)を発現させ、mTORC1およびmTORC2を活性化させた細胞 (U87-EGFRvIII細胞)を用いた解析の結果、mTORC1はc-Mycの結合タンパク質であるmyc-associated factor X (MAX)の選択的スプライシングを制御することで、機能的にc-Myc活性を高め、解糖系を促進することがわかった⁷⁾。一方、mTORC2はc-Mycの負の制御因子である転写因子FoxOを、アセチル化を介して不活性化し、c-Mycの発現を転写レベルで上昇させ、悪性脳腫瘍の代謝調節を行っていた⁸⁾。すなわち、

悪性脳腫瘍で最多のEGFR遺伝子異常のもと、mTORC1とmTORC2という二つの複合体が協調的に働くことで、c-Mycおよび代謝が活性化される新規の病態が明らかとなった (図1)。EGFRを含む成長因子受容体は、受容体型チロシンキナーゼであるが、この遺伝子異常は多くのがんで観察される重要なドライバー変異として認識されており、c-Mycを介した代謝の活性化機構は、脳腫瘍を超えた多くのがんが存在する、普遍的な現象である可能性が示唆される。

3. 微小環境センサーとしてのmTOR複合体

我々は、これまでにmTOR複合体が悪性脳腫瘍の代謝活性化に重要であることを明らかにしてきたが^{7,8)}、適切な場所とタイミングで代謝の活性化を誘導するためには、細胞が複雑な微小環境における栄養状況を的確に感知する必要がある。そこで引き続き、細胞外に存在する栄養素を感知することで、がん細胞が生存を図る可能性について検討を行った。

1) グルコースセンサーとしてのmTOR複合体

前述のように、がん細胞では、十分な酸素存在下におい

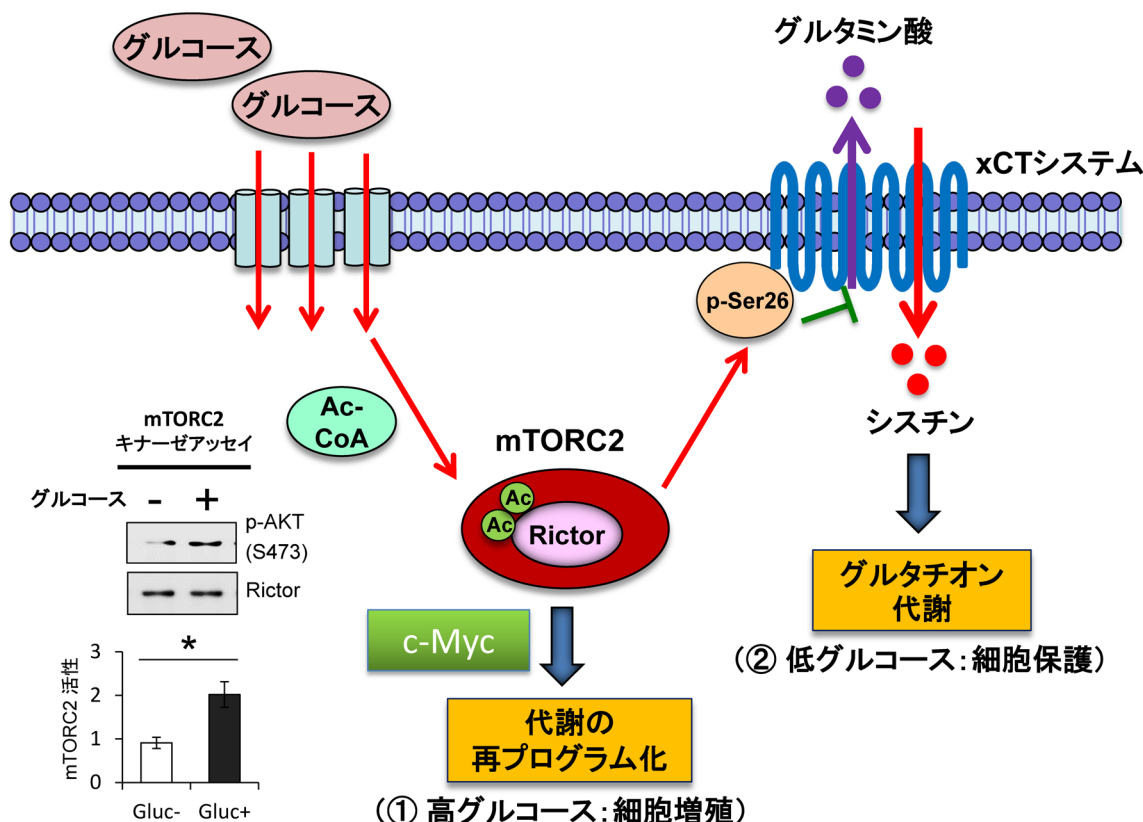


図2 グルコースおよびアミノ酸センサーとしてのmTOR複合体

グルコースの存在により活性化されるmTORC2は、グルコースセンサーとしての役割を果たす。低栄養 (低グルコース) 環境では、mTORC2による抑制が解除され、活性化されるxCTシステムにより、細胞保護の方向へアミノ酸代謝が変化する。mTORC2のキナーゼアッセイでは、グルコース濃度に応じて、mTORC2の機能 (p-Akt S473) が変化的ことが示された。Ac-CoA: アセチル CoA, Ac: アセチル基, Gluc: グルコース, p-Ser26: xCTの26番目セリン残基のリン酸化, *p<0.05。

でも、グルコースの大部分が乳酸へと変換され、巨大分子の生合成に必要な炭素を含有する前駆体として供給される（ワールブルグ効果）^{2,4)}。すなわち、がん細胞は自身の増殖に関してグルコースに依存した状態であり、グルコースの存在状況を適切に感知し応答することは、その生存において最重要事項であると考えられる。膠芽腫細胞の培養系列における解析の結果、グルコースを細胞培地に添加すると、Aktのリン酸化（Ser473）で代表される、mTORC2からの信号が活性化される興味深い知見が得られた^{9,10)}。詳細な生化学的解析の結果、細胞外のグルコースが増加すると、中間代謝産物である細胞内のアセチル補酵素A（アセチルCoA）濃度が上昇し、mTORC2の主要構成要素であるRictorのアセチル化を介してmTORC2が活性化された（図2①）。これらの結果は、がん細胞において、mTORC2がグルコース濃度を感知するセンサーとして働く可能性を示している。

2) アミノ酸センサーとしてのmTOR複合体

mTORC2とサブユニット構成の異なるmTORC1は、アミノ酸のロイシンやアルギニンにより活性化されるなど、重要なアミノ酸感知センサーとしての役割が報告されているが¹¹⁾、mTORC2とアミノ酸代謝に関しても興味深い関連が近年明らかとなった。mTORC2は、シスチン・グルタミン酸交換輸送体であるxCTの26番目セリン残基をリン酸

化することで抑制的に作用し、グルタチオン代謝の重要な制御因子として働くことがわかった¹²⁾。グルタチオンは、還元力を利用した活性酸素種の除去に重要な役割を果たし、細胞の保護に必要な分子として認識されている。このシステムにより誘導される、mTORC2を介したグルコース代謝とアミノ酸代謝のクロストークが、がん細胞の微小環境への応答と細胞生存を可能とする。前述のように、細胞外でグルコース濃度が増加した際は、グルコースセンサーであるmTORC2が活性化される^{9,10)}。換言すると、グルコース濃度が低下した低栄養環境では、mTORC2が不活性化され、mTORC2により抑制性の制御を受ける、シスチン・グルタミン酸交換輸送体であるxCTが逆に活性化される。この機構により、低栄養環境下では、腫瘍細胞は細胞増殖状態からグルタチオン代謝を介する細胞保護状態へとスイッチを切り変えることで、その生存を図るのである（図2②）。

4. 代謝の再プログラム化がもたらすがんの病態：悪性脳腫瘍におけるエピジェネティクス制御

これまでの研究結果により、がん細胞が自身の細胞内代謝を活性化するのみならず、微小環境における栄養素（グルコース、アミノ酸）の状態を感知し的確に応答することで、細胞生存を図っていることが明らかとなってきた。こ

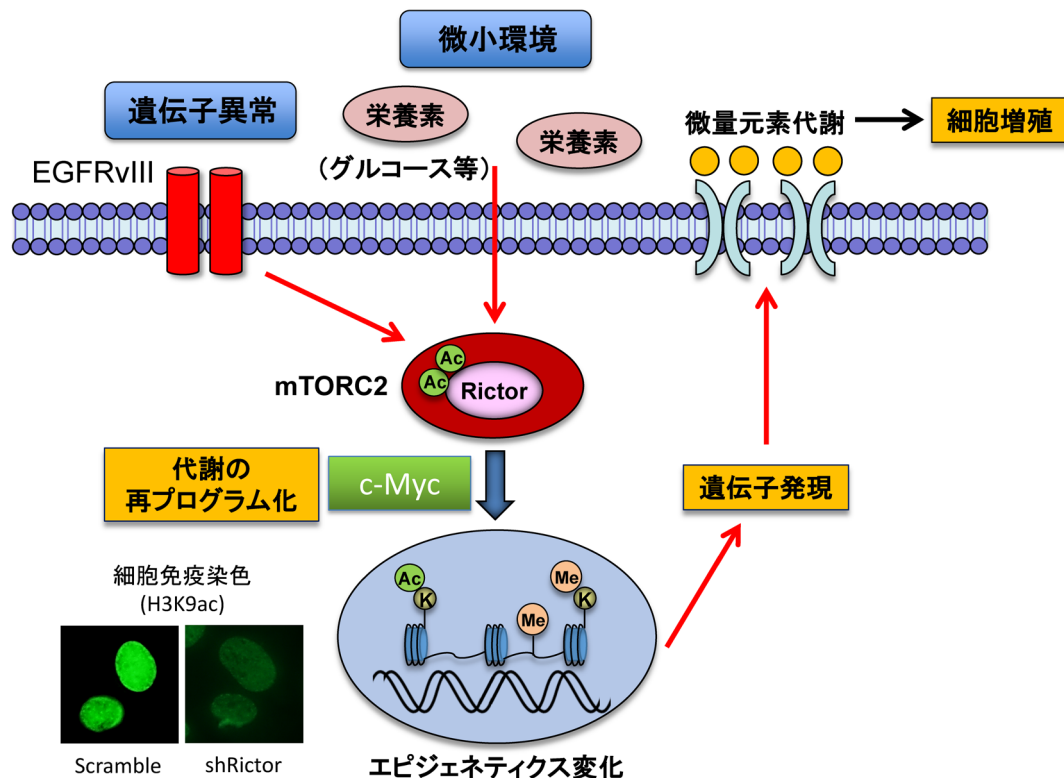


図3 エピジェネティクスを介するがん細胞の微小環境応答機構

栄養素（グルコース）が存在すると、mTORC2 依存的に促進されるエピジェネティクス変化を介して、細胞増殖へつながる微量元素代謝に関連した遺伝子群の発現が亢進する。免疫細胞染色では、膠芽腫細胞において、Rictor のノックダウンによりmTORC2の機能を抑制すると、ヒストンアセチル化（H3K9ac）の発現が減弱する。Ac：アセチル基，Me：メチル基，K：リシン残基。

の際には、栄養素および細胞内代謝の状態に応じて、生存に必要な遺伝子群の発現が大きく変化していることが予想される。そこで、細胞外に存在する栄養素の状態に対応する、がん細胞の生存に関わる遺伝子発現の変化および制御機序に関して、細胞内代謝および中間代謝産物と特に密接な関係にあるエピジェネティクス制御に着目して、網羅的な解析を行った。

中間代謝産物であるアセチルCoAやS-アデノシルメチオニン (SAM) は、ヒストンタンパク質をはじめとする核内タンパク質の翻訳後修飾 (アセチル化、メチル化)、すなわちエピジェネティクス変化 (DNAの塩基配列変化によらない遺伝子発現制御システム) に強く影響を及ぼす^{13, 14)}。解析の結果、グルコースの添加により、mTORC2によるアセチルCoAの産生を介して、腫瘍細胞の核内で種々のヒストンアセチル化が促進された。続いて、ChIP-sequencing法による解析では、同機序により、プロモーター領域の特定のヒストンアセチル化が調節されることで、鉄をはじめとする微量元素代謝に関わる遺伝子群の発

現が亢進することがわかった (論文投稿中)。注目すべきことに、mTORC2を介した鉄代謝遺伝子の発現亢進が、がん細胞の増殖促進や、細胞の未熟性維持に関与する可能性を示す、予備の結果が得られている。すなわち、グルコースの存在下では、mTORC2を介したエピジェネティクス変化が促進され、がん細胞の増殖および生存に必要な微量元素代謝に関連する遺伝子発現が亢進する、まったく新しい病態が明らかとなった (図3)。

5. おわりに

がん細胞はさまざまな特異的現象を示すことが知られているが、近年代謝の活性化が重要な特徴の一つであることが再認識されている。我々はこれまでに、多くのがんで異常活性化が認められるmTOR複合体が、代謝の再プログラム化に重要な役割を果たすことを明らかにしてきたが、さらなる解析の結果、微小環境の栄養センサーとしての役割も解明されつつある。また、これらの現象が、エピジェ

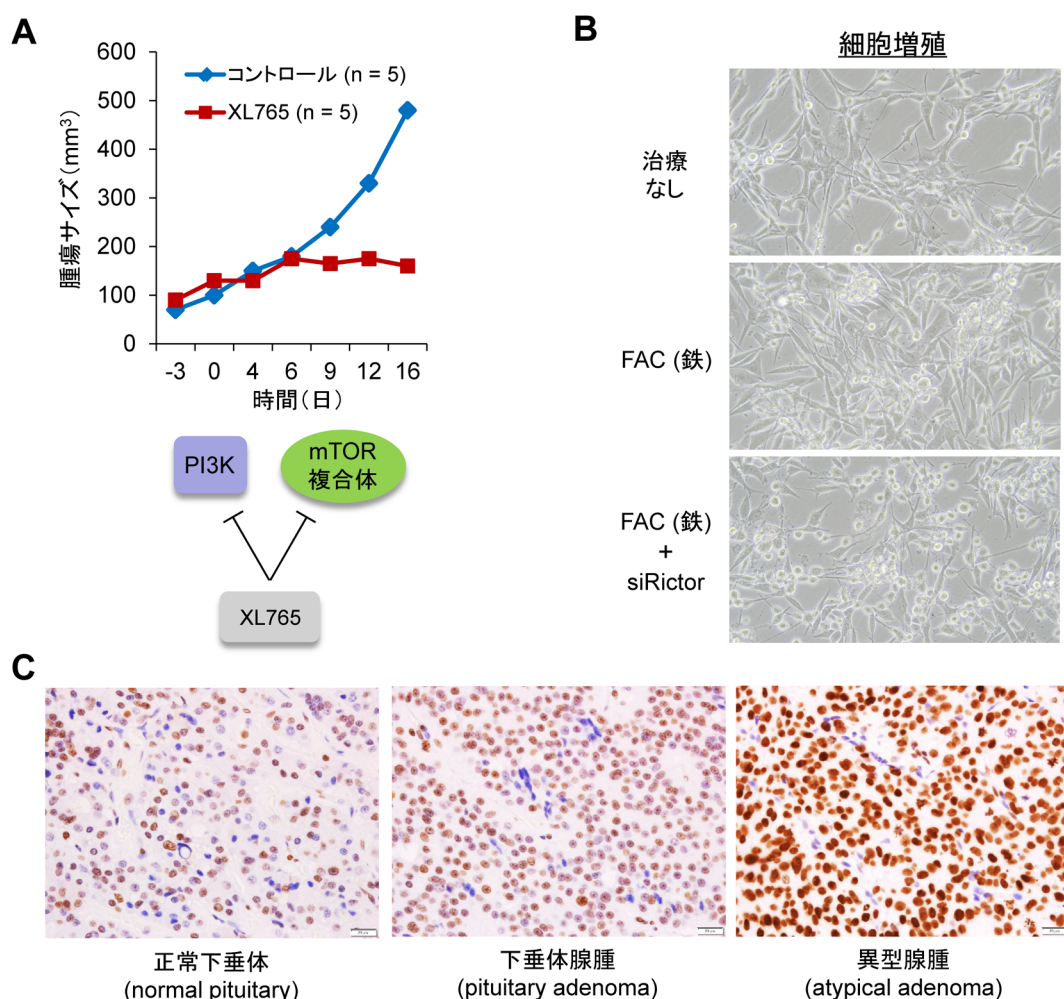


図4 腫瘍細胞における代謝亢進とエピジェネティクス変化の意義

(A) PI3KおよびmTOR複合体の両阻害剤 (XL765) で治療した腫瘍細胞移植マウスモデルにおける腫瘍の大きさの推移。(B) 鉄 (ferric ammonium citrate : FAC) を細胞培養培地へ添加すると、細胞増殖が有意に促進されるが、同時にmTORC2の機能を阻害すると (siRictor : Rictorノックダウン)、その効果が相殺される。(C) 下垂体腫瘍においては、悪性化の程度とヒストンアセチル化 (H3K9ac) のレベルが相関する。

ネティクス制御を介して、細胞生存に傾く悪性脳腫瘍の表現型に大きな影響を与えるとともに、がん細胞が適切に微小環境に応答することを可能とする。注目すべきことに、いまだ基礎研究レベルではあるものの、これらの病態の中心を担っているmTOR複合体へ介入することで、がん細胞の増殖を有意に抑制することができ、さらには、他の脳腫瘍の悪性化においても、同様のエピジェネティクス制御機構が関与している可能性が、病理組織学的に示唆されている(図4)。将来的には、mTOR複合体による、代謝の活性化を介したエピジェネティクス制御機構の解析を、ヒストンのメチル化やDNAのメチル化といった現象にまで拡張することで、細胞運命を左右する代謝現象のハブとしての、mTOR複合体の役割がさらに詳細に解明されていく可能性があり、いまだ有効な治療法が存在しない悪性脳腫瘍を含む希少がんに対して、今後の創薬研究としての発展が期待される¹⁵⁾。

文 献

- 1) Masui, K., Mischel, P.S., & Reifenberger, G. (2016) Molecular classification of gliomas. *Handb. Clin. Neurol.*, **134**, 97–120.
- 2) Pavlova, N.N. & Thompson, C.B. (2016) The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell Metab.*, **23**, 27–47.
- 3) Hanahan, D. & Weinberg, R.A. (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, **144**, 646–674.
- 4) Vander Heiden, M.G. & DeBerardinis, R.J. (2017) Understanding the Intersections between Metabolism and Cancer Biology. *Cell*, **168**, 657–669.
- 5) Komori, T. (2017) Updated 2016 WHO classification of tumors of the CNS: turning the corner where molecule meets pathology. *Brain Tumor Pathol.*, **34**, 139–140.
- 6) Brennan, C.W., Verhaak, R.G., McKenna, A., Campos, B., Nounshmehr, H., Salama, S.R., Zheng, S., Chakravarty, D., Sanborn, J.Z., Berman, S.H., et al. (2013) The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell*, **155**, 462–477.
- 7) Babic, I., Anderson, E.S., Tanaka, K., Guo, D., Masui, K., Li, B., Zhu, S., Gu, Y., Villa, G.R., Akhavan, D., et al. (2013) EGFR mutation-induced alternative splicing of Max contributes to growth of glycolytic tumors in brain cancer. *Cell Metab.*, **17**, 1000–1008.
- 8) Masui, K., Tanaka, K., Akhavan, D., Babic, I., Gini, B., Matsutani, T., Iwanami, A., Liu, F., Villa, G.R., Gu, Y., et al. (2013) mTOR complex 2 controls glycolytic metabolism in glioblastoma through FoxO acetylation and upregulation of c-Myc. *Cell Metab.*, **18**, 726–739.
- 9) Masui, K., Tanaka, K., Ikegami, S., Villa, G.R., Yang, H., Yong, W.H., Cloughesy, T.F., Yamagata, K., Arai, N., Cavenee, W.K., et al. (2015) Glucose-dependent acetylation of Rictor promotes targeted cancer therapy resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 9406–9411.
- 10) Masui, K., Shibata, N., Cavenee, W.K., & Mischel, P.S. (2016) mTORC2 activity in brain cancer: Extracellular nutrients are required to maintain oncogenic signaling. *BioEssays*, **38**, 839–844.
- 11) Wolfson, R.L., Chantranupong, L., Saxton, R.A., Shen, K., Scaria, S.M., Cantor, J.R., & Sabatini, D.M. (2016) Sestrin2 is a leucine sensor for the mTORC1 pathway. *Science*, **351**, 43–48.
- 12) Gu, Y., Albuquerque, C.P., Braas, D., Zhang, W., Villa, G.R., Bi, J., Ikegami, S., Masui, K., Gini, B., Yang, H., et al. (2017) mTORC2 Regulates Amino Acid Metabolism in Cancer by Phosphorylation of the Cystine-Glutamate Antiporter xCT. *Mol. Cell*, **67**, 128–138.
- 13) Kaelin, W.G. Jr. & McKnight, S.L. (2013) Influence of metabolism on epigenetics and disease. *Cell*, **153**, 56–69.
- 14) Zhao, S., Xu, W., Jiang, W., Yu, W., Lin, Y., Zhang, T., Yao, J., Zhou, L., Zeng, Y., Li, H., et al. (2010) Regulation of cellular metabolism by protein lysine acetylation. *Science*, **327**, 1000–1004.
- 15) Masui, K., Cavenee, W.K., & Mischel, P.S. (2016) Cancer metabolism as a central driving force of glioma pathogenesis. *Brain Tumor Pathol.*, **33**, 161–168.

著者寸描

●鬼塚 裕美 (おにつか ひろみ)

東京女子医科大学病院病理診断科。医学学士。

■略歴 2013年に滋賀医科大学医学部医学科を卒業。地方の市中病院で初期研修を終了し、15年より現職。

■研究テーマと抱負 現在は主に病理診断に従事しているが、今後は分子病理学的研究にも携わり、少しでも医学や医療に貢献できるよう研鑽に努めたい。

■趣味 読書、散歩。