

156. 脳腫瘍における新規エピジェネティクス制御機構の解明

増井 憲太

*東京都医学総合研究所 病院等連携研究センター 神経病理解析室

Key words : 膠芽腫, エピジェネティクス, ヒストンアセチル化, mTOR 複合体, がん代謝

緒言

膠芽腫 (グリオブラストーマ) はヒトの腫瘍の中でも最も悪性度が高い脳腫瘍で、新たな治療法につながりうる病態の解明が強く求められている。この膠芽腫では、DNA の塩基配列変化によらない遺伝子発現制御システムであるエピジェネティクスの違いに基づく分類により、予後や治療反応性の異なるグループへ細分類できることが近年明らかにされ、膠芽腫の生物学におけるエピジェネティクスの重要性が提唱され始めている。しかしながら、エピジェネティクス変化の制御機構および病態への意義は未だ不明な点が多い状況である。われわれはこれまでに、多くの膠芽腫症例で異常活性化を認める epidermal growth factor receptor (EGFR) - mammalian target of rapamycin (mTOR) 経路が、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の一群である class IIa HDAC を抑制することで代謝系のリプログラミングを促進し、腫瘍代謝を活性化することを見出した¹⁾。これは、代謝活性化により産生が亢進する中間代謝産物と class IIa HDAC の制御を介して、mTOR 複合体が細胞のエピジェネティクスを大きく変化させる可能性があることを示唆する結果である。そこで本研究ではこれらの点に着目し、膠芽腫細胞の生存において重要な分子である mTOR 複合体による、新規エピジェネティクス制御機構の解明に取り組んだ。

方法および結果

1. mTOR 複合体は mTORC1 と mTORC2 に分類されるが、われわれは mTORC2 が膠芽腫細胞の代謝活動を促進する新規病態を明らかにした¹⁾。そこで、タンパク質の翻訳後修飾や遺伝子のエピジェネティクス変化に広範な影響力をもつ中間代謝産物 acetyl-CoA の産生に、mTORC2 が与える影響を解析した。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、mTORC2 を活性化させた細胞 (U87-EGFRvIII 細胞) を用いて、acetyl-CoA の産生に必須の栄養素である glucose や acetate の培地内濃度を変化させたところ、蛍光法で検出される acetyl-CoA の産生量が著明に変動した (図 1A)²⁾。さらに、mTORC2 の主要な構成要素である Rictor の cDNA 過剰発現および RNAi ノックダウン下で、細胞内の acetyl-CoA レベルを測定したところ、Rictor の発現レベルと acetyl-CoA 濃度が相関を示すことが明らかとなった (図 1B)²⁾。これらは、mTORC2 が中間代謝産物の産生を制御し、エピジェネティクス変化を誘導する可能性を示唆する。

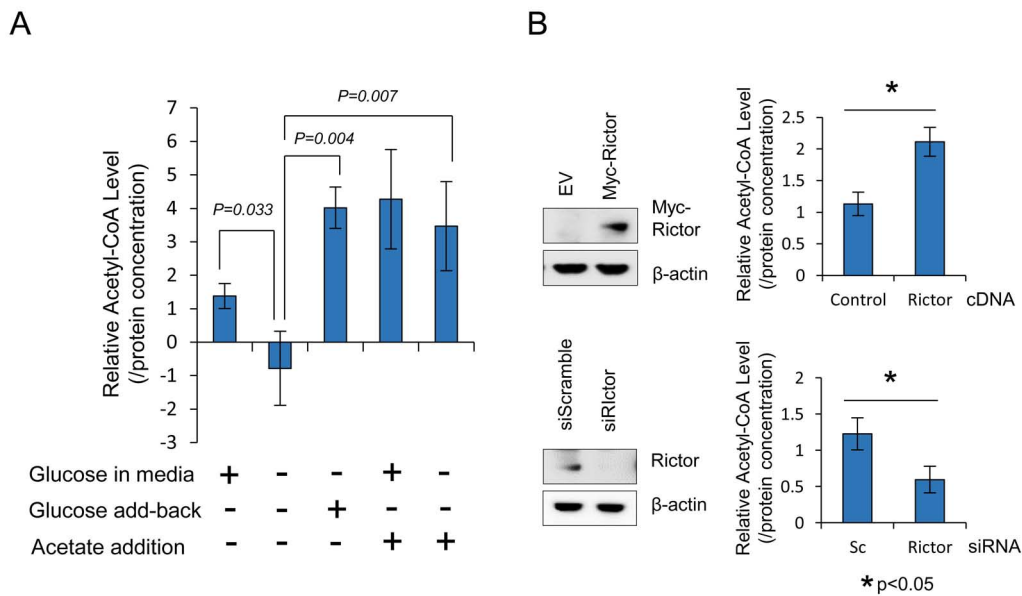


図1. 栄養素と mTORC2 が中間代謝産物 acetyl-CoA 産生に与える影響

(A) mTORC2 活性化膠芽腫細胞 (U87-EGFRvIII 細胞) に glucose および acetate を添加したところ、acetyl-CoA の産生量が著明に変動した。(B) mTORC2 の主要構成要素である Rictor の発現レベルと細胞内 acetyl-CoA 濃度が相関を示した (参考文献 2) より引用)。p 値は unpaired Student's t test で算出。EV, empty vector; Sc, scramble.

2. 続いて、mTORC2 および腫瘍の代謝活動が、悪性脳腫瘍である膠芽腫のエピジェネティクスを制御する可能性を検討した。エピジェネティクス変化として、特に中間代謝産物 acetyl-CoA の関与が大きいと考えられる、ヌクレオソーム蛋白であるヒストンのアセチル化に着目した。mTORC2 が活性化した U87-EGFRvIII 細胞において、ヒストン蛋白のアセチル化は、代謝基質である glucose や acetate の培地内濃度の増減に伴い変化することが明らかとなった (図 2A) ²⁾。さらには、mTORC2 の主要構成要素である Rictor および mSIN1 の RNAi ノックダウン下でも同様にヒストンアセチル化が制御されたことから (図 2B)、mTORC2 およびそれにより活性化される腫瘍代謝が、エピジェネティクス変化であるヒストンアセチル化に重要な役割を果たしていると考えられた。

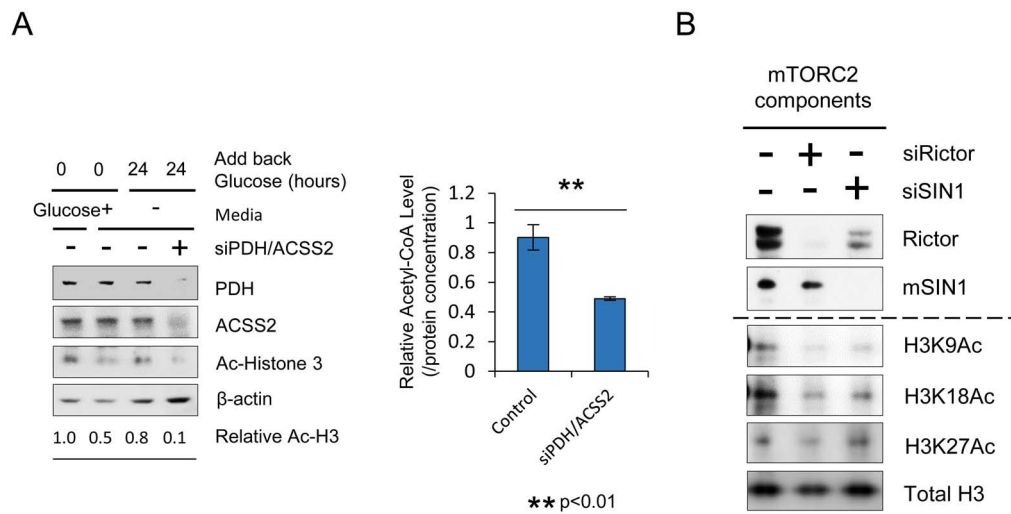


図2. mTORC2 とがん代謝によるヒストンアセチル化の制御

(A) mTORC2 が活性化した U87-EGFRvIII 細胞において、ヒストン蛋白のアセチル化は代謝基質である glucose や acetate の濃度に従い変化した。同変化は、acetyl-CoA 産生酵素である PDH および ACSS2 のノックダウンにより抑制されたことより、acetyl-CoA の関与が示唆される。(B) mTORC2 主要構成要素 (Rictor および mSIN1) のノックダウンにより、様々な種類のヒストンアセチル化が制御された。p 値は unpaired Student's t test で算出。

3. これらの結果をもとに、mTORC2 およびがん代謝活動により誘導されるエピジェネティクス変化の制御機構と悪性脳腫瘍の病態への意義を検討した。Glucose および acetate からの acetyl-CoA 産生にそれぞれ必要な酵素である pyruvate dehydrogenase (PDH) および acyl-CoA synthetase short-chain family member 2 (ACSS2) をノックダウンしたところ、代謝基質に基づくヒストンのアセチル化が抑制された (図 2A) ²⁾。興味深いことに、mTORC2 により制御されることをわれわれが報告したヒストン脱アセチル化酵素の一つである class IIa HDAC を遺伝学的に改変することで¹⁾、mTORC2 によるエピジェネティクスの表現型が再現でき、class IIa HDAC を過剰発現させることで、mTORC2 活性化細胞 (U87-EGFRvIII 細胞) のヒストンアセチル化および細胞増殖を抑制できることが明らかとなった (図 3)。

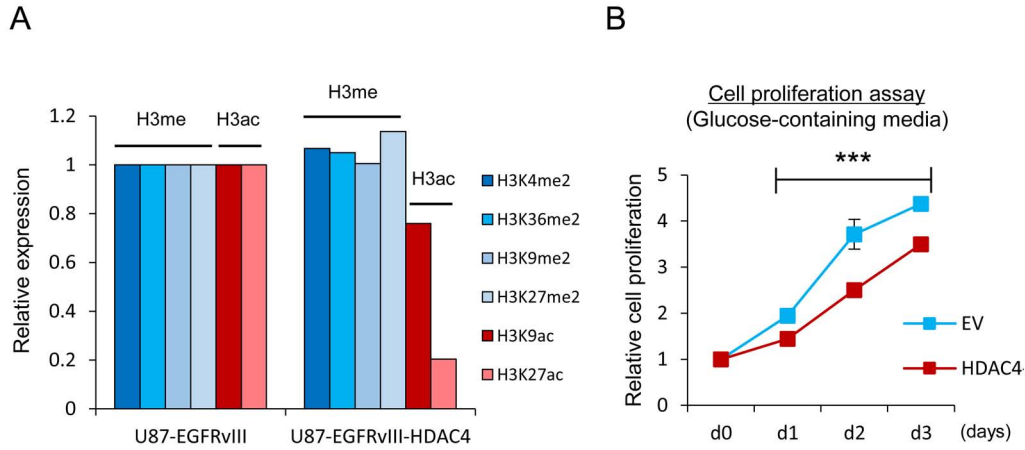


図3. 膠芽腫細胞におけるヒストンアセチル化および細胞増殖への class IIa HDAC の関与
 (A) Class IIa HDAC (HDAC4) を過剰発現させることで、mTORC2 活性化細胞 (U87-EGFRvIII 細胞) のヒストンアセチル化が抑制される一方、ヒストンメチル化に有意な変化はみられなかった。(B) Class IIa HDAC の過剰発現により、mTORC2 活性化細胞 (U87-EGFRvIII 細胞) の細胞増殖が有意に抑制された。p 値は unpaired Student's t test で算出 (**p < 0.01, ***p < 0.001)。EV, empty vector.

考 察

がん細胞は様々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。われわれはこれまでに、多くの悪性脳腫瘍で異常活性化が認められる mTORC2 が代謝系リプログラミングに重要な役割を果たすことを明らかにしてきたが、本研究により、中間代謝産物の産生およびエピジェネティクス変化の制御にまでその役割が拡張されたと考えられる (図4)。すなわち、mTORC2 は腫瘍生物学的に重要な様々な現象の中心に位置する可能性があり、膠芽腫細胞の重要な機能を阻害するためにはエピジェネティクスへの影響まで考慮した mTORC2 の抑制を検討する必要があると考えられる³⁾。

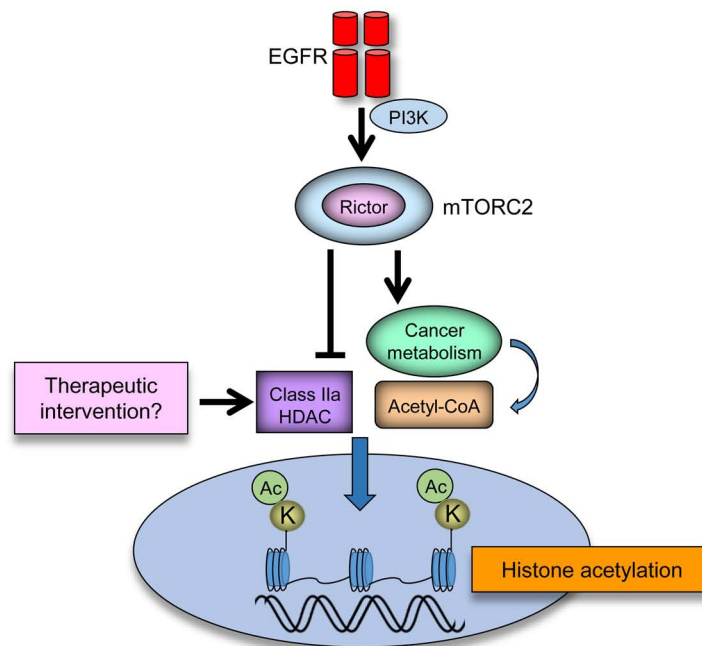


図4. mTORC2によるエピジェネティクス制御機構

EGFR や PI3K (phosphoinositide 3-kinase) の下流で活性化される mTORC2 は、1) がん代謝を活性化させることによる中間代謝産物 acetyl-CoA 産生の亢進、2) ヒストン脱アセチル化酵素の一つである class IIa HDAC の抑制、という2つの経路を介してヒストンアセチル化を促進させる。mTORC2 や HDAC など、エピジェネティクス制御機構に介入することで悪性脳腫瘍の成長を制御できる可能性が示唆される。

悪性脳腫瘍の病態解明のみならず臨床上有用な分類にも貢献しうると考えられるエピジェネティクス変化が mTOR 複合体により制御されることが明らかとなったわけだが、その病態への意義はさらに今後の検討が必要である。少なくとも、本研究によりヒストン脱アセチル化酵素の一つである class IIa HDAC が mTOR 介在性のエピジェネティクス制御機構に関わり、その制御機構に介入することで悪性脳腫瘍の成長を制御できる可能性が示唆される (図4)。しかしながら、エピジェネティクス変化はゲノムワイドに広範な影響をもたらすことが予想されるため、効果的にエピジェネティクス変化を治療標的とするには、その影響を網羅的に解析する必要がある。現在われわれは、悪性脳腫瘍の病態に重要な遺伝子群に対する、mTOR 複合体によるエピジェネティクス変化の影響を網羅的に検討すべく、様々な領域のヒストンアセチル化に対するクロマチン免疫沈降 (ChIP: chromatin immunoprecipitation) - sequencing 法による解析を検討している。これらの網羅的かつ多角的検討により、未だ有効な治療法のない悪性脳腫瘍の治療に対して、エピジェネティクスに着目した新たな治療戦略の確立を目指したいと考えている。

共同研究者

本研究の共同研究者は、公益財団法人東京都医学総合研究所の新井信隆および山形要人である。本稿を終えるにあたり、本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

文献

- 1) Masui K, Tanaka K, Akhavan D, Babic I, Gini B, Matsutani T, Iwanami A, Liu F, Villa GR, Gu Y, Campos C, Zhu S, Yang H, Yong WH, Cloughesy TF, Mellinghoff IK, Cavenee WK, Shaw RJ, Mischel PS. mTOR complex 2 controls glycolytic metabolism in glioblastoma through FoxO acetylation and upregulation of c-Myc. *Cell Metab.* 2013;18(5):726-39. doi: 10.1016/j.cmet.2013.09.013. PubMed PMID: 24140020.

- 2) Masui K, Tanaka K, Ikegami S, Villa GR, Yang H, Yong WH, Cloughesy TF, Yamagata K, Arai N, Cavenee WK, Mischel PS. Glucose-dependent acetylation of Rictor promotes targeted cancer therapy resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(30):9406-11. doi: 10.1073/pnas.1511759112. PubMed PMID: 26170313.
- 3) Masui K, Cavenee WK, Mischel PS. mTORC2 and Metabolic Reprogramming in GBM: at the Interface of Genetics and Environment. *Brain Pathol.* 2015;25(6):755-9. doi: 10.1111/bpa.12307. PubMed PMID: 26526943.