

【目的】 mTORC1 は、アミノ酸-タンパク質代謝を担う主要なシグナル複合体である。mTORC1 は細胞外のアミノ酸によって活性化されることが知られていたが、近年、アミノ酸による mTORC1 活性化のメカニズム解明が急速に進み、細胞外のアミノ酸がリソソームの内腔に到達した後に mTORC1 を活性化することが判明した。しかし、細胞外のアミノ酸がどのようにしてリソソーム内腔に到達するのかが不明瞭な点が多かった。我々は最近の報告において「ダイナミン依存性エンドサイトーシスによりアミノ酸が細胞内に取り込まれ、mTORC1 を活性化する」というメカニズムを明らかにした。この発見により、エンドサイトーシス阻害剤が mTORC1 阻害剤として機能する可能性が示された。本研究においては「過栄養を原因とする疾患の治療・予防に向けたエンドサイトーシス制御」という新しいアプローチの実現に向けて、細胞レベルでの栄養取り込み阻害剤としてのエンドサイトーシス阻害剤が、細胞に及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。

【方法】 HEK293T 細胞を用いて実験を行った。ダイナミン依存性エンドサイトーシス阻害剤であるダイナソア、mTORC1 阻害剤であるラパマイシン、mTORC1/2 阻害剤である Torin 1、アミノ酸飢餓を引き起こすアミノ酸不含培地で細胞を処理し、ウェスタンブロット法により各種の mTORC1/2 ターゲットリン酸化サイトを検証した。また、細胞数の測定、WST アッセイによる細胞代謝活性の測定、フローサイトメトリーによる細胞周期プロファイルの検証を行った。

【結果】 比較的弱い mTORC1 阻害剤であるラパマイシンは、ラパマイシン感受性リン酸化サイトである S6K (Thr389) の脱リン酸化を誘導し、代謝抑制効果を示した。一方、ダイナソア、Torin 1、アミノ酸飢餓は、S6K (Thr389) だけでなく、ラパマイシン非感受性リン酸化サイトの 4E-BP1 (Thr37/46) も脱リン酸化したことから、強力な mTORC1 抑制作用を有することが示された。さらに、ダイナソア、Torin 1、アミノ酸飢餓により、細胞代謝の抑制だけでなく、細胞増殖の抑制が認められた。フローサイトメトリーを用いて細胞周期をより詳細に解析した結果、これらの薬剤・飢餓による細胞増殖抑制は S 期における停滞が原因であることが推測された。

mTORC1 を介した各種阻害剤の細胞増殖への影響

