

44 がんにおける代謝ネットワークロバスト性の分子基盤	田沼 延公
-----------------------------	-------

**【目的】** がん代謝は、近年、新規治療標的としての開発が期待され、多くの研究がなされてきたが、臨床応用までに越えなければならないハードルは多い。その一つが代謝ネットワークの恒常性であり、少々の干渉では、代償経路の活性化やフィードバック等を介した緩衝作用によって、うまく回避されてしまうことが多い。そのような代謝ネットワークロバスト性が垣間見られる現象として、例えば、NAD 合成に対する応答が挙げられる。本課題では、NAD 合成阻害、とくに NAD サルベージ経路の遮断に対し感受性を異にする腫瘍細胞群同士を比較することにより、がんにおける代謝ネットワークロバスト性分子基盤の一端を明らかにすることを目的として、研究を行った。

**【方法】** ヒトがん細胞株パネルを 2 種類の NAD 合成阻害剤にて処理し、リアルタイム細胞増殖アッセイ、コロニー形成試験、細胞外フラックス解析による代謝解析等を行った。NAD 合成阻害剤としては、サルベージ経路の律速酵素 NAMPT に対する阻害剤を使用した。また、代謝物の定量、網羅的な遺伝子発現解析も行った。

**【結果】** リアルタイム細胞増殖アッセイにより、コロニー形成試験条件の最適化を行った。その結果を踏まえ、ヒトがん細胞株パネルの NAMPT 阻害剤に対する感受性を、コロニー形成試験によって精査した。同様に、PARP 阻害に対する感受性についても調べた。PARP は、NAD を基質として用いたタンパク質をポリ ADP リボシル化する酵素であり、この分子群に対する阻害剤は、既に臨床にて治療に用いられている。ほとんどの細胞において、PARP 活性は、NAMPT 阻害によって著しく低下することから、NAD サルベージへの依存が顕著であることが分かった。コロニー形成試験の結果、NAD 合成阻害や PARP 阻害に対する感受性は、細胞株毎に大きな差異があることが分かった。意外にも、NAD 合成阻害と PARP 阻害に対する感受性はまったく相関しないことが分かった。従って、NAD 合成阻害がもたらす増殖抑制作用は、特に感受性が高い細胞株の群においては、PARP 活性低下以外の作用ルートも含むことが強く示唆された。NAD を基質に合成される NADPH レベルも検討したが、NAD サルベージ阻害への感受性に一致するような結果は得られなかった。細胞外フラックス解析等を用いたその後の詳細な検討により、NAD 合成阻害に対して感受性の低い細胞株は、1. サルベージ経路を介する NAD 合成に非依存的な乳酸産生能を有していること、2. グルタミン代謝に関わる酵素、GLS を高発現する傾向があること、が明らかになった。GLS の高発現が、NAD サルベージに依存しない乳酸産生の直接の原因か否かは明らかになっておらず、今後、さらなる検討が必要と考えられた。また、いくつかの検討項目において、BRCA 遺伝子変異の有無が、NAD 合成阻害への感受性や乳酸産生の NAD サルベージ依存性などの点において、弱いながらも相関する傾向、あるいは統計的に有意な差異が認められた。

NAD サルベージ経路阻害に対する感受性は、同経路に依存しない乳酸産生・GLS 遺伝子発現レベルと逆相関する

