

|         |   |
|---------|---|
| 氏名      | 千賀 匠悟   |
| 学位の種類   | 博士（農学）  |
| 学位記番号   | 甲 第83号  |
| 学位授与の日付 | 平成31年3月20日  |
| 学位授与の要件 | 信州大学学位規程第5条第1項該当  |
| 学位論文題目  | がん細胞における転移促進遺伝子 FABP5 の機能解析に関する研究                                 |
| 論文審査委員  | 主査 教授 藤井 博<br>教授 真壁 秀文<br>教授 福田 正樹<br>教授 大神田 淳子<br>教授 内海 利男（新潟大学） |

## 論文内容の要旨

がんは喫煙や飲酒、偏った食生活などの環境的要因と、遺伝的要因の両方が原因で発症する疾患と考えられている。特に大腸がん、乳がん、前立腺がんなどは、近年の食の欧米化（高カロリー、高脂肪食）に伴い罹患率、死亡率が上昇しており、これらのがんの発生と高脂肪食の摂取との関連が示唆されている。また正常細胞ががん化する過程で代謝系が著しく変化すること(代謝リプログラミング)が明らかになり、代謝系を標的としたがんのバイオマーカーや薬剤の研究が世界中で注目を集めている。しかしながら、代謝系の複雑さやがんの不均一性・多様性などが問題となり、代謝リモデリングに関与する生体分子やその分子機構は解明されていない。当研究室では、脂肪酸の細胞内輸送に関与する上皮細胞型脂肪酸結合タンパク質 FABP5 (Fatty acid-binding protein 5) が前立腺がんや乳がん、大腸がんなどで高発現し、がん細胞の代謝や腫瘍形成、転移能獲得において重要な機能を担うことを明らかにしているが、その詳細な分子メカニズムは不明である。したがって、複数のがん種で高発現し、がんの代謝と悪性化に関与する FABP5 の機能を明らかにすることで、代謝リプログラミングと腫瘍悪性化機構における共通の分子基盤の解明につながると考えられる。本研究では、FABP5 のがん細胞における機能を解析するため、以下の二つの課題に取り組んだ。

### 1. 転移促進遺伝子 FABP5 による細胞増殖促進機構、及び新規代謝制御機構の解析

前立腺がん細胞株 (DU-145, PC-3, PC-3M) において FABP5 の発現を抑制すると、細胞増殖が強く抑制される。このとき発現が変動する遺伝子の網羅的な解析を行った結果、FABP5 の発現抑制により、核内受容体  $ERR\alpha$  (Estrogen-related receptor  $\alpha$ ) の標的遺伝子である LCHAD (Long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase)、MFN2 (Mitofusin-2)、ACO2 (Aconitase 2)、FH (Fumarate hydratase)、ATP5B (ATP synthase subunit beta) など複数の代謝関連遺伝子の発現が抑制されることが明らかになった。FABP5 による  $ERR\alpha$  シグナル活性化機構を解明するため、免疫沈降法、クロマチン免疫沈降法により、FABP5 と相互作用するタンパク質を探索した。その結果、FABP5 は細胞質から核内に移行し  $ERR\alpha$  やその転写共役因子（コアクチベーター）である PGC-1 $\beta$  (Peroxisome proliferator-activated receptor

gamma coactivator-1  $\beta$ ) と特異的に相互作用し、ERR $\alpha$  標的遺伝子のプロモーター領域に存在する ERR $\alpha$  応答配列に結合することを見出した。したがって、前立腺がん細胞において、FABP5 が核内で ERR $\alpha$  や PGC-1 $\beta$  から成る転写複合体のコンポーネントの一つとして、ERR $\alpha$  の標的遺伝子の転写を活性化する可能性が強く示唆された。また発現が変動した遺伝子の多くはエネルギー代謝と関連があったことから、細胞内エネルギー状態の解析を行った。その結果、細胞内 ATP 量が減少し、AMP+ADP 量が増加していることが明らかになった。この結果は FABP5 の発現抑制によりがん細胞が強いエネルギー飢餓ストレスに晒されていることを示唆している。そこでエネルギー飢餓ストレス誘導性の細胞周期の停止とアポトーシスに参与する AMPK-FOXO3a シグナルの解析を行ったところ、FABP5 の発現抑制により AMPK および FOXO3a が活性化し、G1 期における細胞周期の停止とアポトーシスが誘導されることが明らかとなった。以上より、前立腺がん細胞株において FABP5 は ERR $\alpha$  を介する新規の代謝制御機構により、がん細胞のエネルギー代謝を亢進していることが明らかになった。

## 2. FABP5 依存的代謝系が誘導する腫瘍悪性化機構の解析

がん細胞で FABP5 が誘導する代謝系についてより詳細に解析を行うため、FABP5 の発現抑制下で発現が低下する代謝関連遺伝子の網羅的解析を行った。その結果、FABP5 によって制御される下流標的遺伝子として脂肪滴の分解や *de novo* 脂肪酸合成に参与する遺伝子群を同定した。新たに同定した標的遺伝子のうち、CGI-58、ACC $\alpha$ 、ACSL1、Elovl6、ACLY 及び MAGL は、特定のがん細胞において発現が亢進し、腫瘍の悪性化に参与することが報告されている。また細胞内の遊離脂肪酸量を定量したところ、FABP5 の発現抑制により脂肪酸量が有意に減少することが明らかになった。したがって、がん細胞において FABP5 は脂肪滴の分解や *de novo* 脂肪酸合成に参与する遺伝子の発現を亢進し、遊離脂肪酸の産生を促進していることが示唆された。細胞内脂肪酸量の増加は炎症反応を誘導する可能性があるため、NF- $\kappa$ B シグナルの解析を行った結果、FABP5 の発現抑制により ROS 産生量および PKCs 活性が低下し、NF- $\kappa$ B シグナルが不活性化されることが明らかになった。NF- $\kappa$ B シグナルにより誘導される炎症性サイトカイン (IL-6 など) は、腫瘍の悪性化に深く関与している。以上の結果から、FABP5 は代謝関連遺伝子の発現を亢進することで ATP や脂肪酸の産生を促進し、ROS の産生と PKCs の活性化を介して NF- $\kappa$ B シグナルを活性化することが明らかになった。