

乳がん細胞における栄養ストレス適応の分子機序の解明

慶應義塾大学 先端生命科学研究所
齊藤 康弘

(背景および目的)

乳がんは世界的に罹患率ならびに死亡率の高いがんである。乳がんは特徴的な遺伝子発現パターンによりホルモン受容体であるエストロゲン受容体(ER)陽性乳がん、がん遺伝子 HER2/ErbB2 陽性乳がん、ホルモン受容体ならびに HER2 が陰性の Basal 型乳がんの 3 つの型に大別される。中でも ER 陽性乳がんは乳がん患者の全体の 70% 以上を占めており、その ER 陽性乳がん患者では治療の過程において、ホルモン受容体を標的としたホルモン療法が適用される。しかしながら、ER 陽性乳がん患者のおよそ 30%ではホルモン療法が効かないホルモン療法耐性の獲得が認められる。したがって、ホルモン療法耐性乳がんに対する新たな治療薬・治療法の開発が期待されている。

がん細胞の大部分は上皮細胞を起源としており、正常な上皮細胞では頂端-基底の方向性である細胞極性を有している。正常な上皮細胞では頂端-基底極性が細胞極性タンパク質によって形成・維持されている。一方、がん組織では頂端-基底極性、もしくは、細胞極性タンパク質の発現に異常が高頻度で認められることから、がん細胞における細胞極性ならびに細胞極性タンパク質の発現異常はがん細胞の増殖や転移に重要な役割を担っていると考えられている(Muthuswamy et al., Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 2012)。

近年、我々は乳がん細胞における細胞極性タンパク質 LLGL2 の機能解析を行ったところ、LLGL2 が ER 陽性乳がん細胞に高発現していること、そして、LLGL2 の高発現が ER 陽性乳がん患者の生存率低下に関連していることを明らかにした(Saito et al., Nature, 2019)。ER 陽性乳がん細胞において LLGL2 の高発現は異常な細胞増殖を誘導することから、我々はさらなる詳細な機能解析を行った結果、LLGL2 はアミノ酸トランスポーターである SLC7A5 と結合し、SLC7A5 の細胞膜局在促進することが明らかとなった。細胞膜において増加した SLC7A5 は細胞外から細胞内へとアミノ酸ロイシンを取り込む結果、ER 陽性乳がん細胞の細胞増殖を亢進することが示唆された(図 1)。さらに、栄養が限られた栄養ストレス環境下では LLGL2-SLC7A5 複合体形成が促進されることを明らかにした(図 2)。しかしながら、栄養ストレスがどのような分子機序で LLGL2-SLC7A5 複合体形成を促進するかは不明である。したがって、本研究では栄養ストレスによって誘導される LLGL2-SLC7A5 複合体形成促進の分子機構の解明を試みた。

(結果)

正常上皮細胞において LLGL2 は細胞膜と細胞質に局在しており、その細胞内局在はリン酸化により制御されていることが知られている(Dong et al., J. Cell Biol., 2015)。そこで、我々はタンパク質翻訳後修飾データベース Phosphosite において LLGL2 を解析した結果、LLGL2 は既知のリン酸化部位に加え、機能が未知のリン酸化部位を複数有していることを明らかにした。したがって、我々は栄養ストレスによって LLGL2 のリン酸化状態が変化し、SLC7A5 との相互作用が促進されると推察し、栄養ストレス下における LLGL2 のリン酸化状態の変化を調べた。しかしながら、栄養ストレスによって LLGL2 のリン酸化に変化は認められなかった(図 3)。

次に、我々は栄養ストレスによる LLGL2-SLC7A5 複合体形成が誘導される分子機構を解明するため、栄養ストレスによって量的に LLGL2 と複合体形成が変化するタンパク質を探索し、その分子を起点として LLGL2-SLC7A5 相互作用が促進される分子機構を解明することを試みた。LLGL2 と相互作用する分子の網羅的探索により、我々は候補分子として HSPB1 を見出した(図 4)。HSPB1 は細胞内で分子シャペロンとして機能することが知られており、リン酸化

依存的に Oligomerization することが知られている。がん細胞では HSPB1 の高発現や HSPB1 の高リン酸化状態が認められることが報告されており (Katsogiannou et al., *Frontiers in Genetics*, 2014)、がん細胞の増殖や転移に HSPB1 は機能的に重要であることが示唆されているが、詳細は不明である。我々は ER 陽性乳がんにおける HSPB1 の解析を行ったところ、ER 陽性乳がん細胞において HSPB1 の高発現が認められ、HSPB1 の高発現は ER 陽性乳がん患者の生存率低下に関連していることを明らかにした (図 5)。加えて、ER 陽性乳がん細胞において HSPB1 と LLGL2 は複合体を形成していることが示された (図 6)。興味深いことに栄養ストレスにより LLGL2-HSPB1 複合体形成が促進されることから (図 7)、LLGL2-SLC7A5 複合体形成における HSPB1 の関与が示唆された。さらに、栄養ストレスにより HSPB1 のリン酸化が上昇し (図 8)、アミノ酸飢餓によっても HSPB1 のリン酸化が上昇することがわかった (図 9)。

(考察および今後の展望)

本研究では栄養ストレスによって LLGL2 に結合する新たな分子として HSPB1 を同定することに成功した。HSPB1 は栄養ストレス、および、アミノ酸飢餓によってリン酸化が上昇し、LLGL2 との複合体形成を促進することから、栄養ストレス依存的に誘導される LLGL2-SLC7A5 複合体形成に関与する可能性が示唆される。今後は HSPB1 knockdown による LLGL2-SLC7A5 複合体形成への変化などを調べることで、LLGL2-SLC7A5 複合体形成における HSPB1 の機能を明らかにすることができると考えられる。また、本研究によって得られた知見は HSPB1 を起点とした LLGL2-SLC7A5 相互作用の機能阻害を可能とし、新たな ER 陽性乳がん細胞の治療法を開発に大きく貢献できる可能性があるといえる。

(謝辞)

公益財団法人アステラス病態代謝研究会の関係者の皆様には本研究をご支援頂き、この場を借りまして深謝申し上げます。また、本研究の共同研究者であります慶應義塾大学先端生命科学研究メタボローム研究グループの曾我朋義教授、松田詩織技術員には本研究の遂行にあたり多大な協力を賜りました。この場を借りまして感謝申し上げます。

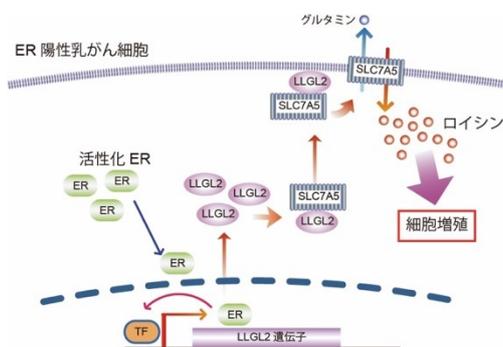


図 1 LLGL2-SLC7A5 経路による細胞増殖亢進の分子機構

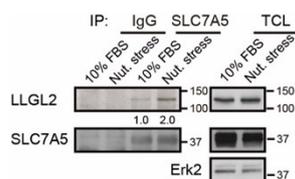


図 2 栄養ストレスによる LLGL2-SLC7A5 複合体形成の促進

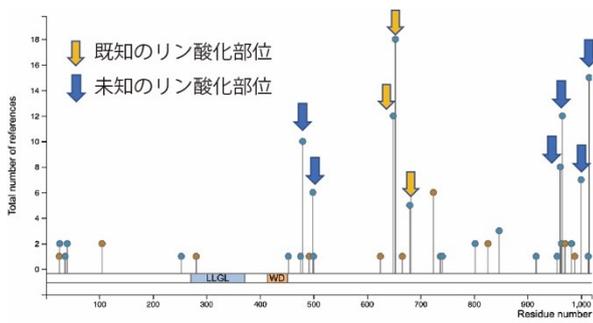


図3 LLGL2のリン酸化部位

Gene name	Top 4 control	Total	SAINT
LLGL2 <i>LLGL2</i> scribble cell polarity complex component	1821 1632 1304 1208	5965	NA
HSPB1 heat shock protein family B (small) member 1	512 470 570 527	2079	1.0

図4 LLGL2と結合する分子の同定

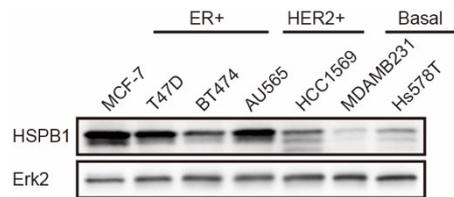
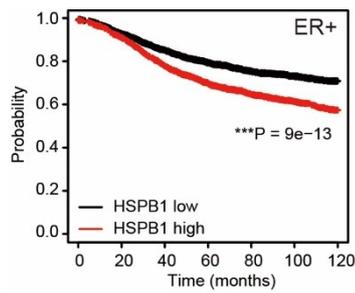


図5 ER+乳がん患者における生存率(左)、HSPB1の乳がん細胞における発現量(右)

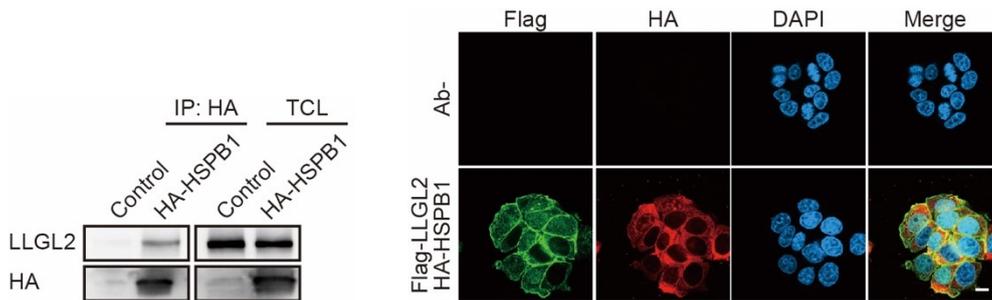


図6 LLGL2-HSPB1複合体形成(左)、HSPB1の細胞内局在(右)

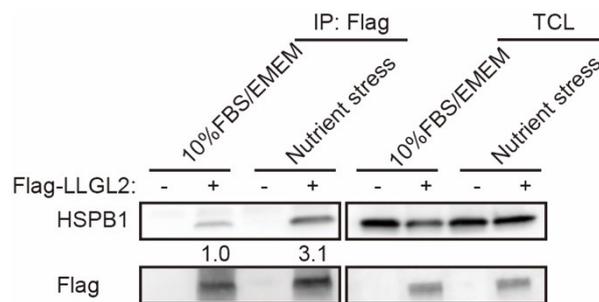


図7 栄養ストレスはLLGL2-HSPB1複合体形成を促進する

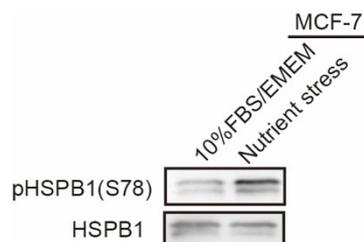


図8 栄養ストレスはHSPB1のリン酸化を上昇させる

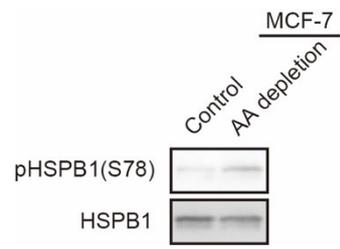


図9 HSPB1のリン酸化はアミノ酸飢餓により上昇する