

研究報告書
令和4年度：A課題

2024年 4月 1日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田知光 殿

研究施設 慶應義塾大学先端生命科学研究所

住所 山形県鶴岡市覚岸寺字水上 246-2

研究者氏名 齊藤康弘

(研究課題)

栄養依存的な LLGL2-SLC7A5 複合体形成の分子機序の解明

令和5年 4月 1日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

【背景】

乳がんは世界的に罹患率と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って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、がん遺伝子である HER2 陽性乳がん、そして、ホルモン受容体や HER2 に関していずれも陰性を示す Basal 型の 3 つの型に分類される。中でも、ER 陽性乳がんは乳がんのおよそ 80% 近くを占めており、治療の過程において ER を標的としたホルモン療法が適用される。ところが、およそ 30% の ER 陽性乳がん患者ではホルモン療法が効かないという現状がある。したがって、新たな ER 陽性乳がんの治療法や治療薬の開発が期待されている。

我々はこれまでに ER 陽性乳がんにおいて細胞極性タンパク質である LLGL2 が高発現しており、LLGL2 の高発現が ER 陽性乳がん細胞の細胞増殖を促進することを明らかにした。ER 陽性乳がん細胞において LLGL2 が細胞増殖を亢進する分子機序を詳細に解析したところ、LLGL2 はアミノ酸トランスポーターである SLC7A5 と相互作用し、SLC7A5 の細胞膜局在を促進する結果、細胞内へアミノ酸ロイシンが取り込まれ細胞増殖が亢進することがわかった。さらに、ER 陽性乳がん細胞において SLC7A5 の高発現はホルモン療法薬であるタモキシフェンに対する薬剤抵抗性を誘導することが明らかとなり、SLC7A5 はホルモン療法耐性乳がんの新たな治療標的として有望であることが示唆された。

【目的・結果】

LLGL2-SLC7A5 複合体形成に HSPB1 が必須である

我々が見出した LLGL2-SLC7A5 複合体は栄養ストレス下においてその複合体形成を増強することも明らかとしている。しかしながら、LLGL2-SLC7A5 複合体形成がどのように栄養ストレスを感知し、その複合体形成を促進しているのか、その分子機序は不明であった。よって、本研究では栄養ストレス依存的に LLGL2-SLC7A5 複合体形成が増強する分子機序の解明を試みた。はじめに、我々は LLGL2 と相互作用する新規の分子であり、かつ、栄養ストレス依存的にその相互作用が増強される分子を探索したところ Heat shock protein の 1 つである HSPB1 を同定した。HSPB1 は様々ながん組織において高発現が認められており、乳がん患者においても HSPB1 の高発現が、そして、その HSPB1 の高発現が乳がん患者生存率の低下と関連していることがわかった。さらに、ER 陽性乳がん細胞において HSPB1 を knockdown すると細胞増殖が抑制され、メタボローム解析により HSPB1-KD 細胞では細胞内のアミノ酸、特にロイシンの細胞内濃度の低下が認められた。また、HSPB1-KD により LLGL2-SLC7A5 複合体形成が著しく抑制されたことから LLGL2-SLC7A5 複合体形成において HSPB1 は必須の分子であることがわかった。

リン酸化 HSPB1 が LLGL2-SLC7A5 複合体形成に重要である

HSPB1 は 3 つのリン酸化されるセリン残基を有していることが知られており、がん組織では HSPB1 の高発現に加えて、HSPB1 の高リン酸化が認められる。また、HSPB1 はリン酸化に応じてオリゴマー形成を変化させることが知られており、そのオリゴマー形成と HSPB1 のシャペロン分子としての機能は連関していると考えられている。そこで、我々は 3 つのセリン残基をアラニンに置換したリン酸化耐性型 HSPB1 を作製し、LLGL2-SLC7A5 複合体形成を調べたところ、野生型 HSPB1 で認められる LLGL2-SLC7A5 複合体形成はリン酸化耐性型 HSPB1 においては

LLGL2-SLC7A5 複合体形成が著しく抑制された。したがって、LLGL2-SLC7A5 複合体形成においてリン酸化型 HSPB1 が重要であることが明らかとなった。さらに、栄養ストレス下において LLGL2-SLC7A5 複合体形成が促進されることから、栄養ストレス下において HSPB1 のリン酸化状態を調べたところ、3 つあるセリン残基 Ser 15、Ser78、Ser82 の内、Ser78 のリン酸化が栄養ストレス依存的に上昇することがわかった。

疾患関連変異型 HSPB1 は機能欠失型変異である

がん細胞における HSPB1 の病態生理学的役割を明らかにするため、我々はがん組織における HSPB1 遺伝子の変異を探索したところ、HSPB1 遺伝子における変異を見出すことはできなかった。ところが、HSPB1 遺伝子の変異は家族性の遺伝子疾患の 1 つである Charcot-Marie-Tooth (CMT) 病において認められる。中でも S182L の変異を導入した HSPB1 発現トランスジェニックマウスは CMT 病様の形質を示すことから、HSPB1 遺伝子における変異と CMT 疾患の発症は密接に関連していることが示唆されている。さらに、CMT 病に認められる神経変性は α -tubulin のアセチル化の低下が原因であることが示されている。そこで、ヒト CMT 患者において認められる 182 残基目のプロリンがセリンに置換した P182S 変異を導入した HSPB1 (HSPB1-P182S) を乳がん細胞に導入し、細胞増殖能を調べたところ、興味深いことに野生型 HSPB1 に認められる細胞増殖の亢進は HSPB1-P182S 変異体では認められなかった。さらに、ER 陽性乳がん細胞における HSPB1-P182S 変異体発現により α -tubulin のアセチル化が減少したことから、HSPB1-P182S 変異体は乳がん細胞では機能欠失型変異として機能することが示唆された。

ER 陽性乳がん細胞において HSPB1-SLC7A5 複合体はパクリタキセル耐性を誘導する

興味深いことに、HSPB1、SLC7A5、そして、LLGL2 を knockdown した乳がん細胞においても α -tubulin のアセチル化減少が認められ、一方、HSPB1 や SLC7A5 を過剰発現させると α -tubulin のアセチル化が上昇することが明らかとなった。近年では tubulin のアセチル化の上昇が微小管を標的とする抗がん剤であるパクリタキセルに対する薬剤抵抗性の誘導と関連していることが示唆されている。興味深いことに、ER 陽性乳がん細胞において HSPB1、もしくは、SLC7A5 の過剰発現はパクリタキセルに対する薬剤抵抗性を誘導することが明らかとなった。

【考察・展望】

本研究では LLGL2-SLC7A5 複合体形成における新たな制御因子として HSPB1 を同定することに成功した。また、HSPB1 の詳細な機能解析により、SLC7A5 が微小管を標的とする抗がん剤パクリタキセルに対する薬剤抵抗性を誘導することを明らかにし、ER 陽性乳がん細胞では HSPB1-SLC7A5 が多剤薬剤抵抗性に重要な分子であることを解明した。今後は本研究により得られた知見を ER 陽性乳がんへの治療へ応用できるよう治療標的分子の妥当性を検討することを通じて治療薬の開発へ役立てていきたい。

【謝辞】

公益財団法人がん研究振興財団からのご支援を賜り、当初の想定以上に本研究を飛躍的に推進することができました。この場をお借りして深謝いたします。