

Title	Glutaminase阻害剤の感受性規定因子の解明と治療への応用
Sub Title	Elucidation of determinants of glutaminase inhibitors sensitivity and their application to treatment
Author	加藤, 優(Kato, Yu)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究は、EMTによるglutaminase高感受性化に関わる分子機構を明らかにし、EMTを標的とした新規治療法の開発を目的としている。大腸がんのFOLFOX療法に使用されるoxaliplatinを上皮系の形質を示すHCT116細胞に長期処理し、oxaliplatin耐性細胞(116/Oxa-R)を樹立した。116/Oxa-R細胞では、間葉系への形態変化が観察された。また、116/Oxa-R細胞では、EMT関連転写因子のSLUGや間葉系マーカーのα-SMAの発現が亢進しており、116/Oxa-R細胞では、EMTが生じていることが明らかになった。116/Oxa-R細胞は、Oxaliplatinなしのmediumで培養すると上皮系の形質に戻ることから、116/Oxa-RのEMTが可逆性を有することが明らかになった。先行研究でHCT116細胞にSLUGを強制発現させた116/slug細胞は、安定的に間葉系の形質を示す。そこで、116/slug細胞に対して高い殺細胞効果を示す薬剤を探索した。その結果、glutaminase阻害剤のCB839やglutathione peroxidase阻害剤のRSL3に高感受性を示した。一方で、解糖系の阻害剤である2DGやミトコンドリア呼吸鎖の阻害剤であるmetforminに対しては、HCT116細胞と同程度の感受性であった。116/Oxa-RとHCT116細胞でCB839、RSL3の感受性の比較解析を行ったところ、116/Oxa-R細胞は、CB839に対しては高感受性を示した一方で、RSL3の感受性は、HCT116細胞とほとんど変わらなかった。細胞内のglutathione量を測定したところ、116/Oxa-R細胞では、HCT116細胞よりもglutathione量が多くRSL3抵抗性に寄与していることが明らかになった。次に、116/Oxa-R細胞における細胞内グルタミン酸量を測定したところ116/Oxa-R細胞では、HCT116細胞よりも高い値を示した。以上から、116/Oxa-R細胞は、グルタミンノリシスが亢進しており、グルタミン代謝が細胞生存に重要であることが考えられた。 This study aims to elucidate the molecular mechanism involved in the high susceptibility to glutaminase by epithelial-mesenchymal transition (EMT). We treated oxaliplatin, which is used in FOLFOX therapy for colorectal cancer, for over one month in HCT116 cells, which shows epithelial traits, and generated oxaliplatin-resistant cells (116/Oxa-R cells). In 116/Oxa-R cells, a morphological change to the mesenchymal type from epithelial type was observed. In addition, the expression of EMT-related transcription factors such as SLUG and mesenchymal markers such as α-SMA was upregulated in 116/Oxa-R cells, and we determined that EMT was occurring in 116/Oxa-R cells. 116/Oxa-R cells revert to epithelial traits when cultured in medium without oxaliplatin. Thus, the EMT of 116/Oxa-R was reversible. In previous studies, we generated 116/slug cells, which stably display mesenchymal traits by transducing SLUG in HCT116 cells. Therefore, we searched for a drug that shows a high cytotoxic effect against 116/slug cells. As a result, they showed high susceptibility to the glutaminase inhibitor CB839 and the glutathione peroxidase inhibitor RSL3. On the other hand, the susceptibility to 2DG, an inhibitor of glycolysis, and metformin, an inhibitor of the mitochondrial respiratory chain, was the same as that of HCT116 cells. 116/Oxa-R cells showed high susceptibility to CB839, but the susceptibility to RSL3 was almost the same as that of HCT116 cells. Glutathione is a major substrate of GPX4, and we measured glutathione content in the cells. We found that the glutathione content in 116/Oxa-R cells was higher than that in HCT116 cells. High glutathione content in 116/Oxa-R cells contributing to RSL3 resistance. Next, the amount of glutamate in 116/Oxa-R cells was measured, and we found that 116/Oxa-R cells showed higher glutamate content than HCT116 cells. From these results, it was considered that glutaminolysis was enhanced in 116/Oxa-R cells and glutamine metabolism was important for cell survival.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230242

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2023年度 学事振興資金（個人研究） 研究成果実績報告書

研究代表者	所属	薬学部	職名	助教	補助額	300千円 (A)
	氏名	加藤 優	氏名（英語）	Yu Kato		
研究課題（日本語）						
Glutaminase阻害剤の感受性規定因子の解明と治療への応用						
研究課題（英訳）						
Elucidation of determinants of glutaminase inhibitors sensitivity and their application to treatment						
1. 研究成果実績の概要						
本研究は、EMTによるglutaminase高感受性化に関わる分子機構を明らかにし、EMTを標的とした新規治療法の開発を目的としている。大腸がんのFOLFOX療法に使用されるoxaliplatinを上皮系の形質を示すHCT116細胞に長期処理し、oxaliplatin耐性細胞(116/Oxa-R)を樹立した。116/Oxa-R細胞では、間葉系への形態変化が観察された。また、116/Oxa-R細胞では、EMT関連転写因子のSLUGや間葉系マーカーのα-SMAの発現が亢進しており、116/Oxa-R細胞では、EMTが生じていることが明らかになった。116/Oxa-R細胞は、Oxaliplatinなしのmediumで培養すると上皮系の形質に戻ることから、116/Oxa-RのEMTが可逆性を有することが明らかになった。先行研究でHCT116細胞にSLUGを強制発現させた116/slug細胞は、安定的に間葉系の形質を示す。そこで、116/slug細胞に対して高い殺細胞効果を示す薬剤を探索した。その結果、glutaminase阻害剤のCB839やglutathione peroxidase阻害剤のRSL3に高感受性を示した。一方で、解糖系の阻害剤である2DGやミトコンドリア呼吸鎖の阻害剤であるmetforminに対しては、HCT116細胞と同程度の感受性であった。116/Oxa-RとHCT116細胞でCB839、RSL3の感受性の比較解析を行ったところ、116/Oxa-R細胞は、CB839に対しては高感受性を示した一方で、RSL3の感受性は、HCT116細胞とほとんど変わらなかった。細胞内のglutathione量を測定したところ、116/Oxa-R細胞では、HCT116細胞よりもglutathione量が多くRSL3抵抗性に寄与していることが明らかになった。次に、116/Oxa-R細胞における細胞内グルタミン酸量を測定したところ116/Oxa-R細胞では、HCT116細胞よりも高い値を示した。以上から、116/Oxa-R細胞は、グルタミノリシスが亢進しており、グルタミン代謝が細胞生存に重要であることが考えられた。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
This study aims to elucidate the molecular mechanism involved in the high susceptibility to glutaminase by epithelial-mesenchymal transition (EMT). We treated oxaliplatin, which is used in FOLFOX therapy for colorectal cancer, for over one month in HCT116 cells, which shows epithelial traits, and generated oxaliplatin-resistant cells (116/Oxa-R cells). In 116/Oxa-R cells, a morphological change to the mesenchymal type from epithelial type was observed. In addition, the expression of EMT-related transcription factors such as SLUG and mesenchymal markers such as α-SMA was upregulated in 116/Oxa-R cells, and we determined that EMT was occurring in 116/Oxa-R cells. 116/Oxa-R cells revert to epithelial traits when cultured in medium without oxaliplatin. Thus, the EMT of 116/Oxa-R was reversible. In previous studies, we generated 116/slug cells, which stably display mesenchymal traits by transducing SLUG in HCT116 cells. Therefore, we searched for a drug that shows a high cytotoxic effect against 116/slug cells. As a result, they showed high susceptibility to the glutaminase inhibitor CB839 and the glutathione peroxidase inhibitor RSL3. On the other hand, the susceptibility to 2DG, an inhibitor of glycolysis, and metformin, an inhibitor of the mitochondrial respiratory chain, was the same as that of HCT116 cells. 116/Oxa-R cells showed high susceptibility to CB839, but the susceptibility to RSL3 was almost the same as that of HCT116 cells. Glutathione is a major substrate of GPX4, and we measured glutathione content in the cells. We found that the glutathione content in 116/Oxa-R cells was higher than that in HCT116 cells. High glutathione content in 116/Oxa-R cells contributing to RSL3 resistance. Next, the amount of glutamate in 116/Oxa-R cells was measured, and we found that 116/Oxa-R cells showed higher glutamate content than HCT116 cells. From these results, it was considered that glutaminolysis was enhanced in 116/Oxa-R cells and glutamine metabolism was important for cell survival.						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			