

Title	The modifier subunit of glutamate cysteine ligase (GCLM) is a molecular target for amelioration of cisplatin resistance in lung cancer.
Sub Title	グルタメートシステインライゲースのモディファイアーサブユニットは肺癌におけるシスプラチン耐性の克服に有用な分子標的である。
Author	井上, 芳正
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.4 (2004. 12) ,p.12-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0012">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0012</a>

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.

# The modifier subunit of glutamate cysteine ligase (GCLM) is a molecular target for amelioration of cisplatin resistance in lung cancer.

(グルタメートシステインライゲースのモディファイアーサブユニットは肺癌におけるシスプラチン耐性の克服に有用な分子標的である。)

井 上 芳 正

## 内容の要旨

## 論文審査の要旨

### 緒言

癌細胞のシスプラチン (CDDP) 耐性の原因として細胞内グルタチオン (GSH) 量の昇が知られている。GSH合成の律速酵素は Glutamate cysteine ligase (GCL) である。GCLは、modifier subunit (GCLM) と catalytic subunit (GCLC) の2つのサブユニットで構成される。GCL発現と抗癌剤耐性に相関があることは知られているが、どちらのサブユニットが癌細胞のCDDP耐性に重要なものかについては、現在までのところ不明である。

リボザイム (Ribozyme) は、RNAを塩基配列特異的に酵素的に切断するアンチセンスリボ核酸 (RNA酵素) で、標的のm-RNAを塩基配列特異的に切断するように合成可能である。

今回我々は、ヒト肺癌細胞株A549にGCLの各サブユニット (GCLM, GCLC) に対するリボザイム (Anti-GCLM ribozyme, Anti-GCLC ribozyme) を導入し、GCLの各サブユニット (GCLM, GCLC) に特異的な発現の抑制が、NSCLCのCDDP耐性に与える影響を検討したので報告する。

### 材料・方法

A549にGCLMおよびGCLCをそれぞれ特異的に切断するリボザイムを導入し、anti-GCLM ribozyme導入株 (A549/M-Rz)、anti-GCLC ribozyme導入株 (A549/C-Rz) を得た。コントロールとして、それぞれのリボザイムの活性中心配列を1塩基変えて失活させた、変異型リボザイム導入株 (A549/dis-M-Rz, A549/dis-C-Rz) を作成した。A549/M-Rz・A549/C-Rzにおける標的遺伝子 (それぞれGCLM, GCLC) の発現、細胞内GCL活性、細胞内GSH量、CDDP感受性をそれぞれのコントロール (A549/dis-M-Rz, A549/dis-C-Rz) と比較・検討した。

測定値の比較において、 $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

### 結果

リボザイム導入株 (A549/M-Rz, A549/C-Rz) ではそれぞれのコントロールに比べて標的遺伝子の発現が低く、細胞内GCL活性が有意に低下していた。リボザイム導入株 (A549/M-Rz, A549/C-Rz) のCDDP感受性はともにコントロールと比較して有意に高かったが、感受性の変化はA549/M-Rzの方が、A549/C-Rzより顕著であった。さらに、A549/M-RzのCDDP感受性はA549/C-Rzと比較しても、有意に高かった。

### 考察

以上の結果から、GCLCおよびGCLMともに癌細胞のCDDP耐性克服に有用な標的であり、さらにGCLCよりもGCLMの方が非小細胞肺癌のCDDP耐性克服の標的としてより有用である可能性が示唆された。

シスプラチン (CDDP) は非小細胞肺癌 (NSCLC) に対する化学療法でkey drugである。CDDPの解毒においてグルタチオン (GSH) 抱合によるCDDPの細胞外への排泄が重要である。GSH合成の律速酵素は Glutamate cysteine ligase (GCL) である。GCLは、modifier subunit (GCLM) と catalytic subunit (GCLC) の2つのサブユニットで構成される。本研究ではヒト肺癌細胞株A549にGCLの各サブユニット (GCLM, GCLC) の遺伝子発現をmRNAレベルで特異的に抑制するribozymeを導入し、GCLの各サブユニットの発現を特異的に抑制することがNSCLCのCDDP耐性に与える影響を検討した。ribozyme導入株のCDDP感受性は上昇したが、感受性の上昇はAnti-GCLM ribozyme導入株の方が、Anti-GCLC ribozyme導入株より顕著であった。GCLCとGCLMともに非小細胞肺癌のCDDP耐性克服の標的として有望である事が示唆された。

審査では、細胞株としてA549よりもシスプラチン耐性株を選択した方が適切であったのではないかと質問がなされた。これに対して、非小細胞肺癌は7割以上がシスプラチンに対して自然耐性であり、獲得耐性よりも自然耐性の克服がより重要課題であると考えられること、事前の検索でA549が複数の肺癌細胞株の中でシスプラチン感受性が最も低いことから、自然耐性のモデルとしてA549を採用したと回答された。また、ribozyme導入株ではコントロールに比べ細胞内GCL活性が有意に低下していたにもかかわらず、細胞内GSH量に差がなかった点について説明を求められた。これに対し、CDDP投与により新たに合成されるGSH量に差がある可能性があると回答されたが、CDDP投与後の細胞内GSH量の詳細な検討が行われるべきとの指摘がなされた。本研究ではGCLCよりもGCLMの方が非小細胞肺癌のCDDP耐性克服の標的としてより有用である可能性があると主張しているが、これを主張するにはribozymeによる標的遺伝子の抑制には導入株の間でのばらつきが大きく、細胞株間でのGCLC, GCLMの蛋白量と感受性との相関が示されていない点が問題となるとの指摘があった。これに対しては、遺伝子抑制レベルと感受性の相関については別の研究で検討中であり、蛋白量については現時点で特異性の高い抗体の入手が難しいことが検討を妨げていると回答された。

以上のように、本研究ではなお検討すべき点は残るものの、Glutamate cysteine ligaseのmodifier subunitがCDDP耐性の克服に有用な標的であることを初めて示したものである点で、今後の癌化学療法に向けて有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 小林 紘一

病理学 坂元 亨宇 臨床医科学 河上 裕

内科学 小川 聡

学力確認担当者: 北島 政樹、坂元 亨宇

審査委員長: 坂元 亨宇

研究指導者: 石井 裕正 (内科学)

試問日: 平成16年 6月 8日