

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 2576 号

Loss of GSTO2 contributes to cell growth and mitochondria function via the p38 signaling in lung squamous cell carcinoma

肺扁平上皮癌における GSTO2 消失は細胞増殖および p38 を介したミトコンドリア機能亢進に寄与する

住谷 隆輔 (すみや りゅうすけ)

博士 (医学)

論文内容の要旨

グルタチオン転移酵素 ω 2 (GSTO2) は、グルタチオン抱合には関与しないが、酸化ストレス制御に関わる酵素である。GSTO2 遺伝子多型と呼吸機能との関連が報告されているが、GSTO2 の肺における発現や機能は解明されていない。本研究では GSTO2 の正常肺における発現並びに局在を明らかにし、肺扁平上皮癌における発現変化とその意義を明らかにすることを目的とした。肺扁平上皮癌手術症例 94 例を対象とし、免疫学的組織染色により GSTO2 の発現を検討した。次に、肺扁平上皮癌細胞株への DNA メチル化阻害剤処理による GSTO2 発現への影響、パイロシーケンス法による肺扁平上皮癌組織における GSTO2 の DNA メチル化レベルを検討した。また、肺扁平上皮癌細胞株に GSTO2 強制発現株を作製し、MTT 及びコロニー形成アッセイを行った。In vivo 増殖能の評価は、ヌードマウスへの皮下移植と静脈内投与により検討した。分子メカニズムの検討には、蛍光染色による p38 および β カテニン発現の定量解析、Flux analyzer を用いたエネルギー代謝解析、JC-1 取込みによるミトコンドリア膜電位の測定を行った。正常肺において GSTO2 は、基底細胞、クララ細胞、II 型肺胞細胞に局限して発現していた。一方で、肺扁平上皮癌においては検討した 94 症例全例で発現消失していた。更に、ヒト肺扁平上皮癌細胞株の DNA メチル化阻害剤処理により、GSTO2 の発現は阻害剤の濃度依存的に回復し ($P < 0.001$)、組織検体においても正常部と比較して高頻度で DNA メチル化が確認された。GSTO2 強制発現株では、細胞増殖及びコロニー形成能が有意に抑制され ($P < 0.05$)、マウス皮下移植モデル、静脈注射モデルにおいても、in vivo 増殖能の抑制が認められた ($P < 0.001$)。さらに、GSTO2 強制発現株では、p38 リン酸化は亢進し、 β -カテニンの発現、ミトコンドリアにおける酸化的リン酸化反応は抑制されていた ($P < 0.001$)。GSTO2 強制発現株を p38 阻害剤処理すると、 β -カテニンの発現並びにミトコンドリア膜電位が回復した ($P < 0.01$)。本研究より、正常での GSTO2 の発現は幹細胞機能維持において重要な役割を果たしており、DNA メチル化亢進による GSTO2 発現消失は癌化に寄与している可能性が高いと考えられた。