

## **Nrf2 promotes oesophageal cancer cell proliferation via metabolic reprogramming and detoxification of reactive oxygen species**

(食道癌において Nrf2 はグルタチオン代謝への代謝リプログラミングを介して細胞増殖を促進する)

**【目的】**がん細胞は自らの増殖能の維持のために膨大なエネルギーを産生・消費しており、その際に様々な代謝経路へのリプログラミングを活用している。転写因子 NF-E2-related factor 2 (Nrf2)は生体の酸化ストレス防御機構において中心的役割を果たしているが、様々ながんにおいて Nrf2 が恒常的に活性化し、予後不良因子となることが明らかになった。恒常的に活性化した Nrf2 はグルタミン代謝やペントースリン酸経路を活性化し、がん細胞に有利な代謝環境を実現し、がんの増殖・進展に貢献している。しかし食道癌における Nrf2 の機能的役割は未だ明らかになっていない。

**【方法】**10種の食道癌細胞株を用いて *in vitro* 実験 (Growth assay, Apoptosis assay, ROS detection assay) を行なった。質量分析器を用いて、食道癌細胞株 TE-11 と食道癌切除サンプルの metabolite 測定を行った。さらに 201 例の食道癌切除サンプルを用いて免疫組織染色を行い、臨床病理学的予後との相関を解析した。

**【結果】**食道癌細胞株における Nrf2 発現量を real time PCR 法と Western Blot 法にて確認した。高発現株の Nrf2 knockdown にて増殖能が著明に低下することを Growth assay で確認し、フローサイトメトリーにて G0/G1 Cell cycle arrest、アポトーシスの増加を認めた。これらの現象は Nrf2 knockdown にて細胞内の ROS 活性が上がり、その結果 p38MAPK のリン酸化を介して CyclinD1 を抑制することで増殖能が低下することで生じていることを確認した。さらに p38MAPK 阻害剤である SB203580 を投与することで、低下した増殖能を再獲得することを示した。食道癌細胞株を用いた質量分析器による網羅的メタボローム解析の結果、Nrf2 はグルタチオン代謝を著明に誘導していることが分かり、食道癌切除サンプル 20 例においても、Nrf2 高発現症例では有意にグルタチオン含有量が多かった ( $P=0.009$ )。さらに Public database を用いた Gene Set Enrichment Analysis にて、Nrf2 高発現群がグルタチオン代謝を促進していることを示した。最後に食道癌切除サンプルの免疫組織染色では、非癌部に比べ癌部で Nrf2 は高発現であり ( $P<0.0001$ )、癌部の高発現群が 91 例、低発現群が 110 例であった。病理組織学的因子では Nrf2 発現量は深達度 ( $P=0.04$ )、リンパ節転移陽性率 ( $P=0.002$ )、Stage ( $P=0.001$ ) と相関を認め、無再発生存率 ( $HR=2.9$ ,  $P=0.0004$ )、全生存率 ( $HR=2.6$ ,  $P<0.0001$ ) と予後との相関も認めた。

**【考察】**これまでに Nrf2 は様々な経路への代謝リプログラミングを促進すると報告されているが、食道癌においては特にグルタチオン代謝を促進し、細胞増殖能に強く関与していた。

**【結論】**食道癌において Nrf2 がグルタチオン代謝への代謝リプログラミングを促進し、ROS を制御することでがんの増殖に関与しており、癌部における Nrf2 高発現は予後不良因子となることを示した。