

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07620

研究課題名（和文）ER陽性乳がんにおけるアミノ酸によるタモキシフェン耐性誘導の分子機構の解析

研究課題名（英文）The molecular mechanisms of tamoxifen-resistance induction by intracellular amino acids in ER-positive breast cancer

研究代表者

齊藤 康弘（SAITO, Yasuhiro）

慶應義塾大学・政策・メディア研究科（藤沢）・特任准教授

研究者番号：30613004

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では乳がんの大部分を占めるエストロゲン受容体陽性乳がんにおけるタモキシフェン耐性獲得の分子機構の解析を行った。これまでに、ER陽性乳がん細胞に特異的に機能亢進が認められるアミノ酸トランスポーターSLC7A5に着目した解析を行ってきており、SLC7A5の機能亢進がタモキシフェン耐性獲得に関連していることから、SLC7A5が取り込むアミノ酸に着目した解析を行った。本研究によりタモキシフェン耐性獲得に関与するアミノ酸の同定に成功し、現在ではその分子機構を詳細に解析しているところである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果とその後の進展により、乳がんの大部分を占めるエストロゲン受容体陽性乳がん治療に認められるホルモン療法耐性乳がんの新たな治療法開発に貢献することができると考えられることから社会的意義があるといえる。また、アミノ酸に認められる新たな生物学的役割を明らかにすることは学術的にも重要であるといえる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyzed the molecular mechanism of the acquisition of tamoxifen resistance in estrogen receptor-positive breast cancer, which accounts for the majority of breast cancers. We have previously focused on the amino acid transporter SLC7A5, whose function is specifically upregulated in ER-positive breast cancer cells. Since upregulation of SLC7A5 function is associated with the acquisition of tamoxifen resistance, we focused our analysis on the amino acids taken up by SLC7A5. We successfully identified the amino acid leading to the tamoxifen resistance. In this study, we succeeded in identifying the amino acids involved in the acquisition of tamoxifen resistance, and are now in the process of analyzing the molecular mechanism in detail.

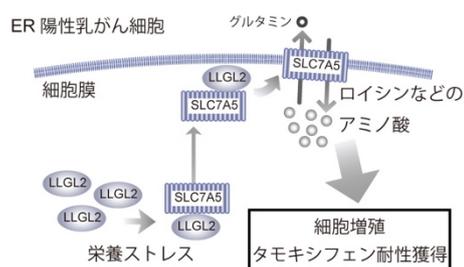
研究分野：腫瘍生物学

キーワード：乳がん アミノ酸トランスポーター 薬剤耐性

1. 研究開始当初の背景

罹患数ならびに死亡数の非常に高いがんである乳がんは、エストロゲン受容体 (ER)、HER2 陽性、Basal 型の 3 つに大きく分類され、中でも ER 陽性乳がんは乳がん全体の 70%以上を占める。ER 陽性の乳がん患者では ER の活性を抑制するホルモン療法が適用されるが、およそ 30% の ER 陽性乳がん患者ではホルモン療法に対して耐性が認められる。ER 阻害薬であるタモキシフェンは有効なホルモン療法薬の一つであるが、一部の患者では耐性が認められ、タモキシフェン耐性乳がんに対する新規治療薬・治療法の開発が強く望まれている。

申請者は、乳がん細胞において細胞極性タンパク質 LLGL2 の機能解析を行い、LLGL2 が ER 陽性乳がん細胞に高発現しており、LLGL2 の高発現が ER 陽性乳がん患者の生存率低下に繋がることが明らかにした。詳細な解析により、LLGL2 は環境中の栄養が制限された栄養ストレス下において、ER 陽性乳がん細胞の細胞増殖を亢進することが明らかとなった。加えて、LLGL2 はアミノ酸トランスポーターである SLC7A5 と結合し、SLC7A5 を細胞膜へ輸送する結果、細胞膜に増加した SLC7A5 は細胞内ロイシンを増加させ、ER 陽性乳がん細胞の増殖を亢進させることが示唆された。さらに、申請者はタモキシフェン耐性細胞において LLGL2-SLC7A5 経路の機能解析を行った結果、タモキシフェン耐性細胞の増殖に LLGL2 および SLC7A5 が必須であること、そして、SLC7A5 の過剰発現によってタモキシフェン耐性が誘導されることを明らかにした (概略図) (Saito et al., *Nature*, 2019)。



(概略図) ER 陽性乳がんにおける LLGL2 による細胞増殖機構。LLGL2 は栄養ストレス依存的に SLC7A5 と結合し、SLC7A5 を細胞膜へ輸送する。細胞膜に増加した SLC7A5 は細胞内ロイシンを増加させる結果、細胞増殖を亢進する。また、SLC7A5 の過剰発現はタモキシフェン耐性を誘導する。

2. 研究の目的

これまでに ER 陽性乳がん細胞においてアミノ酸トランスポーター SLC7A5 を介して取り込まれるアミノ酸が、がん細胞の増殖とタモキシフェン耐性の獲得に重要であることを明らかにした。しかしながら、細胞内アミノ酸が、がん細胞の薬剤耐性を誘導する分子機構は全く不明である。よって、本研究はシグナル分子としてアミノ酸の新たな生物学的機能を明らかにするため、ER 陽性乳がん細胞において SLC7A5 を介して取り込まれるアミノ酸がタモキシフェン耐性を誘導する分子機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

3-1) タモキシフェン耐性細胞におけるメタボローム解析

ER 陽性乳がん細胞において SLC7A5 の過剰発現がタモキシフェン耐性を誘導することを明らかにした。SLC7A5 は必須アミノ酸を取り込む。したがって、本実験項目では ER 陽性乳がん細胞において SLC7A5 が取り込むアミノ酸を明らかにするため、SLC7A5 過剰発現細胞においてメタボローム解析を行い、細胞内取り込みが上昇しているアミノ酸を明らかにした。

3-2) タモキシフェン耐性獲得に関わるアミノ酸の同定

メタボローム解析により SLC7A5 過剰発現乳がん細胞にて細胞内取り込みが上昇しているアミノ酸が複数認められたため、どのアミノ酸がタモキシフェン耐性獲得に関与しているかは不明であった。したがって、タモキシフェン耐性獲得に関与しているアミノ酸を明らかにするため、SLC7A5 過剰発現乳がん細胞に上昇が認められたアミノ酸をそれぞれ過剰に添加し、タモキシフ

エン存在下で耐性が誘導されるかを検討した。

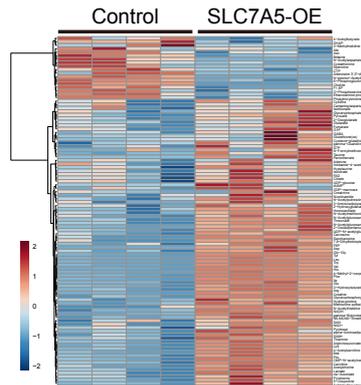
3-3) タモキシフェン耐性獲得に関わるアミノ酸の代謝経路の解明

タモキシフェン耐性獲得に重要なアミノ酸を明らかにした後、ER 陽性乳がん細胞においてタモキシフェン耐性獲得に関わるアミノ酸が代謝される経路を追跡し、アミノ酸代謝産物の同定を行った。

4. 研究成果

4-1) タモキシフェン耐性細胞におけるメタボローム解析

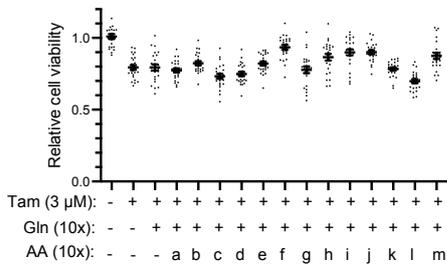
ER 陽性乳がん細胞である MCF-7 細胞に SLC7A5 を過剰発現させ、メタボローム解析を行ったところ、いくつかのアミノ酸の細胞内濃度が上昇していることが明らかとなった (図 1)。



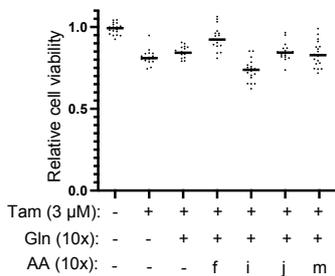
(図 1) メタボローム解析の結果

4-2) タモキシフェン耐性に関わるアミノ酸の同定

SLC7A5 を過剰発現させた MCF-7 細胞においてタモキシフェンと 4-1) にて細胞内濃度が上昇したアミノ酸を 1 つずつ過剰に添加し、細胞の増殖を調べたところ、いくつかのアミノ酸でタモキシフェン耐性の誘導が認められた。ER 陽性乳がん細胞である BT474 細胞においても同様に調べたところ、1 つのアミノ酸のみが共通してタモキシフェン耐性を誘導した (図 2)。



(図 2-1) MCF-7 細胞におけるアミノ酸探索



(図 2-2) BT474 細胞におけるアミノ酸探索

4-3) タモキシフェン耐性獲得に関わるアミノ酸の代謝経路の解明

4-2) の結果から、1 つのアミノ酸がタモキシフェン耐性獲得に共通して重要であることから、同位体標識したアミノ酸を利用して、タモキシフェン耐性獲得に重要なアミノ酸代謝物質の同定を試みたところ、最終代謝産物を同定することに成功した。

以上の結果から、アミノ酸代謝物質がタモキシフェン耐性獲得に関与する可能性が示唆され、現在ではアミノ酸代謝物質がタモキシフェン耐性を誘導する分子機構を解析している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kudo Ryuhei, Igarashi Kaori, Soga Tomoyoshi, Ishikawa Takamasa, Saito Yasuhiro	4. 巻 3
2. 論文標題 Comprehensive metabolome analysis of intracellular metabolites in cultured cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 101531 ~ 101531
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2022.101531	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Saito Yasuhiro, Matsuda Shiori, Ohnishi Naomi, Endo Keiko, Ashitani Sanae, Ohishi Maki, Ueno Ayano, Tomita Masaru, Ueda Koji, Soga Tomoyoshi, Muthuswamy Senthil K.	4. 巻 5
2. 論文標題 Polarity protein SCRIB interacts with SLC3A2 to regulate proliferation and tamoxifen resistance in ER+ breast cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-03363-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 齊藤康弘、曾我朋義	4. 巻 40
2. 論文標題 腫瘍における分岐鎖アミノ酸トランスポーターの役割	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 2239-2244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Saito Yasuhiro, Soga Tomoyoshi	4. 巻 112
2. 論文標題 Amino acid transporters as emerging therapeutic targets in cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2958 ~ 2965
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 齊藤康弘、曾我朋義	4. 巻 4
2. 論文標題 アミノ酸トランスポーターを標的とした個別化医療	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Precision Medicine	6. 最初と最後の頁 18-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 乳がんにおけるアミノ酸の新たな病態生理学的役割
3. 学会等名 第1回分子栄養生物学セミナー in 鶴岡
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 乳がんにおけるアミノ酸の病態生理学的役割
3. 学会等名 第2回反分野的生物医療学会 in 湯布院
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 乳がん細胞におけるアミノ酸の新たな病態生理学的役割
3. 学会等名 鶴岡がん研究シンポジウム2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齊藤康弘、植田幸嗣、曾我朋義、Muthuswamy Senthil
2. 発表標題 SCRIBはSLC3A2と相互作用しER陽性乳がんの増殖を制御する
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 乳がん細胞におけるLLGL2によるアミノ酸トランスポーターの制御
3. 学会等名 第8回がん代謝研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 細胞極性タンパク質はER陽性乳がん細胞においてアミノ酸取り込みを制御する
3. 学会等名 第73回日本細胞生物学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 Polarity proteins regulate amino acid uptake in ER+ breast cancer
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 アミノ酸ロイシンによる乳がん細胞の増殖機構
3. 学会等名 FRIS/TI-FRIS Life Science Seminar 2021-2022 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 分岐鎖アミノ酸ロイシンによる乳がん細胞の増殖機構
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 エストロジェン受容体陽性乳がん細胞において細胞極性タンパク質LLGL2はロイシン取り込みを制御する
3. 学会等名 第1回癌学会・若手の会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 乳がん細胞において細胞極性タンパク質 LLGL2 はアミノ酸の取り込みを制御する
3. 学会等名 第72回 日本細胞生物学会大会 シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 秀吉に学ぶがん治療戦略
3. 学会等名 第3回 Scienc-ome (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 ER陽性乳がん細胞において細胞極性タンパク質LLGL2はロイシン依存的細胞増殖の重要分子である
3. 学会等名 第79回 日本癌学会学術総会 シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 ER陽性乳がんにおけるロイシン取り込みとその治療標的としての可能性
3. 学会等名 第79回 日本癌学会学術総会 腫瘍別シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齊藤康弘
2. 発表標題 アミノ酸を標的とした乳がん治療を目指して
3. 学会等名 第2回 日本質量分析学会東北談話会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------