

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08948

研究課題名（和文）糖代謝非依存性乳がんにおける診断・治療の一体化戦略の構築：アミノ酸代謝に着眼して

研究課題名（英文）Identification of new therapeutic targets for glucose independent metabolism in breast cancer

研究代表者

原田 成美（Narumi, Harada）

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：70547413

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：癌細胞には高い増殖能を維持するための糖代謝経路が存在し、この現象は代謝リプログラミングと呼ばれ、FDG-PETに応用されてきた。しかし、糖代謝以外にも様々な代謝経路が存在するとされ、我々はLAT1を介したアミノ酸代謝経路に着目した。乳癌組織では、LAT1の発現が化学療法・内分泌療法への耐性に関与し、また予後の相関も見られたことから、LAT1阻害薬が新規の治療選択となることが示唆された。また、アミノ酸を標識したトレーサー（¹⁸F-FET）が、LAT1を介して取り込まれることが明らかとなり、生体内でLAT1の発現を確認できる画像診断への応用への可能性も示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌における代謝リプログラミングについては、糖代謝の報告が多く画像診断には利用されているものの、治療標的としての研究報告は少ない。本研究では、LAT1を介したアミノ酸代謝に着目し、乳癌においてその発現が薬剤耐性を惹起し予後不良となることが明らかとなり、LAT1を標的とする治療戦略が新たな選択肢になると考えられた。さらに、すでに胆道癌で臨床試験が行われているLAT1阻害薬（J0H203）は、*in vitro*で乳癌細胞の増殖抑制効果があることを示し、薬剤耐性乳癌における新規治療としての期待がもたれる。

研究成果の概要（英文）：Cancer cells have glycolysis to maintain high proliferation, which is known as metabolic reprogramming, and it has been applied to FDG-PET. However, various metabolic pathways other than glycolysis are considered to exist, and we focused on the LAT1-mediated amino acid metabolism. In breast cancer, LAT1 expression was implicated in resistance to chemotherapy and endocrine therapy and correlated with prognosis, suggesting that LAT1 inhibitors are a novel therapeutic option. It was also found that amino acid-labelled radio tracers (¹⁸F-FETs) were taken up via LAT1, indicating their potential for diagnostic imaging applications that could confirm LAT1 expression *in vivo*.

研究分野：分子生物学

キーワード：乳癌 アミノ酸代謝 LAT1 分子イメージング

1. 研究開始当初の背景

正常細胞は好気性条件下では TCA 回路・電子伝達系を介した酸化的リン酸化によって ATP を産生し、嫌気性条件下では解糖系を利用し ATP を産生する。一方、癌細胞は好気性条件下であっても解糖系を介して ATP を産生するため、大量のグルコース(糖)が消費される糖代謝亢進状態にある。この癌特異的な代謝のリプログラミングは Warburg 効果として知られ、FDG-PET に臨床応用されている。一方で、近年のメタボローム解析により、癌細胞では糖代謝以外にも様々な代謝経路が亢進されていることが報告されている。乳癌では術前化学療法により FDG-PET で集積が消失した症例であってもその半数に腫瘍が残存しているという知見から、癌細胞が生存のために代替となる代謝経路を利用している可能性が示唆された。我々はその点に着目し、乳腺組織を用いたメタボローム解析を行い、乳癌組織において多くのアミノ酸濃度が上昇していることを明らかにした。

LAT1 (L 型アミノ酸トランスポーター1)は、癌細胞で過剰に発現する癌特異的なアミノ酸トランスポーターであり、必須アミノ酸の取り込みを介して細胞増殖を調節する。LAT1 は様々な癌で予後不良因子とされるが、乳癌における報告は少なく、アミノ酸代謝リプログラミングの意義は不明のままである。

2. 研究の目的

本研究では、癌特異的な代謝経路の一つであるアミノ酸代謝を担う LAT1 の発現動態を確認し、また薬剤耐性獲得過程におけるアミノ酸代謝リモデリングの役割を解明し、LAT1 を介した新規治療標的・診断標的を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

【ヒト検体でのアミノ酸代謝リプログラミングと薬剤感受性の検証】

化学療法後に手術を施行した原発性乳癌 146 症例で免疫染色を行い、LAT1 の発現を確認し、化学療法の効果判定との相関について検討した。さらに、化学療法前後に FDG-PET/CT を撮影した 99 症例について SUVmax を計測した。

【培養細胞株での LAT1 依存性アミノ酸代謝変動と薬剤抵抗性の解析】

LAT1 knockout (LAT1-KO) を作成し、メタボローム解析によるアミノ酸濃度変化と乳癌化学療法に用いられる epirubicin, Docetaxel への感受性の評価を行った。

【LAT1 依存性アミノ酸代謝変動の評価】

化学療法に伴う糖代謝・アミノ酸代謝の変化を調べるため、MCF7 を用いてグルコース類似体である ¹⁸F-FDG と LAT1 が取り込むチロシン誘導体である ¹⁸F-FET の細胞取り込み実験を施行した。

【ホルモン受容体陽性乳癌における LAT1 発現の有無による生存率の比較】

2005 年から 2008 年の間手術を施行した原発 ER 陽性乳癌 187 症例の手術標本を対象とした。免疫染色を行い LAT1 の発現を評価し、無増悪生存期間(disease free survival; DFS)および乳癌特異的な生存期間(breast cancer-specific survival; BCSS)を調査した。

4. 研究成果

【ヒト検体でのアミノ酸代謝リプログラミングと薬剤感受性の検証】

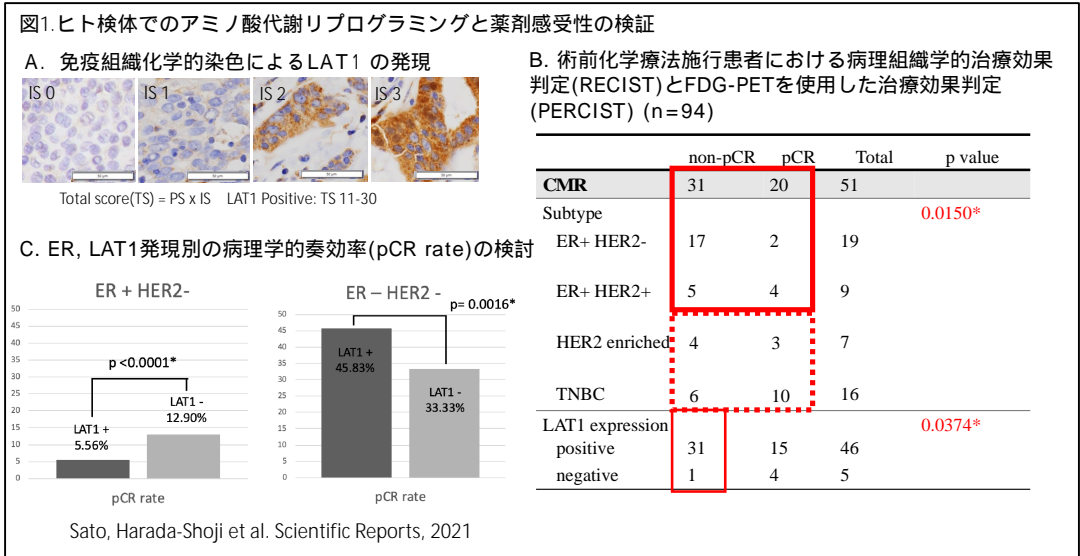
患者背景を表 1 に示す。LAT1 の染色強度を 0-3、染色範囲を 0-10、それぞれをかけあわせてスコア 0-30 として評価を行った(図 1A)。さらに、化学療法前後に FDG-PET を撮影した 94 症例において、乳癌取扱規約第 18 版にある”組織学的治療効果の判定基準”を使用した治療効果判定と PERCIST (FDG-PET/CT を用いた治療効果判定基準)を使用した治療効果判定を比較した。FDG の集積が完全に消失(CMR)した症例でも、60.7% (31/51)の症例で病理学的に腫瘍が残存 (non-pCR) していた。次に、CMR 症例における腫瘍残存の有無をサブタイプと Pre LAT1 の発現で検討すると、サブタイプ別では ER 陽性 HER2 陰性症例 (p=0.0150) Pre LAT1 は陽性症例で有意に腫瘍の残存が見られた(p=0.0374) (図 1B)。

次に、Pre LAT1 が治療効果予測因子となり得るかを検討した。HER2 陰性 106 症例を Pre LAT1 陽性 (カットオフスコア 14 <, n = 71) または PreLAT1 陰性 (n = 48) ER 陽性または陰性の 4 群に分類し、pCR 率を比較した。ER 陽性 HER2 陰性症例では、PreLAT1 陽性群は陰性群よりも pCR 率が有意に低かった (p<0.0001)。また、ER 陰性 HER2 陰性症例では、Pre LAT1 陽性群は陰性群よりも pCR 率が有意に高かった (p=0.0016) (図 1C)。以上の結果より、PreLAT1 の発現が ER 陽性 HER2 陰性乳癌患者における化学療法抵抗性と有意に相関していることが示された。

表1. 患者背景

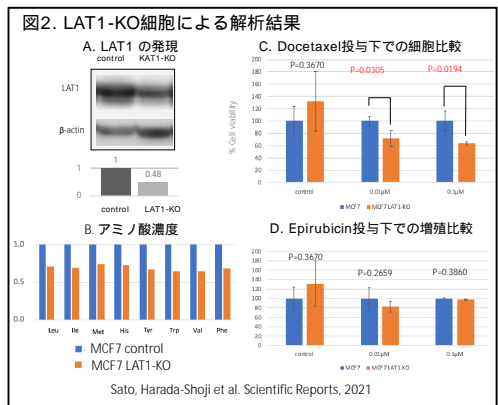
Factors	n=143	%
Median age, years	57	(29-79)
cT		
cTis,T1	24	16.2
cT2	86	60.1
cT3	8	5.6
cT4	25	17.5
cN		
cN0	20	14.0
cN1<	123	86.0
Subtype		
ER+	88	61.5
HER2+	37	25.9
Triple negative	39	27.3
Ki-67 LI Median(%)	44.5	(1.5-95)

*LAT1 positive cases in CNB: 69.2% (99/143)



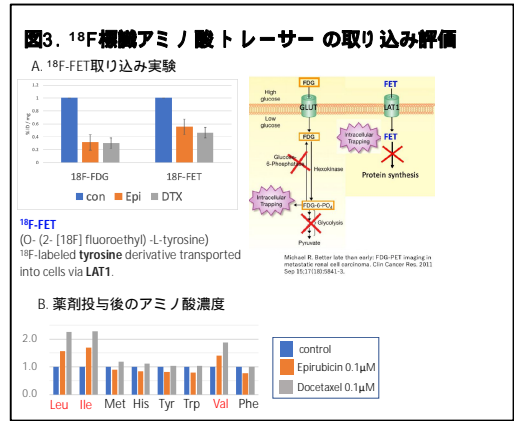
【培養細胞株での LAT1 依存性アミノ酸代謝変動と薬剤抵抗性の解析】

LAT1-KO 細胞株における LAT1 発現の低下を確認した(図 2A)。LAT1 の輸送基質であるアミノ酸(ロイシン、イソロイシン、メチオニン、ヒスチジン、チロシン、トリプトファン、バリン、フェニルアラニン)のレベルはいずれも低下した(図 2B)。この LAT1-KO 細胞株を用い細胞増殖実験を行ったところ、LAT1-KO 細胞株では MCF7 コントロール細胞株と比較し、Docetaxel 投与に対する薬物感受性が有意に増加したが(p=0.035, p=0.0194, 図 2C)、Epirubicin 投与では変化がみられなかった(図 2D)。



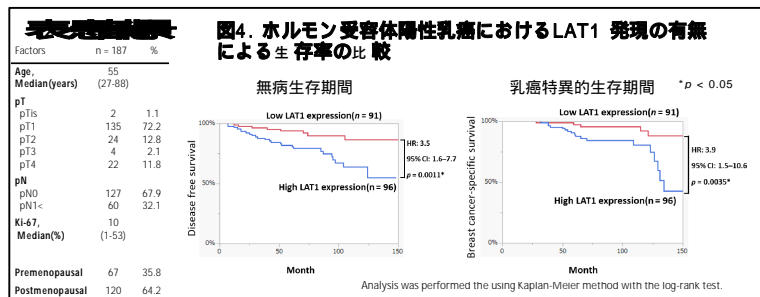
【LAT1 依存性アミノ酸代謝変動の評価】

¹⁸F-FDG および ¹⁸F-FET の取り込みは、Epirubicin、Docetaxel いずれの投与後も有意に減少した(FDG: p=0.0272, 0.0255, FET: p=0.0121, 0.0305)(図 3A)。一方、LAT1 の輸送基質であるアミノ酸のレベルは、分岐鎖アミノ酸であるロイシン、イソロイシン、バリンが Epirubicin、Docetaxel どちらの投与でも増加していた(図 3B)。



【ホルモン受容体陽性乳癌における LAT1 発現の有無による生存率の比較】

ホルモン受容体乳癌患者における LAT1 発現動態と DFS と BCSS との相関を調査した。対象症例の臨床病理学的特徴を表 2 に示す。 Kaplan-Meier 生存率曲線は LAT1 高発現群の DFS は低発現群と比較し有意に短かく(ハザード比: 3.5、95%信頼区間: 1.6-7.7, p = 0.0011, 図 4A)。加えて LAT1 高発現群の BCSS は低発現群と比較して有意に短かった(ハザード比: 3.9、95%信頼区間: 1.5-10.6, p = 0.0035, 図 4B)。



本研究から、LAT1 は薬剤耐性の発現に関与しており、LAT1 シグナル伝達の阻害は、化学療法と内分泌療法の両方の環境において、薬剤耐性乳癌を克服する可能性のある新しいアプローチを提供する可能性があると考えられた。

乳癌に対する LAT1 阻害剤の投与について、今後さらに研究を進めていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Wang Yuechen, Harada Shoji Narumi, Kitamura Narufumi, Yamazaki Yuto, Ebata Akiko, Amari Masakazu, Watanabe Mika, Miyashita Minoru, Tada Hiroshi, Abe Takaaki, Suzuki Takashi, Gonda Kohsuke, Ishida Takanori	4. 巻 13
2. 論文標題 Mitochondrial dynamics as a novel treatment strategy for triple negative breast cancer	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 e6987
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cam4.6987	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 Shindo Haruhiko, Harada-Shoji Narumi, Ebata Akiko, Sato Miku, Soga Tomoyoshi, Miyashita Minoru, Tada Hiroshi, Kawai Masaaki, Kosaka Shinkichi, Onuki Koji, Usami Shin, Furumoto Shozo, Hayashi Shinichi, Abe Takaaki, Suzuki Takashi, Ishida Takanori, Sasano Hironobu	4. 巻 13
2. 論文標題 Targeting Amino Acid Metabolic Reprogramming via L-Type Amino Acid Transporter 1 (LAT1) for Endocrine-Resistant Breast Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 4375 ~ 4375
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers13174375	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sato Miku, Harada-Shoji Narumi, Toyohara Takafumi, Soga Tomoyoshi, Itoh Masatoshi, Miyashita Minoru, Tada Hiroshi, Amari Masakazu, Anzai Naohiko, Furumoto Shozo, Abe Takaaki, Suzuki Takashi, Ishida Takanori, Sasano Hironobu	4. 巻 11
2. 論文標題 L-type amino acid transporter 1 is associated with chemoresistance in breast cancer via the promotion of amino acid metabolism	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 589-589
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-80668-5	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9件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 原田 成美, 江幡 明子, 山崎 有人, 多田 寛, 宮下 穰, 濱中 洋平, 佐藤 未来, 本成 登貴和, 柳垣 美歌, 角掛 聡子, 山崎 あすみ, 石田 孝宣
2. 発表標題 乳癌転移・再発巣における代謝リプログラミングの評価
3. 学会等名 第31回日本乳癌学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Narumi Harada-shoji, Hiroshi Tada, , Minoru Miyashita, Yohei Hamanaka, Akiko Ebata, Miku Sato, Takanori Ishida
2. 発表標題 Metastatic potential of the somatic alteration associated with TCA-cycle in breast cancer.
3. 学会等名 ESMO Congress 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 原田 成美, 江幡 明子, 進藤 晴彦, 多田 寛, 宮下 穰, 濱中 洋平, 小坂 真吉, 柳垣 美歌, 角掛 聡子, 本成 登貴和, 石田 孝宣
2. 発表標題 メタボローム解析とトランスポーター発現からみた乳癌サブタイプ別代謝特性
3. 学会等名 第30回日本乳癌学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原田 成美, 江幡 明子, 佐藤 未来, 進藤 晴彦, 多田 寛, 宮下 穰, 濱中 洋平, 佐藤 章子, 角掛 聡子, 本成 登貴和, 鈴木 貴, 石田 孝宣
2. 発表標題 乳癌におけるグルタチオン代謝の意義
3. 学会等名 第29回 日本乳癌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 進藤 晴彦, 原田 成美, 多田 寛, 宮下 穰, 濱中 洋平, 佐藤 章子, 江幡 明子, 本成 登貴和, 金井 綾子, 柳垣 美歌, 角掛 聡子, 鈴木 貴, 海野 倫明, 亀井 尚, 石田 孝宣
2. 発表標題 内分泌療法耐性乳癌における代謝の変化
3. 学会等名 第121回 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 メタボローム解析を用いた乳癌サブタイプ別代謝プロファイルの解明と新規標的の可能性
2. 発表標題 原田 成美, 江幡 明子, 佐藤 未来, 進藤 晴彦, 中川 紗紀, 佐藤 章子, 濱中 洋平, 多田 寛, 曾我 朋義, 石田 孝宣
3. 学会等名 第28回日本乳癌学会総会プログラム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 乳癌術前化学療法におけるアミノ酸代謝の重要性と新規治療標的としての可能性
2. 発表標題 佐藤 未来, 原田 成美, 伊藤 正敏, 甘利 正和, 鈴木 貴, 笹野 公伸, 石田 孝宣
3. 学会等名 第28回日本乳癌学会総会プログラム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 乳癌におけるアミノ酸代謝の重要性と新規治療標的としての可能性
2. 発表標題 佐藤 未来, 原田 成美, 宮下 穰, 甘利 正和, 蘇我 朋義, 鈴木 貴, 内藤 剛, 海野 倫明, 亀井 尚, 笹野 公伸, 石田 孝宣
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 メタボロミクスを用いたAI耐性乳癌の代謝特性の解明
2. 発表標題 原田 成美, 佐藤 未来, 多田 寛, 宮下 穰, 濱中 洋平, 江幡 明子, 中川 紗紀, 曾我 朋義, 内藤 剛, 海野 倫明, 亀井 尚, 石田 孝宣
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
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
研究分担者	石田 孝宣 (Ishida Takanori) (00292318)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	
研究分担者	古本 祥三 (Furumoto Shozo) (00375198)	東北大学・サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター・教授 (11301)	
研究分担者	鈴木 貴 (Suzuki Takashi) (10261629)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	

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
---------	---------