

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19348

研究課題名（和文）アミノ酸トランスポーターLATの分子キラリティ認識に基づく新規BNCT増感薬開発

研究課題名（英文）Development of new BNCT sensitizer based on molecular chirality recognition of amino acid transporter LAT

研究代表者

安西 尚彦（ANZAI, Naohiko）

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：70276054

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究はホウ素化フェニルアラニンの2つの鏡像異性体のキラリティ認識が悪性腫瘍に有効な選択毒性に繋がることを着想し、トランスポーターを標的とする新規BNCT増感薬開発を目指した。ヒトLAT1発現腫瘍由来細胞での不斉化合物in vitro取り込み評価に関しては、LAICP-MSを用いた細胞内ホウ素測定システムの立ち上げを行い、細胞に取り込まれた微量ホウ素の同定に成功した。腫瘍型であるLAT1及び正常型であるLAT2の選択性増加については、既存LAT1阻害薬JPH203とLAT2阻害薬KYT0284それぞれの阻害効果を安定発現実験系の中での確認に留まり継続的な検討の必要性を再認識した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

陽子線、重粒子線などの一般放射線治療では出来ないがん細胞と正常細胞の区別が可能な「正常細胞に非常に優しいがん治療法」であるBNCTは我が国において病院設置型小型加速器が開発されたことにより世界で最初に国内医療機関での普及が大きく見込まれている。この適応拡大のためには腫瘍選択性が高いより有効な新規ホウ素化合物合成は不可欠であり、本研究が今後の創薬開発のための重要な基盤情報となるものと思われる。

研究成果の概要（英文）：This study was based on the idea that chirality recognition of the two enantiomers of boronated phenylalanine could lead to selective toxicity effective against malignant tumors, and aimed to develop a new BNCT sensitizer that targets the transporter. Regarding the in vitro uptake evaluation of asymmetric compounds in human LAT1-expressing tumor-derived cells, we established an intracellular boron measurement system using LAICP-MS and succeeded in identifying trace amounts of boron taken up into the cells. Regarding the increase in selectivity between tumor-type LAT1 and normal-type LAT2, we confirmed the inhibitory effects of the existing LAT1 inhibitor JPH203 and the LAT2 inhibitor KYT0284 in a stable expression experimental system, and reaffirmed the need for continued investigation.

研究分野：薬理学

キーワード：トランスポーター 分子キラリティ 分子標的創薬

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者はフランス CNRS での留学を終えて 2001 年に帰国し、当時遠藤仁教授（現杏林大学名誉教授）の主宰する杏林大学医学部薬理学教室に所属した。同教室は最近では抗糖尿病薬の分子標的として知られる SGLT2 を世界で初めて同定した金井好克教授（現大阪大学教授）が在籍し、世界に先駆けて中性アミノ酸トランスポーター(LAT1)の分子同定に成功するなど、世界の「トランスポーター」研究をリードしており、申請者もその一躍を担い、同教室で開発された LAT1 特異的阻害薬 JPH203 の抗腫瘍効果の検討を行ってきた)。この中で一貫していた概念が「選択毒性」基盤となる栄養素アミノ酸の腫瘍特異的取込み、である。「腫瘍型」アイソフォームの LAT1 と「正常型」アイソフォームの LAT2 という「違い」の活用を生かすことのできる研究対象として、申請者が研究対象としたのがホウ素中性子捕捉療法 BNCT であり、折しも新たに病院設置型小型中性子線加速器を導入する国立がん研究センター中央病院の責任者が大学の先輩である伊丹氏（研究協力者）であった。

また申請者が 2016 年からの母校である千葉大学に異動し参画・所属をしたのが「千葉大学分子キラリティ研究センター」で、千葉大学が世界に誇る「キラリ化合物の不斉合成」技術を有する薬学研究院の根本氏（研究分担者）との共同研究体制の構築が可能となったことで、腫瘍指向型ホウ素蓄積を可能にするホウ素キャリアとしての L 型アミノ酸誘導体の適用という「分子キラリティ」に基づく創薬の着想に至った。

アミノ酸は根元的に生命を担う重要な物質として知られ、長らく生体を構成するアミノ酸は殆どが L 体であり、D-アミノ酸は体内に殆ど無いと考えられて来た。しかし最近、分析技術の進展により哺乳動物にも様々な D-アミノ酸が存在し、多様な生理機能を果たす可能性が示唆されている。しかし、D-アミノ酸の代謝や生理作用の分子レベルでの研究はやっと緒についたばかりで、分子キラリティに基づく創薬は未だなされてはいない。

申請者らは既に腫瘍型中性アミノ酸トランスポーター-LAT1 はアミノ酸の D 体と L 体の認識性が異なることを見出しているが、分子キラリティに基づく創薬は殆どその例が無く、この点で本研究は「芽生え期」の研究であると言えた。

ホウ素中性子捕捉療法 (Boron Neutron Capture Therapy, BNCT) は陽子線、重粒子線などの一般放射線治療では出来ないがん細胞と正常細胞の区別が可能で「正常細胞に非常に優しいがん治療法」である。BNCT は原子炉などからの熱中性子と、組織中のホウ素との反応により発生する粒子放射線(線)により、ホウ素を取り込んだがん細胞を殺し、取り込まない正常細胞の傷害を減らすがん選択的放射線治療であり、ホウ素化合物の組織蓄積性に依存する「放射線を用いた化学療法」とも言われる。BNCT は我が国において病院設置型小型加速器が開発されたことにより世界で最初に国内医療機関での普及が大きく見込まれている。さらに小型加速器は低エネルギー中性子を用いるためビームの角度変更が出来、開腹術施行時の術中照射が可能であり、従来表在性がんに応用が限定されていた BNCT は今後その適用外であった腹部内臓器がんへの照射や治療困難な表在・深在リンパ節転移、腹膜・胸膜播種の治療を含む多くの難治性がん治療法の臨床応用に道を開くと考えられる。この適応拡大のためにも腫瘍選択性が 2.5 倍を超えるより有効な新規ホウ素化合物合成は不可欠である。すなわち、本研究は分子キラリティという技術的側面から「芽生え期」の研究であると同時に、BNCT という治療法の開発以降未だ誰も成し得ていない新たな BNCT 増感薬開発を目指す点でも「挑戦的な研究」と言えた。

2. 研究の目的

悪性腫瘍の薬物治療の基本は「選択毒性」の活用であり、正常細胞と腫瘍細胞の「違い」を利用し、正常細胞には傷害を与えずに、腫瘍細胞にだけ傷害を起こすことが重要である。「違い」の一つとして知られているのが、糖やアミノ酸といった栄養素の細胞外からの取込みである。糖やアミノ酸など水溶性の栄養素は、細胞膜の「トランスポーター」と呼ばれる特殊な膜タンパク質を介して細胞内に取込まれる。申請者が研究対象としている L 型アミノ酸トランスポーター(L-type amino acid transporters: LATs)は必須アミノ酸を含む中性アミノ酸の膜輸送を担うが、LAT1 アイソフォームは腫瘍特異的発現を示す「腫瘍型」であり、LAT2 アイソフォームは広く正常細胞中心に発現する「正常型」で、細胞膜のアミノ酸輸送には正常細胞と腫瘍細胞の「違い」が存在する。本研究の目的はこのアミノ酸輸送の違いを生かした「選択毒性」による悪性腫瘍治療法の開発である。

具体的にはがん選択的な放射線治療法の一つである BNCT への腫瘍型アイソフォーム LAT1 の応用である。現在 BNCT 実施時の細胞内へのホウ素集積に利用されているのはアミノ酸フェニルアラニンにホウ素化した化合物 Boronophenylalanine (BPA) であるが、BPA の腫瘍組織への蓄積は正常組織に比し 2 倍程度に留まり、「選択毒性」が低く、正常細胞への傷害性も課題である。

申請者は平成 26-28 年度に基礎臨床横断型研究プロジェクト「トランスポーター科学に基づ

く BNCT 用新規増感化合物開発」を研究代表者として立ち上げ、私立大学戦略的研究基盤形成支援事業の助成を受け、腫瘍型 LAT1 に関する検討を行った。その中で以下の点を見出した。

(Jutabha, 安西、第 14 回日本中性子捕捉療法学会学術大会にて発表, 郡山, 2017)

a) BPA が LAT1 (腫瘍型) に加え LAT2 (正常型) によっても取り込まれ、この BPA の LAT1/LAT2 選択性の低さが、低い腫瘍蓄積性の一因であること

b) BPA の 2 つの鏡像異性体では LAT1 と LAT2 への相互作用に差異があること (図 2)

特に L-BPA は LAT1/LAT2 とともに相互作用するのに対し、D-BPA は LAT1 と相互作用するものの、LAT2 とは相互作用を示さない結果は、不斉合成によりつくられるキラル化合物が、新たな BNCT 増感剤の開発につながる可能性を示唆した。本研究では、LAT の基質認識における分子キラリティを悪性腫瘍に対する「選択毒性」に応用する新規 BNCT 増感薬開発を目的とする。

3 . 研究の方法

これまでの予備実験で得られた LAT1 蓄積性の高い化合物 S12 の情報を基盤として以下の点の検討を行なった。

(1) 新規ホウ素不斉化合物群の設計・合成 (安西、根本)

化合物 S12 の構造を基にした不斉化合物の構造設計を行った。

(2) ヒト LAT1 発現腫瘍由来細胞における不斉化合物 in vitro 取り込み評価 (安西・松川)

研究分担者の松川が保有する LAICP-MS (レーザアブレーション ICP 質量分析) を用いた細胞内ホウ素測定システムの立ち上げを行った。

(3) 新規ホウ素不斉化合物群バックアップの合成とスクリーニング (安西、根本)

選択性の基盤となるそれぞれの阻害薬 (LAT1 阻害薬 JPH203、LAT2 阻害薬 KYT0284) の特性を確認を行なった。

4 . 研究成果

2022 年 12 月に研究代表者が年会長を務める第 96 回日本薬理学会年会 / JPW2022 大会の準備のために 2022 年の後半は研究の遂行が困難となったため、1 年の補助期間延長を行なったが、以下の成果があった。

(1) 新規ホウ素不斉化合物群の設計・合成

研究分担者および研究協力者とこれまでの実験結果の検討を行い、化合物 S12 の構造を基にした不斉化合物の構造設計を行い、ラセミ体、および D 体、L 体の新規ホウ素化合物合成準備を行った。

(2) ヒト LAT1 発現腫瘍由来細胞における不斉化合物 in vitro 取り込み評価

研究分担者の保有する LAICP-MS を用いた細胞内ホウ素測定システムを用いて、LAT1 及び LAT2 安定発現細胞に取り込まれた微量ホウ素の同定に成功し、BNCT 増感効果および毒性軽減効果評価のための基盤を確立した。

(3) 新規ホウ素不斉化合物群バックアップの合成とスクリーニング

選択性の基盤となるそれぞれの阻害薬の特性 (JPH203 の LAT1 選択的阻害, KYT0284 の LAT2 阻害効果) を確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Jinakote Metee, Jutabha Promsuk, Anzai Naohiko, Ontawong Atcharaporn, Soodvilai Sunhapas, Inchai Jakkapong, Vaddhanaphuti Chutima S.	4. 巻 37
2. 論文標題 Interaction of buspirone and its major metabolites with human organic cation transporters	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Fundamental & Clinical Pharmacology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/fcp.12883	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 該当する
1. 著者名 Pae Sangjon, Sakamoto Shinichi, Zhao Xue, Saito Shinpei, Tamura Takaaki, Imamura Yusuke, Sazuka Tomokazu, Reien Yoshie, Hirayama Yuri, Hashimoto Hirofumi, Kanai Yoshikatsu, Ichikawa Tomohiko, Anzai Naohiko	4. 巻 150
2. 論文標題 Targeting L-type amino acid transporter 1 in urological malignancy: Current status and future perspective	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 251 ~ 258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2022.10.002	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 Ishibane Misaki, Hashimoto Hirofumi, Kaneko Meika, Saito Shota, Pae Sangjon, Saito Shinpei, Reien Yoshie, Hirayama Yuri, Higashi-Kuwata Nobuyo, Mitsuya Hiroaki, Anzai Naohiko	4. 巻 150
2. 論文標題 Effects of a novel hepatitis B anti-viral drug E-CFCP in renal organic acid transporters	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 201 ~ 203
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2022.09.002	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 Owada Takayoshi, Kurasawa Kazuhiro, Endou Hitoshi, Fujita Tomoe, Anzai Naohiko, Hayashi Keitaro	4. 巻 109
2. 論文標題 LAT1-specific inhibitor ameliorates severe autoimmune arthritis in SKG mouse	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Immunopharmacology	6. 最初と最後の頁 108817 ~ 108817
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.intimp.2022.108817	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 Zhao X, Sakamoto S, Maimaiti M, Anzai N, Ichikawa T.	4. 巻 14
2. 論文標題 Contribution of LAT1-4F2hc in Urological Cancers via Toll-like Receptor and Other Vital Pathways	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers (Basel)	6. 最初と最後の頁 229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14010229	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 Hayashi K, Anzai N.	4. 巻 148
2. 論文標題 L-type amino acid transporter 1 as a target for inflammatory disease and cancer immunotherapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Pharmacol Sci	6. 最初と最後の頁 31-40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2021.09.006	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 Betsunoh H, Sakamoto S, Kaji Y, Nukui A, Kobayashi M, Yashi M, Hayashi K, Anzai N, Kamai T	4. 巻 40
2. 論文標題 Clinical Significance of 18 F-fluorodeoxyglucose and Glucose Transporter 1 mRNA in Clear Cell Renal Cell Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 5179-5188
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.15336	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	根本 哲宏 (Nemoto Tetsuhiro) (80361450)	千葉大学・大学院薬学研究院・教授 (12501)	

6. 研究組織（つづき）

	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	松川 岳久 (Matsukawa Takehisa) (60453586)	順天堂大学・医学部・准教授 (32620)	

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